

UNIVERSITÉ PARIS-OUEST
IREPH (EA 373) – Institut de REcherches PHilosophiques :
Les dynamiques de l'invention philosophique, scientifique & artistique.
École doctorale Connaissance, langage, modélisation (ED 139).

THÈSE

Pour l'obtention du grade de docteur de l'université Paris Ouest
Section CNU : 72

**Cellules souches cancéreuses :
Ontologie et thérapies.**

Lucie LAPLANE

Soutenance publique le
24 octobre 2013

Composition du jury

Bernadette BENSAUDE-VINCENT	Professeur de Philosophie à l'Université de Paris 1 Panthéon-Sorbonne. Directrice de thèse
Hervé CHNEIWEISS	Directeur de recherche CNRS en Biologie à l'Université Pierre et Marie Curie (Hôpital Sainte- Anne). Président du comité d'éthique de l'Inserm. Examineur
Charles DURAND	Maître de Conférences en Biologie à l'Université Pierre et Marie Curie. Rapporteur
Jean GAYON	Professeur de Philosophie à l'Université de Paris 1 Panthéon-Sorbonne. Rapporteur
Jane MAIENSCHIN	Professeur de Philosophie à l'Arizona State University. Examinatrice
Michel MORANGE	Professeur de Biologie à l'École Normale Supérieure de Paris. Co-directeur de thèse

UNIVERSITÉ PARIS-OUEST
IREPH (EA 373) – Institut de REcherches PHilosophiques :
Les dynamiques de l'invention philosophique, scientifique & artistique.
École doctorale Connaissance, langage, modélisation (ED 139).

THÈSE

Pour l'obtention du grade de docteur en Philosophie

**Cellules souches cancéreuses :
Ontologie et thérapies.**

Lucie LAPLANE

Soutenance publique le
24 octobre 2013

Composition du jury

Bernadette BENSAUDE-VINCENT	Professeur de Philosophie à l'Université de Paris 1 Panthéon-Sorbonne. Directrice de thèse
Hervé CHNEIWEISS	Directeur de recherche CNRS en Biologie à l'Université Pierre et Marie Curie (Hôpital Sainte- Anne) Président du comité d'éthique de l'Inserm Examinateur
Charles DURAND	Maître de Conférences en Biologie à l'Université Pierre et Marie Curie. Rapporteur
Jean GAYON	Professeur de Philosophie à l'Université de Paris 1 Panthéon-Sorbonne. Rapporteur
Jane MAIENSCHHEIN	Professeur de Philosophie à l'Arizona State University. Examinatrice
Michel MORANGE	Professeur de Biologie à l'École Normale Supérieure de Paris. Co-directeur de thèse

*A mon père Bruno,
Ainsi qu'à mon ami Arthur,
Tous deux partis trop tôt*

Table des matières

Remerciements.....	11
Avertissements	15
Introduction	17
English introduction	29
PARTIE I. Cellules souches cancéreuses : une nouvelle théorie du cancer	37
CHAPITRE 1. Le triomphe des cellules souches cancéreuses	41
1.1. Du scepticisme au succès ? Quelques indicateurs	41
1.1.1. Bibliométrie	42
1.1.2. Des congrès aux manuels : l'émergence d'un domaine de recherche et d'enseignement	45
1.1.3. Un domaine compétitif et financé	48
1.2. Les espoirs thérapeutiques	50
1.2.1. Une nouvelle stratégie thérapeutique	50
1.2.2. Les <i>start-up</i> de biotechnologies tentent leur chance	54
1.2.3. Les industries pharmaceutiques investissent le domaine	55
1.3. Conclusion	56
1.4. <i>English summary</i>	58
CHAPITRE 2. La théorie des CSC.....	61
2.1. Qu'est-ce qu'une CSC ?.....	63
2.2. Un nouveau modèle de cancérogenèse	67
2.2.1. Un modèle hiérarchique.....	67
2.2.2. Un modèle parcimonieux	69
2.3. Les rechutes en question	73
2.3.1. Une hypothèse additionnelle.....	73
2.3.2. Les CSC : cible thérapeutique ?.....	80
2.4. Conclusion	82
2.5. <i>English summary</i>	83
PARTIE II. Perspective historique : les ambiguïtés de l'hypothèse de l'origine des cancers de la théorie des CSC.....	87
CHAPITRE 3. Cellules souches hématopoïétiques et leucémiques	93
3.1. L'hypothèse de l'origine des cancers dans et par des cellules souches dans le contexte du débat sur l'origine clonale ou multicellulaire des cancers.....	94
3.1.1. Origine clonale et explication de l'hétérogénéité des cellules cancéreuses.....	94
3.1.2. A quoi fait référence le concept de cellule souche ?.....	100
3.2. Système auto-entretenu ou réservoir de cellules souches cancéreuses ?.....	104
3.3. La différence de clonogénicité entre les cellules cancéreuses	107

3.3.1. Les transplantations de moelle osseuse	108
3.3.2. Modèles murins, anticorps monoclonaux et thérapie génique	113
3.4. Conclusion	123
3.5. <i>English summary</i>	127
CHAPITRE 4. Permissivité synchronique de l'hypothèse de l'origine des cancers dans et par des cellules souches : un siècle et demi d'hypothèses adverses	131
4.1. La théorie cellulaire et ses hypothèses concernant l'origine des cancers.....	132
4.1.1. Emergence de la théorie cellulaire	132
4.1.2. Théorie cellulaire et cancers.....	134
4.1.3. La théorie des restes embryonnaires délocalisés	136
4.1.4. La théorie du tissu conjonctif.....	137
4.1.5. La théorie des restes embryonnaires surnuméraires	140
4.1.6. Conclusion : trois hypothèses de l'origine des cancers dans et par des cellules souches.....	142
4.2. L'influence de la théorie des restes embryonnaires au cours du XX ^e siècle : les tératomes et tératocarcinomes	143
4.2.1. Première moitié du XX ^e siècle : la théorie des blastomères contre la théorie trophoblastique.....	144
4.2.2. La contribution de Leroy Stevens.....	150
4.2.3. La contribution de Gordon Barry Pierce	156
4.3. Conclusion	164
4.4. <i>English summary</i>	166
PARTIE III. Cellules souches cancéreuses et cellules souches : quel référent ? Quelle définition ? Quelle ontologie ?	171
CHAPITRE 5. Origines, souches et cellules souches : le sens des mots	175
5.1. A quoi fait référence le concept de CSC	176
5.1.1. Les cellules initiatrices	178
5.1.2. Les cellules propagatrices.....	183
5.1.3. Evolution et métastases	185
5.1.4. Conclusions sur l'hétérogénéité des CSC.....	191
5.2. Les CSC sont-elles des cellules souches ?	191
5.2.1. Les CSC sont-elles des cellules souches transformées ?	192
5.2.2. Interrogation sur la propriété souche des CSC	196
5.3. Conclusion	198
5.4. <i>English summary</i>	200
CHAPITRE 6. Ontologie des cellules souches	203
6.1. Définition des cellules souches.....	204
6.1.1. Définition des cellules souches par une « grappe de propriétés homéostatiques »	209
6.1.2. Définition binominale des cellules souches.....	213
6.1.3. Conclusion sur la question de l'existence d'une espèce naturelle 'cellule souche'	216
6.2. Signature moléculaire	217
6.3. Les dogmes de la différenciation remis en cause	224

6.3.1. Clonage : la différenciation est réversible au niveau du noyau.....	225
6.3.2. Cellules souches pluripotentes induites (iPS) : les cellules différenciées peuvent donner des cellules souches en laboratoire	227
6.3.3. Régénération et dédifférenciation : les cellules différenciées peuvent donner des cellules souches <i>in vivo</i>	229
6.3.4. Niche et dédifférenciation	232
6.3.5. Transdifférenciation, métaplasie et plasticité : porosité des catégories du modèle hiérarchique	241
6.3.6. Différenciation sans division et nomadisme taxinomique	245
6.4. Conclusion	248
6.5. <i>English summary</i>	250
PARTIE IV. Ontologie et thérapie : de l'importance de déterminer la nature de la propriété souche	255
CHAPITRE 7. L'alternative de l'entité : la propriété souche comme propriété catégorique ou dispositionnelle.....	263
7.1. La propriété souche comme 'propriété catégorique'.....	263
7.1.1. Stratégie thérapeutique	264
7.2. Toutes les oppositions au modèle classique ne sont pas des oppositions à la conception 'catégorique' de la propriété souche	271
7.3. La propriété souche comme 'propriété dispositionnelle'.....	276
7.3.1. Analyse métaphysique et métaphore.....	278
7.3.2. La version faible de l'hypothèse de la niche appliquée aux CSC..	281
7.3.3. Conséquences thérapeutiques.....	284
7.4. Conclusion	292
7.5. <i>English summary</i>	294
CHAPITRE 8. L'alternative de l'état : la propriété souche comme propriété relationnelle-extrinsèque ou systémique	301
8.1. L'alternative de la cellule souche comme <i>état</i> cellulaire et ses conséquences sur le modèle thérapeutique de la théorie des CSC.....	301
8.2. Les cellules cancéreuses non-souches peuvent-elles se dédifférencier ?	305
8.3. Quelles options thérapeutiques ?	314
8.4. Dédifférenciation par la niche : la propriété souche comme 'propriété relationnelle-extrinsèque'	318
8.5. Dédifférenciation indépendante de la niche : la propriété souche comme 'propriété systémique'.....	321
8.6. Conclusion	330
8.7. <i>English summary</i>	331
Conclusion générale	341
English conclusion.....	353
Annexes	361
Annexe 1 : La théorie des CSC est-elle une théorie ?	363
Annexe 2 : Les adamantinomes	383
Bibliographie	393
Index des noms propres.....	439

Remerciements

La philosophie est un sport collectif où rien n'est jamais vraiment possible que grâce aux autres. Aussi, je voudrais rendre hommage à tous ceux qui ont contribué, d'une manière ou d'une autre, à la réalisation de ce travail.

Je voudrais remercier, en premier lieu, mes deux directeurs de thèse, Bernadette Bensaude-Vincent et Michel Morange, pour leur patience et leur encadrement tout au long de cette thèse. Je les remercie infiniment pour le temps qu'ils m'ont consacré et pour la confiance qu'ils m'ont témoignée. Ils ont constitué un duo très formateur. On retrouvera l'influence de Bernadette Bensaude-Vincent dans ma pratique de la philosophie de terrain. Une pratique que je me suis réappropriée et qui m'a notamment conduit à passer six mois en laboratoire, pas seulement en tant que philosophe, mais principalement en tant que biologiste. On retrouvera l'influence de Michel Morange dans l'importance que j'ai accordée à l'histoire dans mon travail. Les chapitres consacrés à l'enquête historique sont situés au cœur de l'argumentation (Partie II) et représentent bien plus qu'une introduction descriptive. Tous deux m'ont immensément fait profiter de leurs compétences et de leur savoir propres. Tous deux m'ont épaulé et soutenu dans des contextes différents. Leur encadrement était véritablement complémentaire et d'autant plus enrichissant pour moi.

Je remercie sincèrement Hervé Chneiweiss, Charles Durand, Jean Gayon et Jane Maienschein d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse. Je remercie en particulier Jane Maienschein de se déplacer jusqu'à Paris pour être physiquement présente lors de la soutenance. Je la remercie également pour l'aide et le soutien qu'elle m'a témoigné ces 15 derniers mois.

Je voudrais exprimer toute ma gratitude au département de philosophie de l'Université Paris Ouest. J'ai pris un immense plaisir durant tout mon cursus de philosophie. Je remercie en particulier mon équipe d'accueil, l'IREPH, son directeur Jean Seidengart, et tous les membres réguliers de l'atelier de lecture du département. Denis Bonnay, Elie During, Martine de Gaudemar, Stéphane Haber, Brice Halimi, Philippe Hamou, Thierry Hoquet, Olivier Renaut, Jean-Michel Salanskis, ainsi que tous ceux qui ont participé à l'atelier de lecture en ont fait un lieu unique pour la pratique de la philosophie, dépassant toutes les frontières liées aux spécialisations, le tout dans la convivialité et la bonne humeur.

Je souhaite remercier l'Unité de Recherche en Sciences Humaines et Sociales de l'hôpital Gustave Roussy. Je remercie le directeur, Philippe Amiel, pour m'avoir accueilli en stage durant mon master 2 LOPHISS et pour tout le soutien et la confiance qu'il me témoigne depuis. Merci également à tous les membres de l'équipe, avec lesquels j'ai toujours plaisir à interagir.

Je remercie sincèrement l'IHPST de m'avoir accepté comme doctorante associée, me permettant ainsi d'interagir quotidiennement avec d'autres philosophes de la biologie dans un environnement idéal. Je remercie Jean Gayon de m'avoir accueilli dans son équipe et de m'avoir accordé sa confiance dans l'organisation du séminaire PhilBio pendant ces trois dernières années. A cet égard, je remercie aussi Francesca Merlin, Antonine Nicoglou, Gladys Kostyrka et Sébastien Dutreuil, avec qui j'ai partagé cette tâche dans le plus grand plaisir. Je remercie également Alexandra Arapinis, Cécilia Bognon, Marie Darrason, Steeves Demazeux, Florent Franchette, Vincent Israël-Jost, Johannes Martens, ainsi que Sandrine Souraya, Peggy Tessier, Armelle Thomas, et, Philippe Huneman, Matteo Mossio, Marion Vorms.

Je remercie Hans-Jörg Rheinberger de m'avoir accueillie au département III du Max Planck Institute, où j'ai pu faire de nombreux séjours de recherche durant ces cinq dernières années.

Je tiens à remercier Charles Durand, le directeur du Master 2 international « Biologie cellulaire, développement et cellules souches » de m'avoir donné ma chance en m'accueillant dans ce master très concurrentiel alors que je n'avais aucun diplôme ni aucune expérience en biologie. Je remercie également Michel Vervoort de m'avoir accueilli dans son laboratoire pendant six mois, Eve Gazave pour m'avoir formé et accompagné tout au long de ces six mois, ainsi que tous les membres de l'équipe. L'université Paris 6 a accueilli ma recherche avec intérêt et curiosité et les invitations qui m'ont été régulièrement faites à présenter mes travaux ont énormément contribué à la progression de ma réflexion. Je remercie tout particulièrement Charles Durand, Thierry Jaffredo et Pierre Charbord, à cet égard.

Ma recherche a bénéficié de nombreuses interactions avec les biologistes du réseau « Cellule Souches Cancéreuses » d'Île-de-France. Je remercie en particulier Françoise Pflumio pour ses encouragements, sa gentillesse, son accueil au CEA, ses relectures de chapitres de ma thèse et les discussions que nous avons pu avoir au sujet des cellules souches cancéreuses. Je remercie également Christine Chomienne, Hervé Chneiweiss, Nicolas Dulphy, Marie-Pierre Junier, Fawzia Louache et tous les membres du réseau.

Je remercie également le Cancéropôle Île-de-France et l'ARC d'avoir financé quatre années de cette recherche.

Je tiens à remercier infiniment tous ceux, philosophes et biologistes, qui ont lu et discuté un, plusieurs ou tous les chapitres de cette thèse et de ses multiples versions antérieures. Sébastien Dutreuil, Melinda Fagan, Eve Gazave, Michel Gho, Xavier Guchet, Thierry Hoquet, Gladys Kostyrka, Maël Lemoine, Sacha Loeve, Francesca Merlin, Matteo Mossio, Vanessa Nurock, Leila Périé, Françoise Pflumio, Thomas Pradeu, Karine Prévôt, Michel Vervoort, ont tous contribué à l'amélioration considérable des pages qui suivront.

Je voudrais exprimer toute mon admiration et ma reconnaissance à Thierry Hoquet, Francesca Merlin et Thomas Pradeu. Ils ont, tous les trois, été des guides et des amis et j'espère qu'ils le resteront bien longtemps encore.

Jamais je ne remercierai assez Thierry pour tout ce qu'il a fait pour moi. Ma gratitude est immense et mon admiration sans fin. Il donne à la philosophie une saveur particulière, une saveur que je réclame avec gourmandise. Ses critiques et ses encouragements m'ont fait considérablement murir.

Je tiens à remercier Francesca pour sa patience et sa gentillesse. Il n'y a pas un article, ni un chapitre que j'ai écrit, ces trois dernières années, qu'elle n'a pas pris le temps de relire. Son soutien et son amitié ont été un réconfort.

Enfin, Thomas m'a beaucoup appris ces dernières années. Travailler à ses côtés, au sein du groupe de travail sur le développement (dont je remercie d'ailleurs tous les membres passés et présents) est très enrichissant et je lui suis infiniment reconnaissante de la confiance qu'il m'a accordée. Toujours prêt à dialoguer, sa ténacité argumentative en fait un partenaire de réflexion hors du commun.

Je voudrais aussi remercier tous mes amis non-philosophes pour leur soutien et leur amitié. Merci à Solenn Derrien, Juliette Deslandes et Nelly Garcia qui fleurissent mon quotidien de leur bonne humeur, leur énergie et leur humour. Merci aussi à Eva Codognet, Adeline Colombo, Johanna Ficatier, Esti Gracia, Benoit Huret, Emma Karam-Leder, Joyce Kettering, Laura Lagoudakis, Sabine Laudillay, Julie Manceau, Laetitia de Polo, Christelle Rogez et Caroline Vincenti.

Je voudrais adresser un merci tout particulier à Josiana Botelho, dont le soutien a également été déterminant à la suite de la mort de mon père. Je ne la remercierai jamais assez pour sa patience et sa tolérance à mon égard.

Je remercie également toute l'équipe de l'ES16 et les entraîneurs Florent Argence et Stéphanie Mugneret-Béghé qui ont contribué à forger mon esprit d'équipe et m'ont appris à ne pas reculer devant l'effort.

Je remercie infiniment Caroline Gug qui a considérablement facilité ma fin de thèse par son humour, son amour, sa gentillesse et ses attentions.

Enfin, je voudrais remercier ma famille dont le soutien inconditionnel est une force motrice sans équivalent. Je remercie infiniment France Laplane, ma mère, pour sa grande générosité et son aptitude à faire toujours passer ses proches avant toute autre chose. Sa force de caractère et sa générosité sont un exemple pour moi. Je remercie Fanny Laplane, ma sœur, pour toute son aide, en particulier technique, pour son soutien sans faille dans les moments difficiles, ainsi que pour son humour et son intelligence. Je remercie également Denise Gillet, ma grand-mère, dont l'amour et les soins ont si souvent participé à maintenir l'équilibre autour de moi. J'aurai également aimé pouvoir remercier de vive voix Bruno Laplane, mon père, qui m'a épaulé et soutenu dans mes choix et, en particulier, dans celui de faire de la philosophie. J'aurai aimé qu'il soit encore là pour lire ces lignes, et toutes les suivantes.

Avertissements

1. Les références sont indiquées en entier dans les notes de bas de page.
2. Les prénoms des personnes mentionnées sont indiqués. Lorsque L'information est introuvable, seule l'initiale est indiquée.
3. Lorsque les figures sont reprises d'articles, les légendes sont traduites et/ou indiquées en note, dans leur version originale. Pour les figures 54, 59 et 62, pour des raisons de place, les références et légendes originales sont indiquées en note lors du renvoi aux figures, plutôt qu'en note en fin de légende.
4. Dans les figures qui sont de ma main, les cellules souches sont représentées en jaune, les cellules souches cancéreuses en vert et les cellules cancéreuses non-souches en rouge.
5. Les Figures 6 et 17 sont commentés, chacune, au cours de deux chapitres différents. De ce fait, ces figures ont été réincorporées dans les chapitres concernés (sous les numéros de Figure 15 et 30, respectivement).
6. Je n'ai pas opté pour le nous académique en raison d'un nous réel, au chapitre 6.

Introduction

1. Cancers en quête de traitements

En France, en 2012, 355000 nouveaux cas de cancers ont été diagnostiqués tandis que 148000 personnes sont décédées de cette maladie. D'après les chiffres de la Fondation ARC, un homme sur deux et une femme sur trois se verront diagnostiquer un cancer avant 85 ans. Parmi eux, seuls 60% guériront¹. Ces chiffres inquiétant donnent une idée de l'importance de l'enjeu de la recherche de nouveaux traitements contre les cancers. Cet enjeu n'est pas nouveau. Il y a plus de 40 ans déjà, le Président des Etats-Unis, Richard Nixon, en faisait une affaire d'état et déclarait « la guerre contre le cancer »². Les progrès accomplis pendant ces 40 années sont indéniables. Pourtant, le bilan reste amer³. Le cancer est aujourd'hui, en France, la première cause de décès prématuré (avant 65 ans), tous sexes confondus, la première cause de mortalité chez les hommes et la seconde chez les femmes. Ce contexte critique est favorable à l'émergence de nouvelles stratégies thérapeutiques, parmi lesquelles on trouve les immunothérapies, les anti-angiogéniques, les thérapies géniques et autres associations entre médecine personnalisée et médecine ciblée. Parmi ces

¹ http://www.ligue-cancer.net/article/9523_le-cancer-en-france#.Ue6iPFPOuRt 23/07/13.

Notons que cette estimation est plus positive que la situation actuelle, puisque le taux de survie relative à cinq ans, tous cancers confondus, des patients diagnostiqués entre 1989 et 1997 a été estimé à 52% par le réseau Francim. Sachant que les rechutes peuvent se manifester bien après cinq ans. Voir : INCa (ed) (2011) *La situation du cancer en France en 2011*. Rapports & synthèses, Boulogne-Billancourt, p. 32.

² The National Cancer Act (P.L. 92 218), « The War on Cancer ».

³ Dans un article publié dans le *New York Times*, Gina Kolata dresse le bilan suivant : après 40 ans de recherche, 105 millions de dollars dépensé par le *National Cancer Institute* à lui seul, la mortalité n'a baissé que de 5%, alors que la mortalité liée aux maladies cardiaques a baissé de 64% sur la même période et celle de la grippe et de la pneumonie de 58%. Voir : Kolata G (2009) « Advances Elusive in the Drive to Cure Cancer ». *New York Times*, April 23.

La littérature sur la Guerre contre le Cancer est pléthorique. Parmi les livres, on peut citer : Faguet GB (2005) *The War on Cancer. Anatomy of Failure, A Blueprint for the Future*. Netherlands: Springer et Proctor RN (1995) *Cancer Wars. How Politics Shapes What We Know and Don't Know About Cancer*. New York: BasicBooks.

Concernant les articles, les trois plus cités, selon *Web of Science*, sont : Sporn MB (1996) « The war on cancer » *The Lancet* 347(9012): 1377-1381 ; Singh A and Settleman J (2010) « EMT, cancer stem cells and drug resistance: an emerging axis of evil in the war on cancer » *Oncogene* 29(34): 4741-4751 et Chabner BA and Roberts TG (2005) « Chemotherapy and the war on cancer » *Nat Rev Cancer* 5(1): 65-72. Il est intéressant de voir que le deuxième article le plus cité porte sur les CSC.

dernières, figure la stratégie thérapeutique de ciblage des « cellules souches cancéreuses » (CSC)⁴, l'objet de cette enquête.

2. Cellules souches cancéreuses : émergence d'une nouvelle stratégie thérapeutique

Quelle est donc cette « nouvelle cible de la guerre contre le cancer »⁵ ? Qu'est-ce qu'une cellule souche cancéreuse et en quoi les « cibler » pourrait-il bien permettre de « sortir de l'impasse de la guerre contre le cancer »⁶ ? Les cellules souches cancéreuses sont, comme leur nom l'indique, des cellules qui cumulent deux identités : ce sont à la fois des cellules cancéreuses et des cellules souches. Comme les autres cellules cancéreuses, elles sont porteuses d'altérations diverses, génétiques ou non, qui les rendent dysfonctionnelles⁷. Comme les cellules souches, elles sont capables de s'auto-renouveler et de se différencier. De même que dans les tissus sains, les cellules souches ne représentent qu'une toute petite fraction des cellules, dans les tissus cancéreux, les cellules souches cancéreuses ne représentent qu'une toute petite sous-population. Cela suscite une interrogation à l'égard de la stratégie thérapeutique de ciblage des CSC : comment l'élimination d'une petite fraction de cellules cancéreuses pourrait-elle guérir un cancer ?

Pour comprendre cette intrigante stratégie thérapeutique, il faut se pencher sur la théorie qui l'accompagne. Je l'appellerai « théorie des cellules souches cancéreuses »⁸. Selon cette théorie, formulée au cours des années 1990-2000, seules des CSC sont tumorigènes, les autres cellules cancéreuses seraient incapables de développer un cancer. Cette disparité fonctionnelle est due à la propriété souche : seules les cellules capables d'auto-renouvellement et de différenciation peuvent initier, développer et propager des cancers.

⁴ Pour les CSC et la guerre contre le cancer : Singh A and Settleman J (2010) « EMT, cancer stem cells and drug resistance: an emerging axis of evil in the war on cancer » *Oncogene* 29(34): 4741-4751 ; Lenz HJ (2008) « Colon cancer stem cells: a new target in the war against cancer » *Gastrointest Cancer Res* 2(4): 203-204.

⁵ Lenz HJ (2008) « Colon cancer stem cells: a new target in the war against cancer » *Gastrointest Cancer Res* 2(4): 203-204.

⁶ Haber DA, Gray NS and Baselga J (2011) « The evolving war on cancer » *Cell* 145(1): 19-24.

⁷ Depuis 2000 et l'incontournable article publié par Douglas Hanahan et Robert Weinberg, il est coutume de considérer que les six marques distinctives des cellules cancéreuses sont une autosuffisance à l'égard des facteurs de croissances, une capacité à échapper à l'apoptose, un potentiel de réplification illimité, une capacité anormale à induire l'angiogenèse et une capacité à former des métastases. Voir : Hanahan D and Weinberg RA (2000) « The hallmarks of cancer » *Cell* 100(1): 57-70.

⁸ La question de savoir s'il s'agit véritablement d'une théorie est traitée dans l'annexe 1. Je soutiens que c'est bien le cas.

Pour filer la métaphore du « super héros » proposée par Lawrence Burns à propos des cellules souches, la propriété souche ferait des CSC l'ennemi à abattre⁹. Or, les thérapies classiques (chimiothérapie et radiothérapie), dont l'objectif est d'éliminer le plus grand nombre possible de cellules cancéreuses, manqueraient d'efficacité face à ces cellules bien particulières. Il faudrait donc changer de stratégie et la théorie des CSC suggère de cibler les CSC.

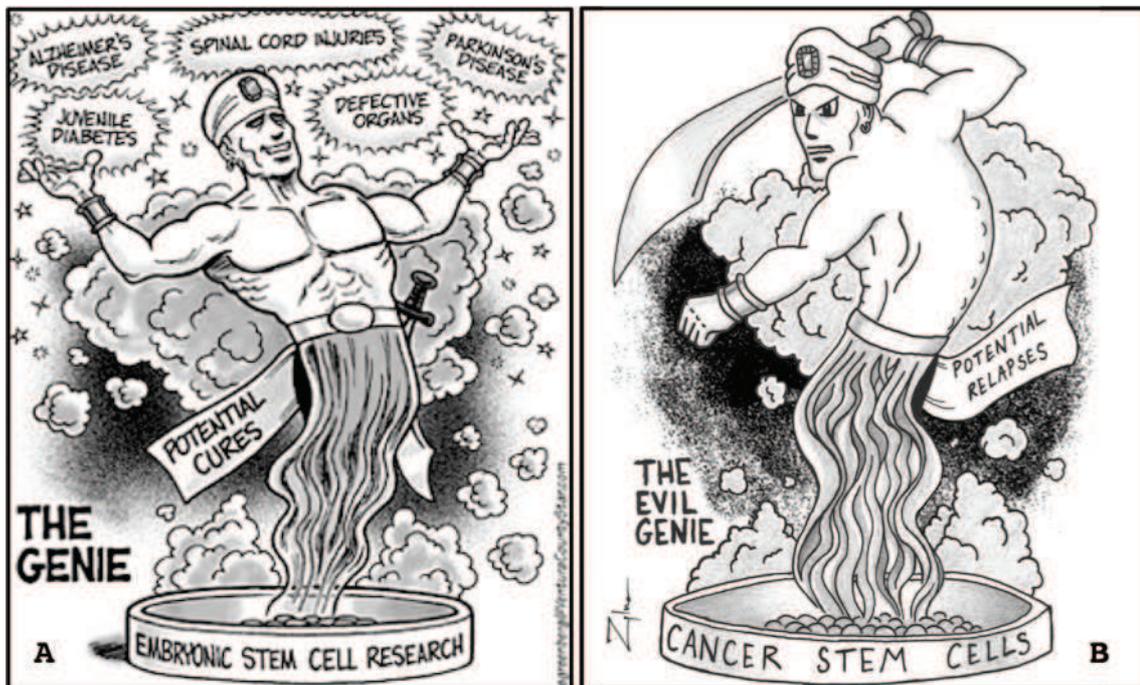


Figure 1. Les deux faces de la propriété souche. A : dans le contexte sain, la propriété souche délivre de grandes promesses thérapeutiques¹⁰. B : dans le contexte cancéreux, la propriété souche représente le danger principal¹¹.

Plus précisément, la théorie des CSC véhicule l'idée que l'élimination de toutes les CSC d'un cancer donné serait « nécessaire et suffisante » pour garantir la guérison du patient¹². Cette étude a pour objectif d'interroger la stratégie thérapeutique de ciblage des CSC et l'idée qu'un tel ciblage serait nécessaire et suffisant pour guérir les cancers. Plus précisément, l'objectif sera d'élucider dans quelle mesure le ciblage des CSC peut, ou ne peut pas, être « suffisant ». La question de la « nécessité », quant à elle, dépasse le cadre de cette recherche. En effet, s'il est vrai que les cancers sont initiés, développés et maintenus par les CSC uniquement, alors l'élimination des CSC est nécessaire pour garantir la

⁹ Burns L (2009) « "You are our only hope": trading metaphorical "magic bullets" for stem cell "superheroes" » *Theor Med Bioeth* 30(6): 427-442.

¹⁰ Dessin de Steve Greenberg.

<http://blogs.venturacountystar.com/greenberg/archives/2005/05/> (03/08/2013).

¹¹ Dessin personnel.

¹² Voir : Reya T, Morrison SJ, Clarke MF and Weissman IL (2001) « Stem cells, cancer, and cancer stem cells » *Nature* 414(6859): 105-111, en particulier p. 110 : « Finally, in order to cure cancer, it is necessary and sufficient to kill cancer stem cells ».

guérison des patients. Ainsi, se demander si l'élimination des CSC est « nécessaire » revient à se demander si la théorie des CSC est vraie. Or, seules les expériences actuellement conduites par les biologistes permettront, à l'avenir, de savoir si elle s'applique bien aux cancers et (le cas échéant) à quels cancers. Ainsi, la question à laquelle tente de répondre ce travail est plus précisément celle-ci : si la théorie des CSC est vraie, alors est-il suffisant de cibler les CSC pour garantir la guérison des patients ? Je soutiendrai la thèse que cela dépend du statut ontologique de la propriété souche.

Cette problématique peut, à priori, susciter l'étonnement. D'une part, son domaine d'application est restreint à une théorie parmi d'autres, si bien qu'elle semblerait perdre tout son intérêt si la théorie des CSC s'avérait fautive. D'autre part, elle semble peu philosophique. Le chapitre 1 est entièrement consacré à montrer l'importance qu'occupe la théorie des CSC en cancérologie aujourd'hui. Selon Sophie Häfner et Laure Coulombel, le concept de CSC aurait même « quasiment été élevé au rang de dogme »¹³. La thèse que je défends concerne, au minimum, tous ceux qui consacrent du temps, de l'argent ou des moyens à la stratégie thérapeutique de ciblage des CSC. Elle implique aussi une réflexion sur les cellules souches, ce qui élargit considérablement sa portée. Je montrerai que l'enjeu dessiné par la problématique n'est pas seulement biologique et médical mais concerne bien la philosophie. En effet, je soutiendrai qu'elle soulève la question métaphysique de l'ontologie des cellules souches, d'où l'association, peut-être surprenante, entre « ontologie et thérapie », dans le titre de ce travail.

3. Ontologie et thérapie : qu'est-ce qu'une cellule souche ?

Quel peut-être le rapport entre l'ontologie des cellules souches et le traitement des cancers ? Celui entre cellule souche et cellule souche cancéreuse a été éclairci, mais que vient faire la métaphysique dans les traitements des cancers ? En quoi la stratégie thérapeutique de ciblage des CSC engage-t-elle des questions de métaphysique ?

Cela tient au fait que l'on ne sait pas exactement ce qu'est une cellule souche. Cela peut paraître étrange qu'une figure aussi médiatique puisse être mal connue. C'est d'autant plus étonnant que les cellules souches figurent aujourd'hui parmi les outils thérapeutiques. Elles n'y figurent pas seulement comme « super héros » de la médecine de demain, mais font déjà partie de l'arsenal thérapeutique d'aujourd'hui. Les patients atteints de certains

¹³ Häfner S et Coulombel L (2009) « L'oligarchie contestée des cellules souches cancéreuses ». *Med Sci* 3(25): 227-228, ici p. 227.

cancers du sang peuvent ainsi faire l'objet de greffes de cellules souches hématopoïétiques (les cellules souches du sang). De plus, le concept de cellule souche a plus d'un siècle, il est aussi vieux que la biologie cellulaire¹⁴ et fait l'objet de nombreuses recherches depuis la seconde moitié du XX^e siècle. Pour bien comprendre en quoi l'identité des cellules souches pose problème, il faut commencer par indiquer que les cellules souches sont hétérogènes. Le concept de cellule souche regroupe une forte hétérogénéité de cellules, normales ou pathologiques (les cellules souches cancéreuses), naturelles ou artificielles. Les types de cellules souches contenues par un organisme peuvent varier en fonction de la période développementale et en fonction des tissus. De plus, toutes les espèces ne disposent pas des mêmes types de cellules souches au cours du développement¹⁵. Le taxon d'intérêt, pour la question du traitement des cancers, est le groupe des mammifères, qui contient les humains et les souris (la souris étant l'organisme modèle principal pour l'étude des cellules souches cancéreuses). Chez les mammifères, on distingue usuellement trois périodes du développement au cours desquelles l'organisme contient trois types de cellules souches : totipotentes, pluripotentes et multipotentes (voir la Figure 2).

Pendant les premières divisions cellulaires qui font suite à la fécondation, jusqu'au stade huit cellules¹⁶, les cellules de l'embryon, que l'on appelle « blastomères », sont dites « cellules souches totipotentes » (Figure 2 A). Chacune d'entre elles est susceptible de donner naissance à un organisme complet.

A partir du stade seize cellules, deux populations cellulaires commencent à se distinguer : les cellules internes et les cellules externes. Au stade trente deux cellules, une cavité se creuse à l'intérieur de l'embryon. Au stade blastocyste (Figure 2 B ou Figure 3 encadré en bleu), on distingue alors les cellules du trophoblaste qui constituent la paroi externe (cellules marrons) et la « masse cellulaire interne » (population de cellules bleues). Les cellules de la masse cellulaire interne peuvent être extraites et mises en culture, elles donnent alors naissance à ce que l'on appelle les « cellules souches embryonnaires » ou « cellules ES ». Ce sont des « cellules souches pluripotentes ». Elles peuvent donner naissance à tous les types cellulaires de l'organisme adulte. Cependant, contrairement aux cellules souches totipotentes, elles ne permettent pas à un organisme entier de se

¹⁴ Maehle A-H (2011) « Ambiguous cells: the emergence of the stem cell concept in the nineteenth and twentieth centuries » *Notes Rec. R. Soc.* 65: 359-378.

¹⁵ J'ai consacré un article à la question des frontières temporelles du développement et des cellules souches en fonction des espèces. Cette question ne sera pas examinée en détail dans cette thèse. Voir : Laplane L (2011) « Stem Cells and the Temporal Boundaries of Development: Toward a Species-Dependent View » *Biological Theory* 6(1): 48-58.

¹⁶ Chazaud C (2008) « L'embryogenèse précoce des mammifères Premières différenciations cellulaires et cellules souches » *Med Sci* 24(12): 1043-1048, ici p. 1043.

développer car elles ne permettent pas le développement des annexes extraembryonnaires, tel que le placenta, nécessaires au développement de l'embryon. Ces annexes extraembryonnaires se développent à partir des cellules du trophoblaste. *In vivo*, la pluripotence des cellules souches de l'embryon est extrêmement éphémère. Les cellules de la masse cellulaire interne se différencient très tôt en deux populations (des précurseurs épiblastiques et des précurseurs endodermiques) puis donnent naissance aux trois feuillets embryonnaires (ectoderme, mésoderme et endoderme) à partir desquels se développeront tous les tissus de l'organisme (Figure 3, encadré en rouge). Il existe, *in vivo*, des cellules souches pluripotentes plus stables dans les contextes pathologiques, il s'agit des cellules souches cancéreuses de tératocarcinomes, à partir desquelles il est possible de cultiver des lignées de « cellules embryonnaires de carcinomes », également qualifiées de cellules souches pluripotentes¹⁷. Plus récemment, des lignées de cellules souches pluripotentes ont été obtenues à partir de cellules différenciées. Il s'agit des « cellules souches pluripotentes induites », ou iPS¹⁸ (Figure 2 E).

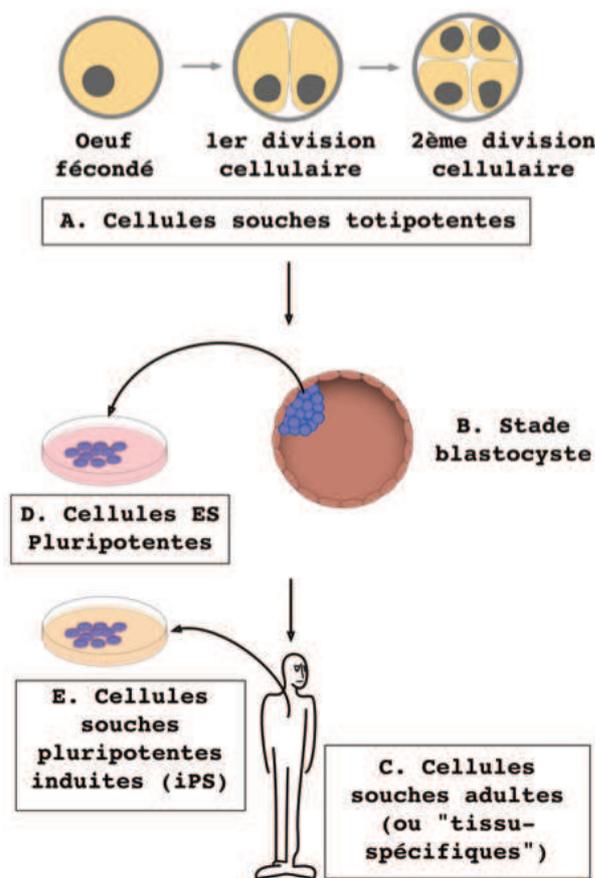


Figure 2. Représentation schématique des différents types de cellules souches chez l'homme.

¹⁷ Kieffer E, Kuntz S and Viville S (2010) « Tour d'horizon des lignées de cellules souches pluripotentes » *Med Sci (Paris)* 26(10): 848-854.

¹⁸ Sur la catégorie des cellules souches pluripotentes et les différents types de cellules souches pluripotentes, voir : Coulombel L (2009) « Pluripotence : une définition à géométrie variable » *Med Sci* 25(10): 798-801.

Enfin, après la formation des trois feuillets embryonnaires, le potentiel de différenciation des cellules souches se voit restreint à certains tissus seulement. Ainsi, les cellules souches de l'organisme adulte sont communément qualifiées de « cellules souches multipotentes » ou, en anglais, de cellules souches « *tissue-specific* » (Figure 2 C). Les cellules souches hématopoïétiques, par exemple, peuvent donner toutes les cellules du sang. Les tissus adultes se maintiennent grâce à leurs stocks de cellules souches qui les fournissent en nouvelles cellules. Ces cellules souches adultes ont leurs équivalents cancéreux. Ainsi, les cellules souches cancéreuses se déclinent en fonction des tissus. Les cellules souches cancéreuses de leucémies ne peuvent donner que des leucémies et les cellules souches cancéreuses de mélanomes que des mélanomes.

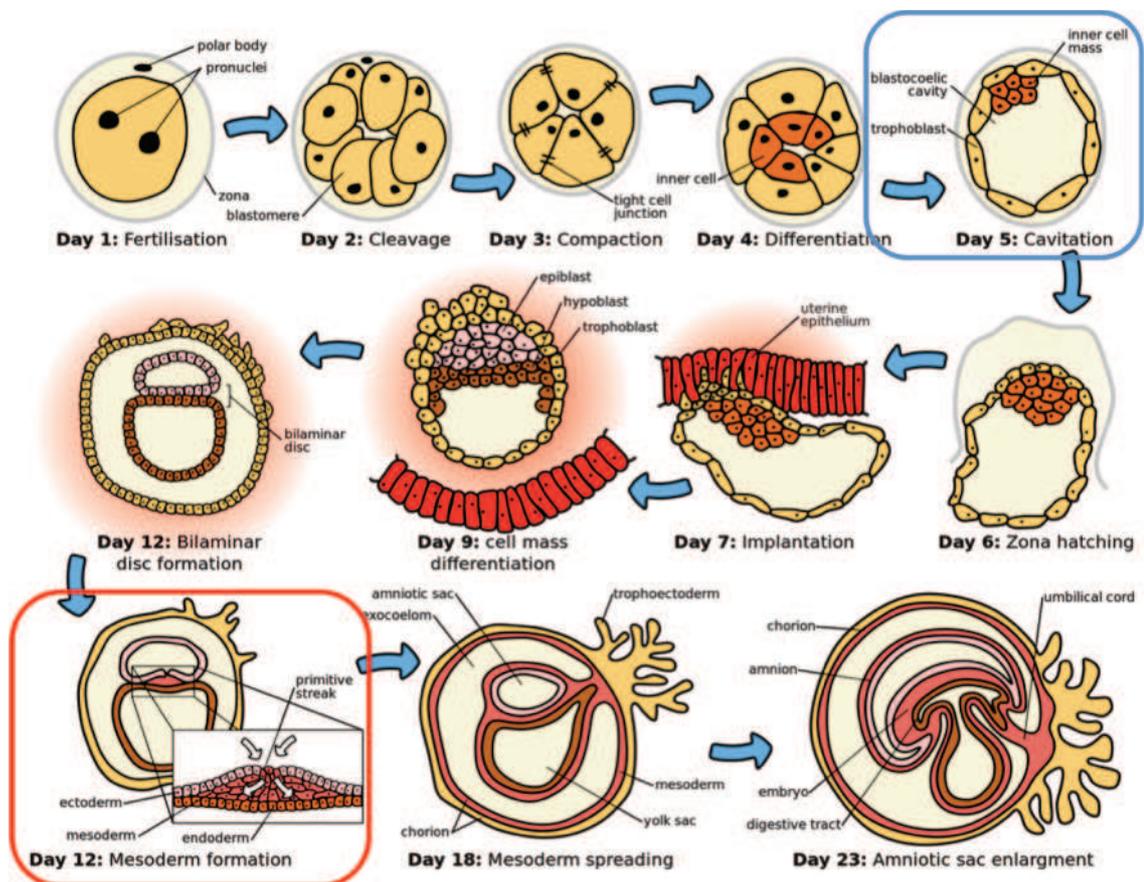


Figure 3. Les premiers stades du développement humain¹⁹.

Face à cette hétérogénéité de cellules, plusieurs questions se posent. D'abord, qu'est-ce que ces cellules ont en commun ? En première instance, cette question renvoie à celle de la définition des cellules souches. Ce que les cellules souches ont en commun, c'est la « propriété souche ». La propriété souche fait référence à deux propriétés : la capacité à

¹⁹ Figure modifiée à partir de : <http://en.wikipedia.org/wiki/File:HumanEmbryogenesis.svg>

s'auto-renouveler, c'est-à-dire à produire au moins une nouvelle cellule souche lors de la division cellulaire, et la capacité de se différencier, c'est-à-dire de produire des cellules spécialisées. La question de savoir dans quelle mesure la propriété souche distingue les cellules souches des cellules non-souches est une question qui devra être clarifiée. En effet, les cellules souches ne sont pas les seules cellules à être capables de s'auto-renouveler et/ou de se différencier. Or, si la différence entre cellule souche et cellule non-souche est quantitative, peut-on véritablement établir une frontière nette autour des cellules souches ? Les cellules souches représentent-elle une catégorie naturelle distincte des autres cellules ou bien s'agit-il d'une catégorie conventionnelle ? Ceci conduit à la question de l'ontologie des cellules souches, c'est-à-dire à la question de la *nature* ou du *mode d'existence* de ces cellules.

Le problème des frontières naturelles ou artificielles de la catégorie des cellules souches se double d'un autre problème, lié à la question de l'existence d'une espèce naturelle « cellule souche » : quel type de propriété est la propriété souche ? En effet, quand bien même la définition des cellules souches permettrait de distinguer les cellules souches des cellules non-souches, elle ne résoudrait pas la question de l'espèce naturelle. Une définition établit des propriétés communes à tous les objets définis, ici : la propriété souche. Mais la possession de propriétés communes n'assure pas l'appartenance à un groupement naturel. Ainsi, la forme « fusiforme » est une propriété commune aux dauphins, qui sont des mammifères, aux requins, qui sont des poissons, et aux ichtyosaures, qui sont des reptiles. Prenons maintenant l'exemple de la propriété « avoir plus de 60 ans ». Cette propriété, qui produit une distinction artificielle entre les humains, est une propriété de nature différente de la propriété « être fusiforme ». En particulier, tous les humains sont susceptibles de faire, un jour, partie du groupe défini par la propriété « avoir plus de 60 ans ». Ainsi, certaines propriétés, comme « avoir 60 ans » peuvent se gagner ou se perdre, d'autres, comme « être fusiforme » sont plus stables. Qu'en est-il de la propriété souche ? Une cellule non-souche peut-elle acquérir la propriété souche ? La propriété souche ne dépend-elle que des cellules souches ou implique-t-elle des relations avec d'autres objets du monde ?

Quatre (groupes de) philosophes se sont confrontés à ces questions. Seul le groupe de Robert Wilson, Matthew Barker et Ingo Brigandt a véritablement pris partie sur la question de l'existence d'une espèce naturelle 'cellule souche'. A l'occasion d'un article dans lequel ils défendent un essentialisme renouvelé à l'égard des espèces naturelles, ils ont pris les cellules souches comme exemple d'espèce naturelle, au même titre que les gènes et les

espèces²⁰. Reste que la définition qu'ils proposent ne permet pas de distinguer les cellules souches de toutes les cellules non-souches, ce qui rend la proposition peu convaincante. Elle sera examinée en détail au chapitre 6.

Jason Robert, d'une part, Yan Leychkis, Stephen Munzer et Jessica Richardson, d'autre part, ainsi que Melinda Fagan, soutiennent tous que la question ne peut pas être résolue empiriquement (les données disponibles ne permettent pas de trancher). Jason Robert soutient qu'en matière d'inférence, l'hétérogénéité des cellules souches nécessite l'étude de tous les paramètres. « Aucune cellule souche, dit-il, n'est un modèle pour les cellules souches »²¹. Cela rend la question de l'existence d'une (ou de plusieurs) espèce(s) naturelle(s) 'cellule souche' non pertinente.

Yan Leychkis *et al* et Melinda Fagan se sont intéressés à la question à travers une reformulation empruntée au biologiste Dov Zipori, spécialiste des cellules souches. Ce dernier distingue deux alternatives : selon la vision traditionnelle, les cellules souches feraient référence à des *entités* déterminées (ce qui correspond aux membres de l'espèce naturelle 'cellule souche'), selon sa propre vision, elles feraient référence à un *état* cellulaire (des cellules non-souches pourraient acquérir la propriété souche). Yan Leychkis, Stephen Munzer et Jessica Richardson soutiennent que si la question ne peut pas être empiriquement résolue, elle peut l'être théoriquement et Melinda Fagan soutient qu'elle peut l'être conceptuellement²².

La prise en considération de l'objet médical qu'est la cellule souche cancéreuse fait émerger une toute autre lecture du débat. En effet, la question qui me guide (la stratégie thérapeutique de ciblage des CSC peut-elle garantir la guérison des patients ?) me poussera à soutenir deux thèses originales.

- (1) Le débat sur la nature des cellules souches *doit être résolu empiriquement*. Si la théorie des CSC est correcte, alors seule une résolution empirique du débat permettra d'évaluer l'efficacité de la stratégie thérapeutique de ciblage des CSC. En effet, je montrerai que le ciblage des CSC n'est suffisant pour garantir la

²⁰ Wilson R, Barker MJ and Brigandt I (2007) « When Traditional Essentialism Fails: Biological Natural Kinds », *Philosophical Topics* 35(1&2): 189-215.

²¹ « no stem cell is a model for stem cells as such » Robert JS (2004) « Model systems in stem cell biology » *Bioessays* 26(9): 1005-1012 (ici p. 1008).

²² Voir Leychkis Y, Munzer SR and Richardson JL (2009) « What is stemness? » *Stud Hist Philos Biol Biomed Sci* 40(4): 312-320 ; Fagan MB (2013) *Philosophy of Stem Cell Biology. Knowledge in Flesh and Blood*. London: Palgrave-Macmillan et Fagan MB (2013) « Stem Cell Pluralism: Responding to the 'Stemness' Debate », oral communication at the BSPS annual conference, Exeter, 4-5 July 2013.

guérison des cancers que si les CSC sont des *entités* stables, c'est-à-dire appartiennent à une espèce naturelle.

- (2) Résoudre l'alternative binaire entre « espèce naturelle » et « groupement artificiel » ou entre « *entité* » et « *état* » n'est pas suffisant pour évaluer les stratégies thérapeutiques de ciblage des CSC. La question de l'ontologie des cellules souches est plus sophistiquée. Je montrerai que chaque pan de l'alternative contient une dichotomie qui doit également être empiriquement étudiée. En effet, l'examen des débats sur les cellules souches dans la communauté scientifique montre que deux grandes questions se croisent : celle de la dédifférenciation, qui a poussé Dov Zipori à élaborer sa théorie de l'*état*, et celle de l'existence et du rôle de la niche cellulaire dans le contrôle de la propriété souche. Or, combinées, ces deux questions font émerger non pas deux mais quatre ontologies possibles pour la propriété souche. Chacune a des conséquences propres en matières de stratégie thérapeutique.

En conséquence, je soutiens que la question métaphysique de la nature de la propriété souche est déterminante pour l'évaluation des stratégies thérapeutiques de la théorie des CSC.

4. Structure de l'argumentation

La question à laquelle je souhaite répondre est la suivante : si la théorie des cellules souches cancéreuses est vraie, alors est-il suffisant ce cibler les CSC pour garantir la guérison des patients ?

L'objectif de ma thèse est de démontrer que la réponse dépend de l'ontologie des cellules souches ou, plus précisément, du type de propriété qu'est la propriété souche. Pour cela, je procéderai en quatre temps.

Dans une première partie, je présenterai les cellules souches cancéreuses, de manière sociologique (chapitre 1), puis conceptuelle (chapitre 2). Le chapitre 1 me permettra de montrer le succès des CSC et de la stratégie thérapeutique anti-CSC, justifiant ainsi la problématique générale de la thèse. Le chapitre 2 me permettra d'exposer la structure de la théorie des CSC.

La partie suivante proposera une exploration historique de la théorie des CSC et, plus précisément, de l'hypothèse générale de l'origine des cancers dans ces cellules de type souche, pour les leucémies (chapitre 3) et pour les tératocarcinomes (chapitre 4). Ce sera

l'occasion de présenter les données biologiques à partir desquelles a été élaborée la théorie des CSC. Je montrerai que les notions de cellule souche et de cellule souche cancéreuse sont historiquement ambiguës quant à leurs sens et leurs références.

La troisième partie poursuivra cette interrogation et montrera que le concept actuel de CSC est toujours ambigu concernant la question de savoir à quelles cellules il fait référence (chapitre 5). L'examen des débats autour de la référence des CSC me mènera à soulever la question plus générale « qu'est-ce qu'une cellule souche ? ». Cette question fera l'objet du chapitre 6, où seront analysés les débats scientifiques portant sur la nature des cellules souches.

Enfin, la quatrième et dernière partie présentera les différentes conceptions possibles de la propriété souche, en s'appuyant sur des données biologiques, et en évaluera les conséquences en matière de stratégie thérapeutique. Je montrerai qu'il existe quatre conceptions de la propriété souche, chacune ayant des conséquences thérapeutiques distinctes. Le chapitre 7 montrera qu'au sein de l'alternative de l'*entité*, la propriété souche peut être soit une 'propriété catégorique', soit une 'propriété dispositionnelle'. Dans les deux cas, la stratégie de ciblage des CSC peut, en théorie, garantir la guérison. Mais si la propriété souche est une 'disposition', alors une autre stratégie thérapeutique peut garantir le même résultat : le ciblage de la niche des CSC. Le chapitre 8 montrera qu'au sein de l'alternative de l'*état*, la propriété souche peut être soit 'relationnelle-extrinsèque' soit 'systémique'. Dans les deux cas, le ciblage des CSC n'est pas suffisant pour garantir la guérison des patients. En revanche, s'il s'agit d'une 'propriété relationnelle-extrinsèque', alors le ciblage de la niche pourrait suffire. Si la théorie des CSC est exacte, le cas le plus problématique est celui où la propriété souche serait une 'propriété systémique' car alors, ni le ciblage des CSC, ni celui de la niche ne peuvent garantir la guérison.

En conclusion, j'aborderai certaines questions soulevées par les thèses soutenues dans ce travail, en particulier la question de la possibilité de tester empiriquement l'ontologie des cellules souches, c'est-à-dire de falsifier les quatre conceptions distinguées dans la quatrième partie, et la question de la conception la plus plausible. La conclusion s'achèvera sur les questions qui s'ouvrent, à la suite de ce travail, notamment concernant les conséquences des distinctions proposées pour d'autres domaines que la cancérologie.

English introduction

In France, in 2012, 355000 new cases of cancers have been diagnosed and 148000 death following cancers have been registered. According to figures from ARC foundation, one in two men and one in three women will be diagnosed with cancer before age 85. Of these, only 60% will heal. These alarming data give an idea of the importance of the issue of the search for new treatments against cancer. This issue is not new. More than forty years ago, US President Richard Nixon, declared the “war on cancer”. Progress achieved during these 40 years is undeniable. However, the toll remains bitter. In France, cancer is currently the leading cause of premature death (before age 65), both sexes considered; the primary cause of death in men and the second in women. This critical context triggers the development of new therapeutic strategies, among which are immunotherapies, anti-angiogenic, gene therapies, and other associations between personalized medicine and targeted medicine. The latter includes the “cancer stem cells” (CSC) targeting strategy, the subject of this investigation.

What is this “new target in the war against cancer” (reference in note 5)? What is a “cancer stem cell” and how “targeting” them could allow to “break the stalemate in the war against cancer” (ref. in note 6)? Cancer stem cells are, as their name suggests, cells that combine two identities: they are both cancer cells and stem cells. Like other cancer cells, they carry various alterations, genetic or not, that make them dysfunctional. Like stem cells, they are able to self-renew and to differentiate. In cancerous tissues as well as in normal tissues, stem cells represent only a small fraction of cells; in cancer tissues, cancer stem cells represent only a small subpopulation. This raises a question regarding the CSC-targeting therapeutic strategy: how can the elimination of a small fraction of cancer cells cure a cancer?

To understand this intriguing therapeutic strategy, one must consider the theory that accompanies it. I will refer to it as the “cancer stem cells theory”. According to this theory, formulated in the years 1990-2000, only CSCs are tumorigenic, other cancer cells are unable to develop cancer. This functional disparity is due to stemness: only cells capable of self-renewal and differentiation can initiate, develop and spread cancers. To continue the metaphor of “superhero” framed by Lawrence Burns about stem cells, stemness would make the CSC the enemy to kill (see Figure 1, ref in note 9). However,

conventional therapies (chemotherapy and radiotherapy), whose goal is to eliminate as many cancer cells as possible, fail to effectively kill these very specific cells. Therefore, therapeutic strategies against cancers should be reassess, and the CSC theory suggests targeting CSCs.

More precisely, the CSC theory convey the idea that the elimination of all CSCs of a given cancer would be “necessary and sufficient” to cure the patient. This study aims to examine the CSC-targeting strategy and the idea that such targeting is necessary and sufficient to cure cancers. More specifically, the objective is to elucidate how targeting CSCs may or may not be “enough”. The issue of “necessity”, meanwhile, is beyond the scope of this research. Indeed, if it is true that cancers are initiated, developed and maintained by CSCs only, then the elimination of CSCs is needed to guarantee the definitive recovery of patients. Thus, asking whether the elimination of CSC is “necessary” is asking whether the CSC theory is true. Only experiments currently being conducted by biologists will allow, in the future, to know whether it applies to cancers and (if applicable) to which cancers. Thus, the question that this work tries to answer is precisely this one: if the CSC theory is true, then is it sufficient to target the CSCs in order to cure cancers? I will support the thesis that it depends on the ontological status of stemness.

What is at stake in this question? First, as it is concerned with one theory among others, it would lose all interest if the CSC theory turned out to be proved false. In addition, at first glance the medical aspects seem to be more important than philosophical considerations about the ontological status of stemness. Chapter 1 describes the current prominence of the CSC theory in the cancer field. According to Sophie Häfner and Laure Coulombel the CSC concept have even “almost been raised to the rank of dogma” (ref in note 13). Question discussed in this work concerns at least all those who spend time, money or resources to the CSC-targeting strategy. It also involves reflexions on stem cells, which greatly expands its scope. I will argue that the biological and medical issues can and should be addressed in philosophical terms. More precisely, I would argue that the CSC theory raises the metaphysical question of the ontology of stem cells, whence the association, perhaps surprising, between “ontology and therapy” in the title of this work.

What is the relationship between the ontology of stem cells and cancer treatment? The relations between stemness and cancer stem cells seems obvious, but how is it linked to metaphysics? How does the CSC-targeting strategy engage metaphysical considerations?

The reason is that we do not know exactly what is the nature of a stem cell, despite all the buzz around this fashionable notion. It is all the more surprising since stem cells are among the most promising therapeutic tools. They are often presented as the “super heroes” of the medicine of tomorrow (see note 9), and they are already part of the current therapeutic arsenal. Patients with certain blood cancers are routinely subject to hematopoietic stem cells (blood stem cells) transplantations. In addition, the concept of stem cell has more than a century. It is as old as cell biology and it has been the subject of intensive research since the second half of the twentieth century. To understand why the identity of stem cells matters, it is first important to stress the heterogeneity of stem cells. The concept of stem cell includes a wide spectrum of cells, normal or pathological (cancer stem cells), natural or artificial. Stem cell types contained in an organism may vary depending on the developmental period and on tissues. In addition, all species do not have the same types of stem cells at the same developmental period. The taxon of interest for the issue of the treatment of cancer, is the mammals, that include humans and mice (the mouse is the main model organism for the study of cancer stem cells). In mammals, three periods of development are usually distinguished, during which the body contains three different types of stem cells: totipotent, pluripotent and multipotent (see Figure 2).

During the first cell divisions that follow fertilization (until the eight-cell stage), the cells of the embryo, called “blastomeres”, are considered as “pluripotent stem cells” (Figure 2 A). Each is capable to give rise to a complete organism.

From the sixteen-cell stage, two cell populations start to differentiate: the inner cells and outer cells. At the stage of thirty-two cells, a cavity appears within the embryo. At the blastocyst stage (Figure 2 and Figure 3, blue box), trophoblast cells that form the outer wall (brown cells) are distinguished from the “inner cell mass” (population of blue cells). Cells of the inner cell mass can be extracted and cultured, they then give rise to what are called “embryonic stem cells” or “ES cells”. These are “pluripotent stem cells”. They can give rise to all cell types of the adult organism. However, unlike totipotent stem cells, they do not allow an entire organism to develop because they are unable to develop the extraembryonic appendices, such as the placenta, which are necessary for the development of the embryo. These extraembryonic annexes develop from trophoblast cells. *In vivo*, the pluripotency of embryonic stem cells is extremely ephemeral. The cells of the inner cell mass differentiate early into two populations (the epiblast precursors and endoderm precursors) and then give birth to the three germ layers (ectoderm, mesoderm and endoderm) from which develop all the tissues of organisms (Figure 3, red box). *In vivo*, more stable pluripotent stem cells exist,

in pathological contexts. Those are the cancer stem cells of teratocarcinomas, from which it is possible to cultivate “embryonic carcinoma cells” lines, also referred to as pluripotent stem cells. More recently, pluripotent stem cell lines were obtained from differentiated cells. These are “induced pluripotent stem cells” or iPS (Figure 2 E).

Finally, following the formation of the three germ layers, the differentiation potential of stem cells is restricted to only certain tissues. Thus, stem cells of the adult organism are commonly called “multipotent stem cells” or “tissue-specific stem cells” (Figure 2 C). Hematopoietic stem cells, for example, can give all the blood cells. These adult stem cells have their cancerous counterparts. Thus, there are different cancer stem cells for different kind of cancers, as there are different stem cells for different tissues.

Given the heterogeneity of cells, several questions arise. First, what do these cells have in common? In the first instance, this question refers to the definition of stem cells. What stem cells have in common is stemness. Stemness refers to two properties: the ability to self-renew, that is to say, to produce at least one new stem cell during cell division, and the ability to differentiate, that is to produce more specialized cells. The question whether stemness distinguish stem cells from non-stem cells is an issue that must be clarified. Indeed, stem cells are not the only cells to be able to self-renew and/or differentiate. If the difference between stem cells and non-stem cells is quantitative, can we really draw a clear boundary between the stem cells and other cells? Do stem cells belong to a distinct natural kind or are they a conventional category? This leads to the question of the ontology of stem cells, that is, to the question of the nature or mode of existence of these cells.

The problem of the natural or artificial boundaries of stem cell meets another problem, related to the issue of the existence of a “stem cell” natural kind: what kind of property is stemness? Indeed, even if the definition of stem cells would distinguish stem cells from non-stem cells, it would not solve the issue of natural kind so far. A definition enunciates the properties shared by all the objects included in the definition, here it is stemness. But the possession of common properties does not ensure membership to a natural kind. Thus, the “fusiform” shape is a common feature of dolphins, which are mammals, sharks, which are fish, and ichthyosaurs, which are reptiles. Let’s take the example of the property of “being older than 60”. This property, which produces an artificial distinction between humans, is of a different nature than the property to be “fusiform”. In particular, all humans are susceptible to enter, someday, in the group defined by the property “being older than 60”. Thus, some properties, such as “age 60” can

be won or lost. Others, like "being fusiform" are more stable. What about stemness? Can a non-stem cell acquire stemness? Is stemness only dependent on stem cells or does it involves relationships with other objects in the world?

Four (groups of) philosophers have discussed this issue. Only the group of Robert Wilson, Matthew Barker and Ingo Brigandt really advocates the existence of a 'stem cell' natural kind. On the occasion of an article in which they defend a renewed commitment on natural kind essentialism, they took stem cells as an example of natural kind, as well as genes and species (ref in note 20). However, the definition they provide does not distinguish stem cells from all non-stem cells, which makes the proposal unconvincing. It will be discussed in detail in Chapter 6.

Jason Robert, on the one hand, Yan Leychkis, Stephen Munzer, and Jessica Richardson, on the other hand, and Melinda Fagan, all state that the question cannot be empirically settled (data available do not allow to decide). Jason Robert argues that inferences regarding the heterogeneity of stem cells require the study of all parameters. "No stem cells, he said, is a model for stem cells as such" (ref in note 21). This makes the question of the existence of one (or more) 'stem cell' natural kind(s) irrelevant.

Yan Leychkis *et al* and Melinda Fagan have focused on the issue through a reformulation borrowed from the stem cell biologist Dov Zipori. Dov Zipori distinguishes two alternatives: according to the traditional view, the stem cells would refer to determined *entities* (which corresponds to the members of the 'stem cell' natural kind); according to his own vision, they would refer to a cell *state* (non-stem cells could acquire stemness). Yan Leychkis, Stephen Munzer, and Jessica Richardson argue that while the issue cannot be resolved empirically, it may be adressed at the theoretical level, and Melinda Fagan argues that it can be conceptually soleved (ref in note 22).

The consideration of cancer stem cell medical object brings out a different reading of the debate. Indeed, the question here adressed (can the CSC-targeting strategy guarantee the recovery of patients?) leads me to make two original points:

- 1) The debate on the nature of stem cells *should be empirically resolved*. If the CSC theory is correct, then only an empirical resolution of the debate will allow to evaluate the effectiveness of CSC-targeting strategies. I argue that targeting CSCs is sufficient to cure cancers only if CSCs are stable entities, that is to say, if they belong to a natural kind.
- 2) Solving the binary alternative between "natural kind" and "artificial group" or between "*entity*" and "*state*" is not sufficient to evaluate the

CSC-targeting strategies. The question of the ontology of stem cells requires more fine-grained distinctions. I will argue that each of the alternative contains a dichotomy that must be empirically studied. Indeed, an examination of the debates on stem cells in the scientific community suggests that two major issues intersect: the issue of dedifferentiation, which led Dov Zipori to develop his theory of the *state*, and the issue of the existence and role of a cell niche in the control of stemness. Combined, these two questions lead to distinguish not two but four possible ontologies of stemness, with their respective impacts on therapeutic strategies.

Accordingly, I argue that the metaphysical question of the nature of the stemness is crucial for the evaluation of therapeutic strategies suggested by the CSC theory.

The question I want to answer is the following: if the cancer stem cell theory is true, then is it sufficient to target CSC in order to cure cancers? The aim of this dissertation is to show that the answer depends on the ontology of stem cells, or more specifically, on the type of property stemness is. I will proceed in four steps.

In a first part, I will provide a sociological (Chapter 1) and a conceptual (Chapter 2) presentation of the cancer stem cells. Chapter 1 emphasizes the success of the CSCs and of the anti-CSC therapeutic strategy, thus justifying the general problem of the thesis. Chapter 2 will allow me to expose the structure of the CSC theory.

The following section will provide a historical exploration of the CSC theory and, more specifically, of the general hypothesis of the origin of cancer in stem cells, for leukemias (Chapter 3) and teratocarcinomas (Chapter 4). This will provide the opportunity to present biological data from which was developed the CSC theory. I will show that the concepts of stem cell and cancer stem cell are historically ambiguous as to their meaning and their references.

The third part will pursue this question and show that the current concept of CSC still retains ambiguities about which cells it refers to (chapter 5). The review of the debates around the reference of CSC leads to raise the broader question: “What is a stem cell?” This issue will be discussed in Chapter 6, which will analyze the scientific debate about the nature of stem cells.

The fourth and final section will present four conceptions of stemness, based on biological data, and will assess their implications for therapeutic strategies. Chapter 7 show

that in the *entity* view, stemness can be either a ‘categorical property’ or a ‘dispositional property’. In both cases, the CSC targeting strategy can, in theory, cure cancers. But if stemness is a ‘disposition’, then an alternative strategy can guarantee the same result: targeting the niche of CSCs. Chapter 8 show that within the *state* view, stemness can be either a ‘relational-extrinsic’ or a ‘system property’. In both cases, targeting CSCs is not sufficient to guarantee the recovery of patients. However, if it is a ‘relational-extrinsic property’, then targeting the niche might suffice. If the CSC theory is correct, and if stemness is a ‘system property’, then, neither targeting CSCs, nor targeting the niche can guarantee a definitive cure.

PARTIE I

Cellules souches cancéreuses : une nouvelle théorie du cancer



L'objectif de cette première partie est d'offrir une présentation non-technique des cellules souches cancéreuses (CSC) en les situant dans le champ de la recherche en oncologie. Elle montrera que le concept de CSC s'y est très largement imposé. Il représente aujourd'hui un concept central pour la compréhension du développement des cancers. De plus, le domaine de recherche qui s'est constitué autour des CSC a (re)généralisé de grands espoirs thérapeutiques en proposant une nouvelle stratégie, consistant à éliminer spécifiquement les CSC, qui garantirait la guérison définitive des patients. Mettre en évidence la puissance théorique et le succès des cellules souches cancéreuses est particulièrement important pour cette thèse, dans la mesure où cela offre aussi un indicateur des retombées pratiques potentielles de la critique de la stratégie thérapeutique anti-CSC. Il est urgent de déterminer ce qu'est la propriété souche car le développement de thérapies efficaces contre les cancers en dépend.

The purpose of this first part is to give a non-technical presentation of cancer stem cells (CSCs) against the background of the research field of oncology. The CSC concept is nowadays central in the understanding of cancer development. Furthermore, the CSC field of research (re)generates great expectations for the development of new therapeutic strategies that could ensure the complete recovery of patients, by targeting the CSCs. Highlighting the theoretical power and success of the CSCs is particularly important for this thesis. It provides an indicator of the potential practical implications of the critique of anti-CSC therapeutic strategy. It is of major importance to determine what kind of property stemness is because development of effective therapies against cancers depends on it.

CHAPITRE 1. Le triomphe des cellules souches cancéreuses

Les cellules souches cancéreuses occupent une place importante en cancérologie aujourd'hui car elles sont porteuses d'espoirs thérapeutiques considérables. Aussi importe-t-il de préciser et discuter leur statut. Une stratégie thérapeutique basée sur l'élimination spécifique de ces cellules a été développée, au début des années 2000. Des centaines de chercheurs tentent aujourd'hui de la mettre en place, à grands frais (de temps et d'argent), dans l'idée qu'ils pourront, demain, guérir les cancers. L'enjeu est loin d'être marginal, aussi bien en termes d'investissements financiers, qu'en termes de projets de recherche, ou encore de mise en place d'essais cliniques (coûteux pour les développeurs et dangereux pour les receveurs), mais surtout de santé. En quelque sorte, ce chapitre justifie l'existence de tous les suivants, en montrant que ce travail conceptuel pourrait être utile en termes de pratique médicale²³.

1.1. Du scepticisme au succès ? Quelques indicateurs

Lors d'une interview réalisée en 2006, Peter Dirks, chirurgien spécialiste des tumeurs du cerveau (*Toronto's Hospital for Sick Children*), expliquait qu'il avait rencontré des difficultés, d'une part, pour financer ses recherches, lorsqu'il avait voulu, en 1998, se pencher sur la question de l'existence de CSC dans les cancers du cerveau²⁴ et, d'autre part, pour publier les résultats que ses recherches lui avaient permis d'obtenir²⁵. Partant de ce constat, se posait la question de la légitimité du concept de CSC dans la communauté

²³ J'accorde une grande importance à l'impact potentiel de mon travail dans la recherche en cancérologie. Ceci est dû, au moins en partie, au sujet (le cancer), à la nature de mes financements (Cancéropôle et ARC), à mon travail *in situ*, à l'Hôpital Gustave Roussy, au sein de l'équipe de sciences humaines et sociales et à ma formation à la « philosophie de terrain » sous la houlette de Bernadette Bensaude-Vincent. Il ne s'agit pas de mépriser les recherches qui n'ont pas de portée empirique immédiate mais simplement d'indiquer un objectif personnel, qui me tient à cœur.

²⁴ « He decided to hunt for the cancer stem cell behind brain tumours. But the first hurdle he faced had little to do with science. « I had no funding », he said. The granting agencies could not be swayed. « It was donations from the families of my patients that kept the research going ». » Interview réalisée par Carolyn Abraham et publiée le 25 novembre 2006 :

<http://www.theglobeandmail.com/news/technology/science/article857909.ece>

²⁵ « Dr. Dirks found that publishing what he'd found turned out to be nearly as tricky as discovering it. « I really had to shop it around, » he said. After taking six months to consider it, Cancer Research published the report in August 2003. » Interview réalisée par Carolyn Abraham et publié le 25 novembre 2006 :

<http://www.theglobeandmail.com/news/technology/science/article857909.ece>

scientifique. S'agit-il d'un concept exotique attirant quelques chercheurs isolés ? Le concept fait-il l'objet d'un scepticisme particulier de la part des financeurs et des revues scientifiques ? Le présent chapitre montrera qu'il n'en est rien. Bien au contraire, le concept de CSC connaît, aujourd'hui, un franc succès et s'est imposé comme une thématique de recherche importante, si ce n'est centrale, de la recherche en cancérologie. J'ai mené trois enquêtes qui permettent d'arriver à ce constat :

- Une enquête bibliométrique illustre la croissance annuelle de la quantité de publications portant sur les CSC, indiquant, d'une part, que de plus en plus d'équipes investissent le domaine et, d'autre part, que les résistances des revues à publier sur le sujet se sont évaporées (section 1.1.1).
- Une enquête sur les congrès annuels de l'AACR²⁶ indique un changement de statut, aux alentours de 2006, où semble se stabiliser un champ de recherche autour des CSC. Cette stabilisation s'accompagne de la mise en place d'enseignements et de ressources éducatives (section 1.1.2).
- Des entretiens semi-directifs menés auprès de spécialistes des CSC montrent une augmentation des financements à partir de 2006, aboutissant aujourd'hui à un domaine compétitif et financé (section 1.1.3).

1.1.1. Bibliométrie

Il est difficile d'établir une date de naissance de l'hypothèse des CSC. Tout dépend, en effet, de ce que l'on cherche à dater : le contenu théorique ou empirique de l'hypothèse ? L'apparition du concept ou sa formalisation ? Un livre entier d'histoire des sciences mériterait d'être rédigé et la partie II montrera que cette histoire est loin d'être linéaire. En dépit de ces difficultés, il est très clair que cette hypothèse a pris une importance grandissante au XXI^e siècle. La Figure 4 et la Figure 5 illustrent la montée progressive de l'intérêt de la communauté scientifique pour ce nouveau concept. Le nombre de publications traitant des CSC, référencées dans les bases de données *Web of Science* et *PubMed*, passe de quelques-unes par an au début des années 2000 à plus de 1000 publications après 2011²⁷ (Figure 4). Cette croissance n'est pas simplement représentative

²⁶ American Association for Cancer Research. Les congrès annuels de l'AACR sont les plus importants congrès mondiaux en cancérologie.

²⁷ Les données bibliométriques sont délicates à utiliser, on peut toujours leur reprocher d'être biaisées. Pour augmenter la fiabilité des résultats, j'ai effectué mes recherches dans les deux grandes bases de données *Web of Science* et *PubMed*. Comme les options de recherches diffèrent entre les deux, j'ai procédé à trois recherches : une recherche par « *topic* » dans *Web*

d'une croissance globale de la quantité de publications. En effet, parmi les publications portant sur le cancer, la proportion portant sur les CSC augmente considérablement sur la même période (Figure 5).

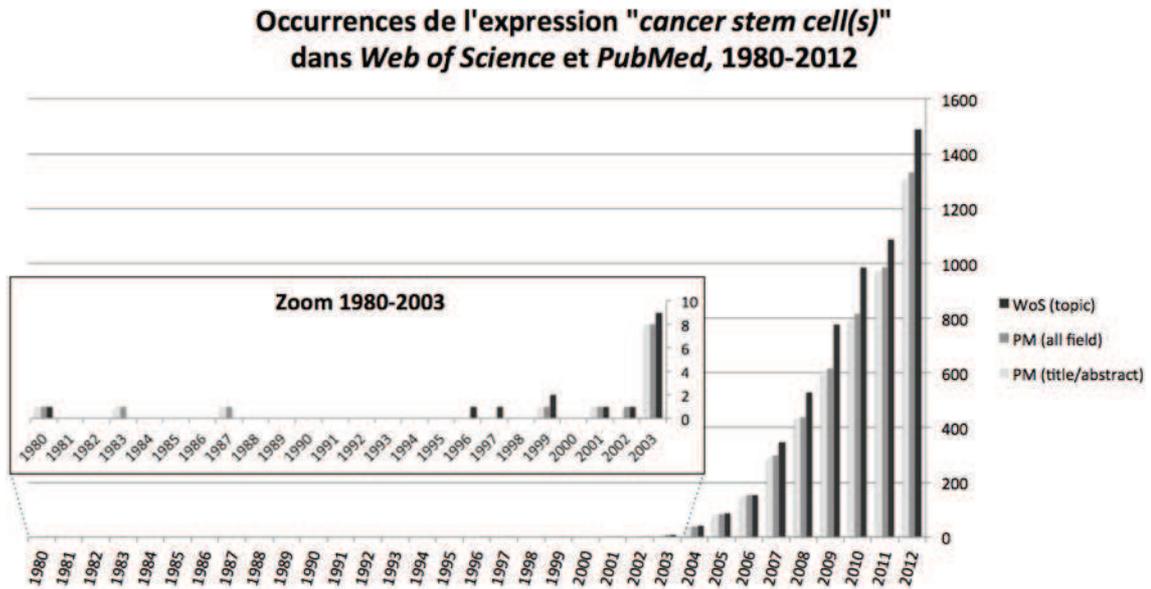


Figure 4. Croissance de l'intérêt pour les CSC : occurrences de l'expression « cancer stem cell(s) » dans les bases de données *Web of Science* (notée WoS) et *PubMed* (notée PM), entre 1980 et 2003. Les options de recherches diffèrent dans ces deux bases de données. Pour cette raison, trois recherches bibliométriques sont présentées : une recherche dans la catégorie « topic » dans *Web of Science* (noir) ; une recherche dans la catégorie « all fields » dans *PubMed* (gris) et une recherche dans la catégorie « title/abstract », également dans *PubMed* (gris clair).

Si la quantité d'articles atteste que les résistances des revues à publier sur les CSC, dont témoignait Peter Dirks, se sont rapidement dissipées, il reste à préciser la qualité ou le prestige de ces publications. On trouve des publications sur les CSC dans toutes les revues majeures telles que *Nature*, *Science*, *Cell*, *Cancer Research*, *Blood*, *PNAS*, *Leukemia* comme dans les revues plus spécialisées²⁸. Ajoutons que certaines maisons d'édition n'ont pas hésité et de nombreux manuels ont été publiés depuis 2007²⁹.

of Science, équivalente à une recherche dans les titres, les résumés et les mots clés des articles ; une recherche dans les titres et résumés dans *PubMed* et une recherche « all field » dans *PubMed* qui a l'avantage d'avoir accès au contenu des articles. Les résultats de ces trois recherches concordent et montrent toutes une croissance spectaculaire.

²⁸ Oncogenesis, Tumor Biology, Cancer Cell, Carcinogenesis, Current Opinion in Biotechnology, Laboratory investigation, Médecine/Science, The Journal of Clinical Investigation, Neurobiology of Disease, Cell Cycle, Cancer Cell, pour ne donner que quelques exemples.

²⁹ Wiestler OD, Haendler B, Mumberg D (Eds) (2007) *Cancer Stem Cells. Novel Concepts and Prospects for Tumor Therapy*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg. (Actes du colloque « Cancer Stem Cells Open New Possibilities in Tumor Therapies » qui s'est tenu à Berlin du 15 au 17 novembre 2006); Dittmar T and Zänker KS (eds) (2008) *Cancer and Stem Cells*. Nova, New York; Bagley RG and Teicher BA (Eds) (2009) *Stem Cells and Cancer*. Springer, Dordrecht,

Occurrences de l'expression "cancer stem cell(s)" par rapport au mot "cancer(s)", 2001-2012

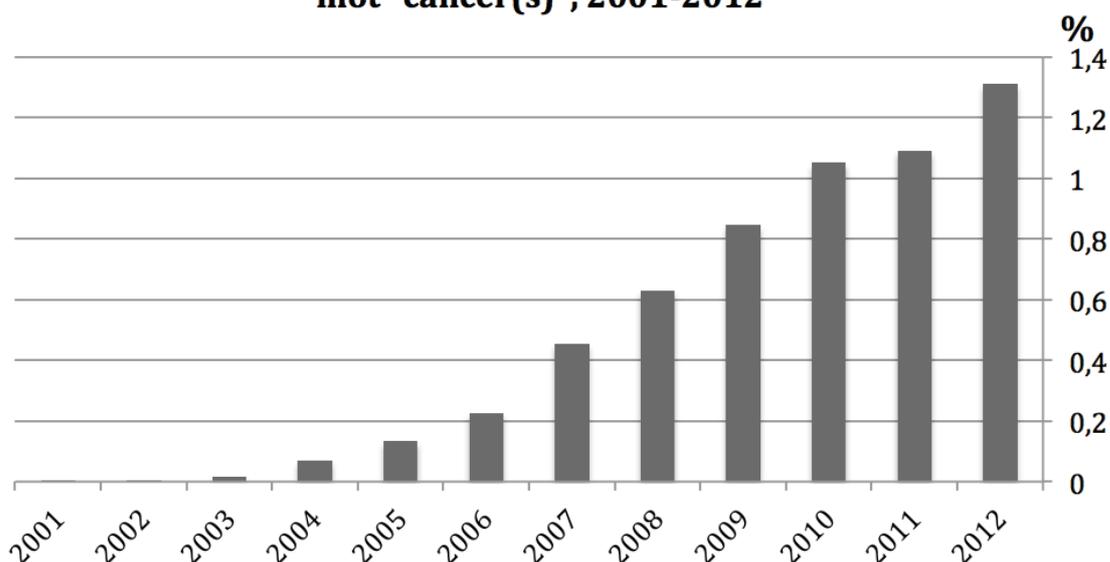


Figure 5. Augmentation de l'importance des CSC en cancérologie. Pourcentage du nombre d'occurrences de l'expression « cancer stem cell(s) » par rapport au mot « cancer(s) », entre 2001 et 2012, dans la base de donnée *Web of Science* (catégorie « topic »).

Ces résultats montrent, d'une part, que de plus en plus d'équipes investissent le domaine et, d'autre part, que les résistances des éditeurs, s'il y en a toujours, ne proviennent pas d'une méfiance à l'égard des CSC. Le domaine a fait l'objet d'une expansion rapide depuis le début du XXI^e siècle et de nombreuses équipes travaillent aujourd'hui sur le sujet. En France, le réseau appelé « *Cancer Stem Cell network* » a été mis en place en 2006 et regroupait originellement une trentaine d'équipes en Île-de-France³⁰. Cela donne un indice de l'émergence d'une véritable communauté de recherche sur les CSC. On pourrait également citer le « *Cancer Stem Cell consortium* » réunissant des équipes canadiennes et

Heidelberg, London, New York; Bapat S (ed) (2008). *Cancer Stem Cells. Identification and Targets*. Wiley, Hoboken, New Jersey; Farrar WL (ed) (2009) *Cancer Stem Cells*. Cambridge University Press, New York; Majumder S (ed) (2009) *Stem Cells and Cancer*. Springer, Dordrecht, Heidelberg, London, New York; Yu JS (ed) (2009) *Cancer Stem Cells: methods and protocols*. Humana Press, Dordrecht; London; Jordan ME (ed) (2010) *Cancer Stem Cells. Cancer Etiology, Diagnosis and Treatments*. Nova Science; Allan AL (ed) (2011) *Cancer Stem Cells in Solid Tumors*. Springer, Dordrecht, Heidelberg, London, New York; Hayat MA (ed) *Stem Cells and Cancer Stem Cells. Therapeutic Applications in Disease and Injury*. 7 volumes. Springer, Dordrecht, Heidelberg, London, New York; Scatena R, Mordente A and Giardina B (ed) (2011). *Advances in Cancer Stem Cell Biology*. Springer, Dordrecht, Heidelberg, London, New York; Shostak S (2011) *Cancer Stem Cells: The Cutting Edge*. InTech, Rijeka.

³⁰ Ce réseau sera présenté plus en détail au cours de ce chapitre. Voir section 1.1.3.

californiennes³¹, ou encore le « *Migrating Cancer Stem Cell consortium* » regroupant des équipes européennes des Pays-Bas, d'Italie, d'Allemagne et d'Espagne³².

1.1.2. Des congrès aux manuels : l'émergence d'un domaine de recherche et d'enseignement

L'*American Association for Cancer Research* (AACR) organise des congrès annuels sur les cancers qui réunissent chaque année plus de 16000 chercheurs. Ce sont les plus gros congrès en cancérologie. Il est donc intéressant d'examiner la place qu'y occupent les CSC.

Une analyse exhaustive des programmes des congrès qui se sont déroulés de 2005 à 2011 montre l'émergence d'un véritable domaine de recherche à partir de 2006 (Tableau 1). En effet, en 2005 le concept de CSC est présent mais de manière isolée, dans des présentations individuelles réparties dans divers sessions³³. À partir de 2006, par contre, il apparaît sous une forme plus institutionnalisée, comme un domaine de recherche. Un symposium (intitulé « *Cancer Stem Cells* ») et un forum (intitulé « *Identifying and Targeting Cancer Stem Cells* ») lui sont consacrés. En 2007, trois sessions de posters, un forum et une session « *meet-the-expert* » lui sont dédiés. En 2008, le concept fait son apparition à la session « éducationnelle ». Par ailleurs, depuis 2008, un symposium sur les cellules souches et le cancer a été créé en hommage à Bayard Clarkson³⁴ : « *The Bayard D. Clarkson Symposium on Stem Cells and Cancer* » (BDC symposium, dans le Tableau 1). Les sessions portant sur les CSC (indiquées en rouge) n'ont, par la suite, pas cessé d'augmenter.

³¹ <http://www.cancerstemcellconsortium.com/index.php>

On peut également citer la création, du « *Stem Cell and Cancer Research Institute* » hébergé par l'Université *McMaster*, à Hamilton au Canada, dont l'objectif est le partage des outils nécessaires à la recherche sur les CSC, de manière à diminuer le coût d'entrer dans cette recherche. Voir : <http://sccri.mcmaster.ca/index.html>

Le partage des ressources est également un moteur important dans la création du réseau CSC français.

³² http://www.mcscs.eu/component/option,com_frontpage/Itemid,77/

³³ Harley Kornblum « Neural stem cells, brain tumors, and brain tumor stem cells », dans le symposium « Stem Cells and Cancer » ; Max S. Wicha « Breast cancer stem cells : implications for prevention and treatment », dans la session « New concepts in organ site research » ; ainsi que plusieurs posters font mention de « cancer stem cells ».

³⁴ Bayard Clarkson est un oncologue spécialiste des leucémies. Il a été très impliqué dans l'AACR qu'il a présidé en 1980 et dont il a été trésorier durant 15 ans. Son équipe travaille sur les différences entre les cellules souches normales et cancéreuses (en particulier dans les leucémies myéloïdes chroniques).

<http://www.mskcc.org/research/lab/bayard-clarkson>

Il est intéressant de noter que Bayard Clarkson a d'abord fait partie des opposants à l'idée d'un maintien des cancers par une sous-population des cellules souches. Voir Partie II Section 3.2.

	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011
Symposium	SCs and cancer	CSC	SCs and cancer	CSC: the BDC symposium	Advances in CSC: the BDC symposium	BDC symposium: the role of tissue SCs in cancer initiation	The BDC symposium: SCs and tumor plasticity
Mini symposium		SCs in cancer		Generation and maintenance of CSC	- SC biology, therapies and tumorigenesis - CSC approaches for identification and targeting	Identification and targeting of CSC	SCs in cancer biology and therapy
Posters	SC biology	SCs in cancer	CSC identification - CIC characterization - CIC therapeutic potential	SCs	- CSC isolation and characterization - CSC therapies and chemoresistance - SCs and tumorigenesis - Breast CSC	- CSC biology - CSC models and markers - CSC therapeutics	- Solid tumor stem cell - Pancreatic and liver CSC - Brain CSC - Breast CSC - Hematopoietic, ovarian and brain CSC - Colorectal and gastrointestinal CIC
Meeting-the-expert	SCs and melanoma		CSC in evolutionary concept	Biological properties of CSC			- Roles of TGF- β signaling in CIC and tumor microenvironment - the p53 pathway, stem cell and cancer
New concepts in organ site research	SCs, metastasis and residual disease (breast cancer)					Regulation of Normal and Transformed Breast CSC behavior	- SC in the brain: at crossroad of development and disease - SC in development and tumorigenesis of the breast
Forum		Identifying and targeting CSC	Translating the CSC hypothesis to cancer patient care	CSC	- Therapeutic targets and breast CSC challenges - CSC advances and challenges	CSC: somewhere, or 'nowhere'?	CSC: facts, fiction, and therapeutic implications
Educational session				The CSC hypothesis: biological and clinical implications		Niches for metastatic cells and SCs	- Dormancy of disseminated tumor cells and metastatic growth: are CSC the culprit? - EMT/MET in CSC and tumor progression - the molecular evolution of CSC - The CSC niche

Tableau 1. Les CSC aux congrès annuels de l'AACR. CSC: Cancer Stem Cell; CIC: Cancer Initiating Cell; SC: Stem Cell; BDC symposium: Bayard D. Clarkson symposium on stem cells and cancer.

Cette analyse indique deux choses. Premièrement, on voit se constituer, aux alentours de l'année 2006, un domaine de recherche portant sur les CSC. Deuxièmement, ce domaine de recherche s'est peu à peu imposé au cœur de la cancérologie. Par ailleurs, ce nouveau champ de recherche s'institutionnalise dans la formation des médecins et biologistes. Outre la pléthore de manuels disponibles³⁵, les CSC font l'objet de nombreux enseignements. A titre d'exemple, au cours de mon parcours en biologie à l'UPMC, la notion m'a été enseignée trois fois : dans l'UE sur les cellules souches du master 1 de biologie cellulaire et moléculaire (2009-2010), dans le master 2 international parcours cellules souches et développement et dans l'UE complémentaire de cancérologie ouverte aux étudiants de ce master (2010-2011). Le Centre de Formation en Science de la Vie de l'Université de Rochester propose un enseignement « cellules souches et cancer » au sein de son Projet d'Education sur le Cancer³⁶. Il met à disposition, en ligne, un document présentant des instructions et présentations PowerPoint à destination des enseignants, ainsi que des feuilles de questions que les étudiants doivent pouvoir remplir pour évaluer leurs connaissances et des exercices à faire, en travaux dirigés ou bien à la maison³⁷. La fondation argentine Crimson (Buenos Aires) et le laboratoire du Cold Spring Harbor proposent également des cours et universités d'été sur les CSC³⁸. Les ressources à but éducatif sur les CSC sont nombreuses sur la toile. Le partenariat EuroStemCell³⁹, l'institut de Recherche Européen sur les Cellules Souches Cancéreuses⁴⁰, à l'Université de Cardiff ou encore la revue *Nature*⁴¹ offrent autant d'exemples ressources à ce sujet⁴².

³⁵ Voir note 29.

³⁶ <http://lifesciences.envmed.rochester.edu/index.html>

³⁷ « Overview: This series of activities is designed to introduce students to the theory that some cancers arise from cancer stem cells. This theory provides a possible explanation for why cancers reoccur after cancer treatment. It also provides insights that may lead to new types of chemotherapy drugs. »

http://lifesciences.envmed.rochester.edu/curriculum/cancer/Stem_Cells_and_Cancer.pdf

³⁸ Fondation Crimson, cours PABSELA-SCRT08 :

<http://www.fundacioncrimson.org/program.php?p=16>

Cold Spring Harbor Laboratory Courses, « Mouse Development, Stem Cells & Cancer », June 5 - 25, 2013. <http://meetings.cshl.edu/courses/2013/c-mous13.shtml>

³⁹ voir :

<http://www.cardiff.ac.uk/research/cancerstemcell/aboutcancerstemcells/index.html>

⁴⁰ voir : <http://www.eurostemcell.org/fr/about>

⁴¹ *Nature* a compilé une section de ressources sur les CSC, comprenant podcasts, liens et articles de recherche publiés. Voir : www.nature.com/nature/focus/cancerstemcells

⁴² On trouve également des posters, réalisés par les spécialistes, proposant un état des lieux et des connaissances fondamentales sur les CSC, comme celui mis à disposition par Abcam, réalisé sous la direction de Hans Clevers, Richard Gilbertson, Gail Risbridger et Jane Visvader, qu'il est possible de télécharger ou de commander gratuitement par internet.

<http://www.abcam.com/index.html?pageconfig=resource&rid=13501&source=pagetrapped&viapagetrapped=cancerstemposter>

1.1.3. Un domaine compétitif et financé

L'interview de Peter Dirks, mentionnée en début de chapitre, faisait état de difficultés à publier et à se financer. La section 1.1.1 a montré que le nombre de publications sur les CSC est croissant et que les réticences des éditeurs se sont rapidement dissipées. La présente section établira que la recherche sur les CSC dispose de financements conséquents, si ce n'est abondants. Les financeurs investissent régulièrement, et parfois massivement, dans les recherches en cancérologie qui portent sur les CSC. A titre d'exemple, on peut mentionner le consortium « *cancer stem cell* » (CSCC) Canada-Californie mis en place en 2007. Le « plan stratégique scientifique », accessible sur le site web du consortium, fait mention d'un budget de 500 millions de dollars canadiens (soit environ 380 millions d'euros) pour la période 2009-2014⁴³. En France, toutes les institutions et associations principales⁴⁴, finançant la recherche sur le cancer, financent des projets portant sur les CSC⁴⁵. Il faut, à ce sujet, mentionner à nouveau la création du réseau Cellules Souches Cancéreuses IdF⁴⁶, réunissant 30 équipes (dont une de sciences humaines et sociales). Ce réseau a d'abord été financé par l'INCa en 2007, puis par le Cancéropôle Île-de-France depuis 2008⁴⁷. Il représente le financement le plus élevé, après celui du cyclotron, jamais accordé par le Cancéropôle.

Par ailleurs, les entretiens avec les chercheurs travaillant sur les CSC effectués entre 2009 et 2011 confortent l'impression d'aisance financière. Sur 12 chercheurs interviewés, un seul fait part de difficultés liées à une demande de financement d'une recherche portant sur les CSC. Nicole Gross, qui dirige une petite unité du département médico-chirurgical de pédiatrie du Centre Hospitalier Universitaire Vaudois, explique que sa première demande

⁴³ <http://www.cancerstemcellconsortium.ca/> Pour le plan stratégique : <http://www.cancerstemcellconsortium.com/index.php?page=strategic-plan>

⁴⁴ ARC (association pour la recherche sur le cancer), Cancéropôle, l'INCa (Institut National du Cancer), Ligue Nationale contre le cancer.

⁴⁵ Lors d'un entretien avec Emmanuelle Passegué, qui dirige un laboratoire de recherche sur les CSC à San Francisco (Californie), celle-ci m'indiquait qu'à coté d'une importante bourse de financement du NIH, elle recevait régulièrement des financements de la part « de petites fondations de recherche sur le cancer ». Cette situation n'est donc pas spécifique à la France. Entretien Emmanuelle Passegué 05/04/2009.

⁴⁶ <http://www.csc-network.org/>

⁴⁷ « Le réseau a obtenu en octobre 2007, 405 k€ de l'Inca pour le soutien aux plateformes dédiées à la recherches sur les CSC », Appel à projets Cancéropôle Île-de-France, « identification et validation des critères de caractérisation des cellules souches cancéreuses » p. 34. La demande de financement auprès du Cancéropôle en 2008 s'élève à 1 180 000, soit environ un quart du budget annuel du Cancéropôle IdF. Je remercie Christine Chomienne de m'avoir donné accès aux deux appels à projet de 2007 (Inca) et 2008 (Cancéropôle).

de financement, lorsqu'elle a voulu investir la question des CSC pour les neuroblastomes, avait été rejetée :

Ils ont pensé que c'était simplement une stratégie, en fait. Que je n'allais pas tellement m'intéresser à ce problème, mais que j'en parlais pour rendre la demande de fonds plus actuelle⁴⁸.

Les chercheurs indiquent que le domaine est « compétitif » et « qu'il y a des appels d'offre qui permettent, en tout cas, de postuler »⁴⁹. Dominique Bonnet, qui fait partie des pionniers dans la recherche des CSC indiquait en 2009 :

Depuis cinq ans à peu près, il y a quand même beaucoup plus d'argent pour faire de la recherche sur des cellules souches cancéreuses, c'est évident. [...] Quand j'ai démarré mon propre labo [en Angleterre], l'idée de cellule souche cancéreuse n'était pas encore très développée et donc il y avait plus de difficultés pour trouver des agences qui étaient intéressées par ces recherches⁵⁰.

Globalement, les chercheurs s'accordent pour dire qu'il est plus difficile de trouver des échantillons de cancers humains, que de trouver des financements. « Il y a plus de chercheurs que de malades », indique Nicole Gross. « J'ai plus d'idées qu'il n'y a d'échantillons », explique Dominique Bonnet.

Cependant, on peut également noter que les entretiens concordent pour dire que le financement des recherches sur les CSC est un phénomène relativement récent. En effet, j'ai déjà indiqué le cas des difficultés rencontrées par Peter Dirks et les premières difficultés rencontrées par Nicole Gross. Dominique Bonnet témoigne également que les financements disponibles pour les recherches sur les CSC se sont largement accrus « depuis 2006 », ce qui coïncide également avec la constitution du domaine de recherche décrit à la section 1.1.2.

La France ne fait pas exception. Avant que le Cancéropôle/INCa ne finance le « réseau cellules souches cancéreuses » en 2008, Daniel Louvard, qui était membre du conseil scientifique de l'INCa, avait déjà fait une présentation devant un conseil scientifique pour montrer l'importance des CSC, leurs retombées potentielles sur l'approche thérapeutique du cancer et l'importance donc, pour l'INCa, d'apporter son soutien. La réaction réticente du président de l'INCa de l'époque fut, raconte Daniel Louvard, de considérer qu'il ne faisait « que porter un point de vue » qui, par ailleurs, avait « l'inconvénient d'être favorable aux recherches [que Daniel Louvard lui-même menait] dans son propre laboratoire ». Mais, indique Daniel Louvard, « le sujet des cellules

⁴⁸ Entretien Nicole Gross, Lausanne, 29/07/2009.

⁴⁹ Sylvie Robin, Mandelieu, 03/04/2009.

⁵⁰ Entretien Dominique Bonnet, 04/04/2009.

souches, au fil du temps, a été montré pertinent...Un appel d'offre, d'ailleurs, a été lancé sans que j'ai besoin de réactiver »⁵¹.

La section 1.1 permet une première conclusion: loin d'être un concept exotique, la cellule souche cancéreuse a fait émerger un véritable domaine de recherche. Il est financé, publié, enseigné, fait l'objet de workshops et de collaborations divers (*Networks, Consortium, etc*).

1.2. Les espoirs thérapeutiques

La section 1.1 a montré que les CSC ont rencontré un certain succès au cours du XXI^e siècle, qu'un domaine de recherche intense et compétitif s'était constitué autour de cet objet. Je voudrais maintenant montrer que ce succès n'est pas indépendant des espoirs thérapeutiques associés à la découverte de ces cellules. Ceci peut s'observer à travers plusieurs phénomènes. Je m'appuierai sur trois d'entre eux, qui ne nécessitent pas d'entrer dans les détails techniques :

- 1) Le schéma le plus connu représentant les CSC est une figure suggérant une nouvelle stratégie thérapeutique qui pourrait permettre de guérir les cancers (section 1.2.1).
- 2) De nombreuses sociétés de biotechnologies (publiques et privées) développant des médicaments ciblant les CSC ont émergé (section 1.2.2).
- 3) Toutes les grandes industries pharmaceutiques ont investi le domaine (section 1.2.3).

1.2.1. Une nouvelle stratégie thérapeutique

Le schéma représentant les CSC le plus connu à ce jour est représenté dans la Figure 6. Ce schéma, publié pour la première fois dans une revue intitulée « Stem cells, cancer, and cancer stem cells » parue dans *Nature* en 2001, indique que les CSC pourraient être la clé d'une thérapie efficace⁵². Les CSC (représentées en orange) seraient susceptibles de résister aux thérapies classiques et pourraient, par la suite, initier une nouvelle croissance

⁵¹ Interview Daniel Louvard, 2009. Réalisé par Nicolas Guirimand, sociologue des sciences dont le post-doc était précisément financé par l'appel d'offre évoqué par Daniel Louvard. Collègues dans l'unité de recherche en sciences humaines et sociales de l'hôpital Gustave Roussy, nous avons collaboré dans nos recherches sur les CSC, lui s'occupant de questions sociopolitiques et moi de questions conceptuelles et ontologiques.

⁵² Cette revue est analysée en détail au chapitre 2.

et provoquer une rechute. Pour éviter ces rechutes, il faudrait changer de stratégie et cibler spécifiquement les CSC. Leur élimination efficace devrait assurer une guérison à long terme puisque les autres cellules cancéreuses seraient destinées à mourir.

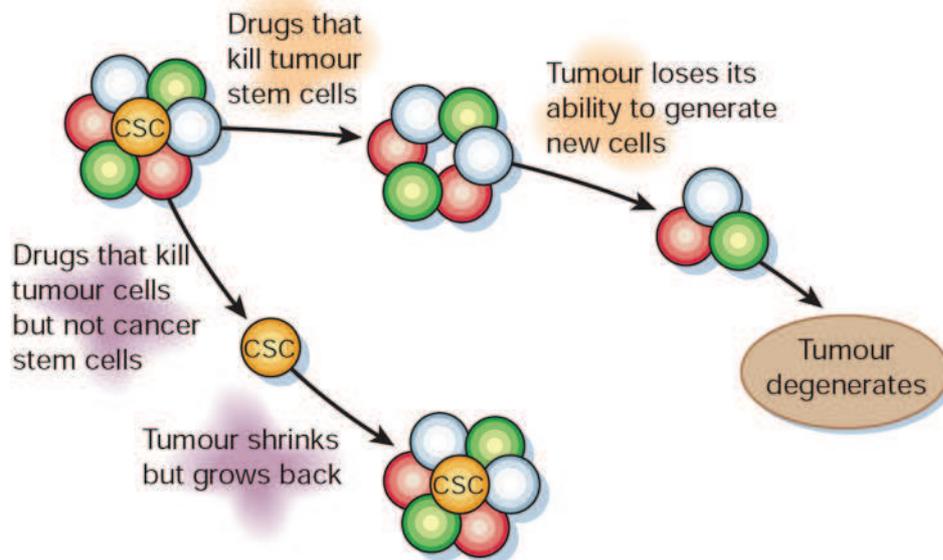


Figure 6. CSC et espoirs thérapeutiques. Tiré de Reya *et al* (2001). Légende d'origine : « Les thérapies conventionnelles pourraient réduire les tumeurs en tuant surtout les cellules dont le potentiel de prolifération est réduit. Si les cellules souches cancéreuses sont moins sensibles à ces thérapies, alors elles resteront en vie après la thérapie et elles rétabliront la tumeur. Au contraire, si les thérapies peuvent être ciblées sur les cellules souches cancéreuses, alors elles pourraient plus efficacement tuer les cellules souches cancéreuses, rendant les tumeurs incapables de s'auto-entretenir et de croître. De ce fait, même si les thérapies dirigées contre les cellules souches cancéreuses ne réduisent pas les tumeurs initialement, elles pourraient finir par mener à des guérisons⁵³ ».

Ce schéma est ancré dans la représentation internationale des CSC qui domine aujourd'hui. Il a été repris, sous différentes formes, à de nombreuses reprises. On le retrouve dans d'autres publications (Figure 7 B et C), sur les pages web de sociétés de biologistes (Figure 7 C à E), les blogs (Figure 7 J) ou encore les encyclopédies libres comme Wikipédia (Figure 7 F) mais également en image marketing pour les industries pharmaceutiques et les start-up (Figure 7 G-I). De plus, il a connu une véritable diffusion internationale et a été traduit dans de nombreuses langues (voir Figure 8).

⁵³ « Conventional therapies may shrink tumours by killing mainly cells with limited proliferative potential. If the putative cancer stem cells are less sensitive to these therapies, then they will remain viable after therapy and re-establish the tumour. By contrast, if therapies can be targeted against cancer stem cells, then they might more effectively kill the cancer stem cells, rendering the tumours unable to maintain themselves or grow. Thus, even if cancer stem cell-directed therapies do not shrink tumours initially, they may eventually lead to cures. » Reya T, Morrison SJ, Clarke MF and Weissman IL (2001) « Stem cells, cancer, and cancer stem cells » *Nature* 414(6859): 105-111, ici Figure 5 p. 110.

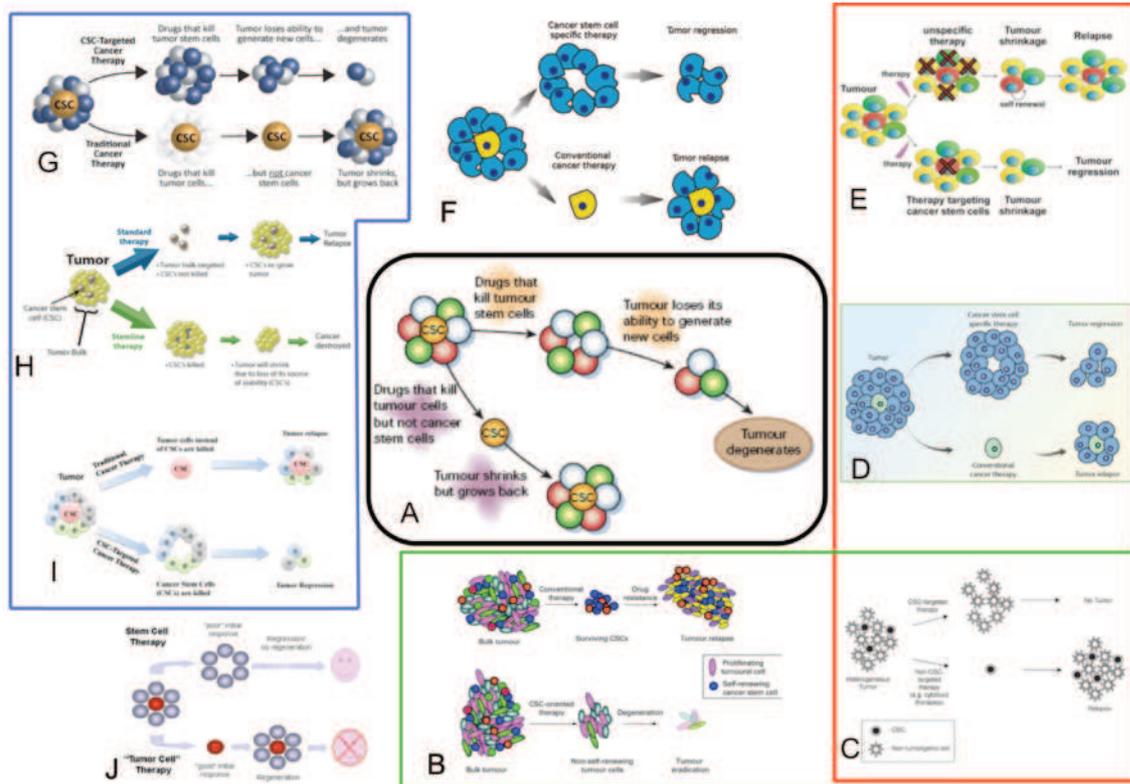


Figure 7. L'influence de la publication : les reprises du schéma. (A) Le schéma d'origine proposé par Reya *et al* (2001). B et C : schémas similaires dans d'autres publications. (B) Ricci-Vitiani *et al* (2008)⁵⁴ (C) Diehn *et al* (2009)⁵⁵. C, D et E : schémas similaires dans des regroupements/partenariats/sociétés de biologistes. (C) Schéma de l'article de Diehn *et al* (2009), repris dans la section news de la « radiological society of North America »⁵⁶. (D) Article « stem cells and cancer » de la revue *Stem Cell Lines* (publiée 3 fois par an) à destination des amis et partisans du *Harvard Stem Cell Institute*⁵⁷. (E) « Fiche info » du portail européen sur les cellules souches, lancé en mars 2010, financé par le Programme de la Commission européenne 7e programme-cadre (FP 7)⁵⁸. (F) Encyclopédie collective libre Wikipédia⁵⁹. G, H et I : schémas similaires dans le cadre de sociétés industrielles. (G) Dans la newsletter hebdomadaire de la start-up sur les cellules souches de Currin⁶⁰. (H) Sur le site internet de la compagnie biopharmaceutique « Stemline » (New York) qui développe des thérapies ciblant les CSC⁶¹. (I) Sur le site internet de la compagnie de biotechnologies « YZYBiopharma » (fondée en juillet 2010, localisée à Wuhan en Chine) qui développe des médicaments contre le cancer⁶². (J) Dans le blog sur les cellules souches⁶³.

⁵⁴ Ricci-Vitiani L, Pagliuca, Palio E, Zeuner A, De Maria R (2008) « Colon cancer stem cells » *Gut* 57: 538-548.

⁵⁵ Diehn M, Cho RW, Lobo NA, Kalisky T, Dorie MJ, Kulp AN, Qian D, Lam JS, Ailles LE, Wong M, Joshua B, Kaplan MJ, Wapnir I, Dirbas FM, Somlo G, Garberoglio C, Paz B, Shen J, Lau SK, Quake SR, Brown JM, Weissman IL and Clarke MF (2009) « Association of reactive oxygen species levels and radioresistance in cancer stem cells » *Nature* 458(7239): 780-783.

⁵⁶ http://www.rsna.org/Publications/rsnanews/May2009/CancerStem_feature.cfm (30/01/12)

⁵⁷ <http://www.hsci.harvard.edu/newsroom/stem-cells-and-cancer> (30/01/12)

⁵⁸ <http://www.eurostemcell.org/fr/factsheet/cancer-une-maladie-des-cellules-souche> (30/01/12)

⁵⁹ http://en.wikipedia.org/wiki/Cancer_stem_cell (30/01/12)

⁶⁰ <http://www.currinresearch.com/content/123009Curis.htm> (30/01/12)

⁶¹ <http://www.stemline.com/csc.asp> (30/01/12)

⁶² <http://www.yzybio.com/en/yfxm.asp?id=10> (30/01/12)

⁶³ <http://stemcells-research.net/2011/08/06/targeting-cancer-stem-cells/> (30/01/12)

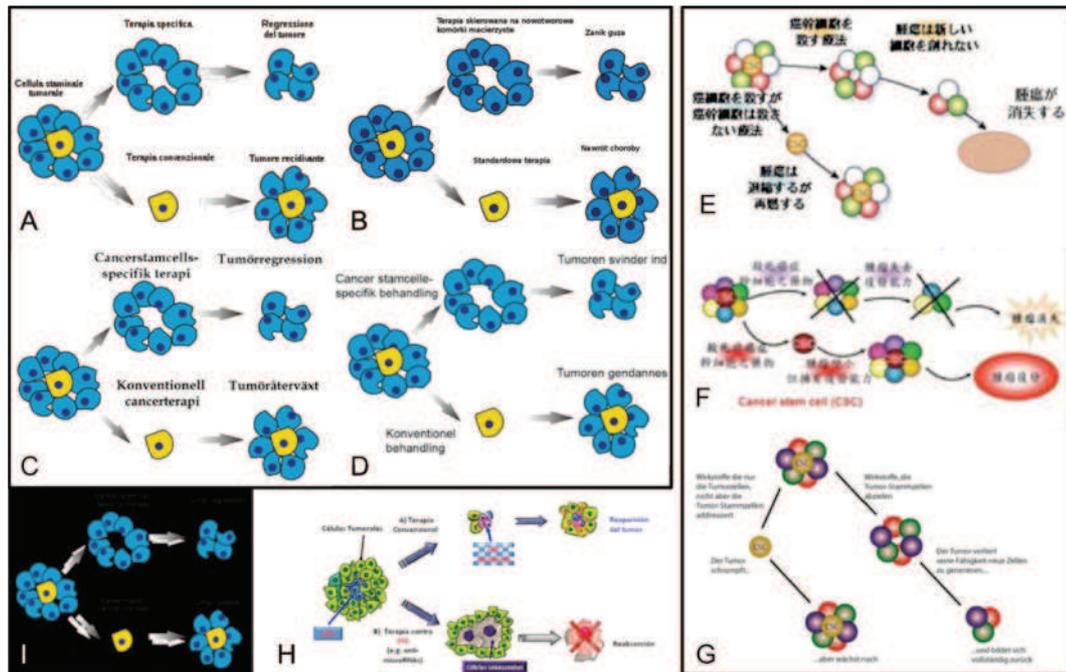


Figure 8. L'influence de la publication : traductions du schéma dans différentes langues. (A) en italien « cellula staminale tumorale »⁶⁴ ; (B) en polonais « Rakowe komórki macierzyste »⁶⁵ ; (C) en suédois : « Cancerstamceller »⁶⁶ ; (D) en danois « kræft stamceller »⁶⁷ ; (E) en japonais « がん幹細胞 »⁶⁸ ; (F) en chinois « 癌幹細胞 »⁶⁹ ; (G) en allemand « Krebsstammzelle »⁷⁰ ; (H) en espagnol « célula madre tumorale/del càncer »⁷¹ ; (I) le schéma non traduit sur le web persan (image) « های سلول سرطان »⁷², ou en coréen⁷³, en arabe « الخلايا الجذعية للسرطان »⁷⁴, en tagalog (une des langues des philippines) « kanser stem cell »⁷⁵, en tamul⁷⁶ ou encore en thaï⁷⁷.

⁶⁴ <http://it.wikipedia.org/wiki/Glioblastoma> (30/01/12)

⁶⁵ <http://hylostet.pl/igm/article/27/> (30/01/12)

⁶⁶ <http://www.chemicalnet.se/iuware.aspx?pageid=792&ssoid=105046> (30/01/12)

⁶⁷ <http://videnskab.dk/krop-sundhed/fremtidens-kræftbehandling-sigter-pa-stamceller> (30/01/12)

⁶⁸ <http://www.urologistweb.jp/speech/03.html> (30/01/12)

⁶⁹ <http://www.libertytimes.com.tw/2008/new/jun/17/today-life5.htm> (30/01/12)

⁷⁰ <http://www.christian-regenbrecht.de/index.php?id=17> (30/01/12)

⁷¹ <http://noticias.terra.es/fotos/actualidad/fichafoto.aspx?itemurl=/2011/ciencia-y-tecnologia/1026/fotos-media/espana-investigacion-cancer-identifican-material-genetico-que-hace-inmortales-las-celulas-madre-tumorales-00> (30/01/12)

⁷² <http://www.tebyan.net/index.aspx?pid=172445>

⁷³ En l'absence des caractères appropriés pour donner la traduction coréenne de « cancer stem cell », nous vous renvoyons à « Google translation »

http://blog.daum.net/_blog/BlogTypeView.do?blogid=07fBT&articulo=15856811&categoryId=760623®dt=20091120110233

⁷⁴ <http://knol.google.com/k/%D8%A7%D9%84%D8%AE%D9%84%D8%A7%D9%8A%D8%A7-%D8%A7%D9%84%D8%AC%D8%B0%D8%B9%D9%8A%D9%87-%D9%88%D8%B9%D9%84%D8%A7%D8%AC-%D9%84%D9%83%D9%84-%D8%A7%D9%84%D8%A7%D9%85%D8%B1%D8%A7%D8%B6#>

⁷⁵ <http://beyintumoru.org/category/haber/feed>

⁷⁶

<http://padmahari.wordpress.com/2010/06/07/%E0%AE%B8%E0%AF%8D%E0%AE%9F%E0%AF%86%E0%AE%AE%E0%AF%8D-%E0%AE%9A%E0%AF%86%E0%AE%B2%E0%AF%8D%E0%AE%95%E0%AE%B3%E0%AF%8>

Le concept de cellule souche cancéreuse est associé, dans la représentation collective, à la proposition d'une nouvelle stratégie thérapeutique (consistant à éliminer spécifiquement les CSC) qui suscite l'espoir de guérir les cancers.

1.2.2. Les *start-up* de biotechnologies tentent leur chance

Les sociétés start-up de biotechnologies, qui, depuis une vingtaine d'années, cherchent à tirer des applications pharmaceutiques sources de profits à partir des recherches publiques, ont massivement investi le champ des CSC. L'objectif est de développer des médicaments ciblant les CSC. La plus connue est probablement OncoMed, qui a été lancée par ceux-là même qui avaient, en 2001, publié le schéma observé à la section précédente⁷⁸. Aujourd'hui, OncoMed dispose de trois médicaments en cours d'essais cliniques (OMP-21M18, OMP-59R5 et OMP-18R5). Peuvent également être citées BostonBiomedical (BBI608 et BBI503), Eclipse Therapeutics (ET101 en cours d'essai clinique)⁷⁹, Stemline Therapeutics (SL-401 et SL-701 en cours d'essai clinique)⁸⁰ et Stemica⁸¹, qui partagent l'objectif de traiter les cancers par l'élimination des CSC. Plusieurs sociétés privées, non spécifiquement dédiées à cette tâche, développent également des médicaments contre les CSC ou testent l'effet de leurs médicaments sur les CSC. C'est le cas, par exemple, de Formula Pharmaceuticals qui teste l'efficacité de son immunothérapie FPI-01 sur les CSC⁸² ou encore de KaloBios Pharmaceuticals, une entreprise qui développe divers thérapies ciblées en médecine personnalisée dont le médicament KB004, développé

D-

<http://www.pgank.wordpress.com/%E0%AE%95%E0%AF%81%E0%AE%B1%E0%AF%81%E0%AE%A4%E0%AF%8D%E0%AE%A4%E0%AE%A9/>

77

<http://pgank.wordpress.com/%E0%B9%80%E0%B8%8B%E0%B8%A5%E0%B8%A5%E0%B9%8C%E0%B8%95%E0%B9%89%E0%B8%99%E0%B8%81%E0%B8%B3%E0%B9%80%E0%B8%99%E0%B8%B4%E0%B8%94%E0%B8%A1%E0%B8%B0%E0%B9%80%E0%B8%A3%E0%B9%87%E0%B8%87/>

⁷⁸ Michael Clarke, Sean Morrison. OncoMed a également été lancé par Muhammad Al-Hajj, et Max Wicha. Ces quatre chercheurs ont aussi été les premiers à avoir mis en évidence l'existence de CSC dans un cancer solide, le cancer du sein. Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, Morrison SJ, and Clarke MF (2003), « Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells », *Proc Natl Acad Sci U S A* 100 (7): 3983-3988.

⁷⁹ <http://www.eclipsetherapeutics.com/home/about-us/cancer-stem-cells-explained>

⁸⁰ <http://www.stemline.com/company.asp>

⁸¹ <http://stemica.com/>

⁸² http://www.formulapharma.com/fp1_01/AML.asp

pour cibler spécifiquement les CSC⁸³. Il y a également des sociétés publiques de biotechnologies qui se sont développées dans l'objectif de trouver des traitements ciblant les CSC, comme Geron Corporation et ses deux médicaments en cours d'essai clinique (Imetelstat ou GRN163L et GRN1005)⁸⁴, ImmunoCellular Therapeutics et ses immunothérapies ICT-107 (un vaccin pour les glioblastomes en cours d'essai clinique de phase II⁸⁵) et ICT-121 en phase préclinique⁸⁶; ou encore Verastem et ses médicaments en phase préclinique VS-507, VS-4718 et VS-5095⁸⁷.

1.2.3. Les industries pharmaceutiques investissent le domaine

Suivant un schéma désormais bien rodé dans le domaine biomédical, l'industrie du médicament s'est, elle aussi, lancée dans le domaine, à la suite des start-up⁸⁸. La firme GlaxoSmithKline avait, dès 2008, signé un accord de 1,4 milliards de dollars avec OncoMed Pharmaceuticals pour le développement d'anticorps qui permettraient de cibler spécifiquement les CSC⁸⁹. Cet accord avait été décrit comme « la plus grosse transaction jamais faite à une entreprise de biotechnologie à un stade préclinique »⁹⁰. OncoMed ne disposait pas encore, à l'époque, de produits proches d'une mise sur le marché. Novartis finance l'entreprise de biotechnologie EpiStem, spécialisée dans la médecine personnalisée

⁸³ « What differentiates KB004 is its potential to attack tumors at their source by killing tumor stem cells, the tumor stromal cells that protect them, and the vasculature that feeds them. This unique activity provides the potential to generate durable responses by targeting the source of tumor cells. KB004 may have broad applicability to treat many tumor types both as a single agent and in combination with other therapeutics. » <http://kalobios.com/product-pipeline-2/kb004/>

⁸⁴ <http://www.geron.com/R-and-D>

⁸⁵ <http://www.imuc.com/pipeline-chart>

⁸⁶ <http://www.imuc.com/getting-to-the-roots-of-cancer>

⁸⁷ <http://www.verastem.com/about/>

Voir Fisher A (2011) « Verastem: Cancer stem cell engine » *BioCentury*, August 5.

⁸⁸ Rifkin J (1998) *Le siècle biotech*. Paris : La Découverte ; Rajan KS (2006) *Biocapitalism*. Duke : Duke University Press ; Paul SM, Mytelka DS, Dunwiddie CT, Persinger CC, Munos BH, Lindborg SR and Schacht AL (2010) « How to improve R&D productivity: the pharmaceutical industry's grand challenge » *Nat Rev Drug Discov* 9(3): 203-214.

⁸⁹ <http://www.oncomed.com/news/pr/pr8.html>

⁹⁰ « And at least a year before any human was slated to undergo a cancer stem cell treatment, GlaxoSmithKline signed an incentive-laced \$1.4 billion deal with Oncomed for the commercialization of its technology. It is thought to be the largest deal ever for a preclinical stage biotech company. » Madrigal A (2008) « Cancer Stem Cells Could Cause Tumors, Be key to Cure » *Wired Science*: <http://www.wired.com/wiredscience/2008/06/cancer-stem-cel/>

« The company doesn't have a product close to market, but GlaxoSmithKline nevertheless offered a deal that is said to be the biggest ever for a preclinical company. » Sara Solovitch (2008) « Cancer research nets \$1.4B deal for OncoMed » *San Francisco Business Times*. <http://www.bizjournals.com/sanfrancisco/stories/2008/01/14/story13.html>

et les cellules souches épithéliales, pour développer des tests de criblage des médicaments ciblant plus spécifiquement les CSC⁹¹ et permettant l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques ou médicamenteuses contre les CSC⁹². Roche fournit l'université de Californie (UCLA) en technologies de pointe pour leurs recherches sur les cellules souches et le cancer⁹³. Merck a financé un essai clinique mené par J Chang et Max Wicha pour tester un médicament destiné à cibler les CSC dans les cancers du sein⁹⁴. Pfizer finance des contrats de post-doctorants sur les CSC⁹⁵. Sanofi-Aventis collabore depuis 2007 avec l'Institut d'Hématologie de l'Académie chinoise des Sciences Médicales implanté à Tianjin (Chine) en vue d'identifier les cellules souches leucémiques (leucémie aigüe myéloblastique) pour ensuite développer les anticorps ciblant spécifiquement ces CSC. Dainippon Sumitomo Pharma a acheté une licence pour le développement du médicament BBI608, ciblant les CSC des cancers colorectaux, à Boston Biomedical⁹⁶.

1.3. Conclusion

Ce premier chapitre décrit la constitution d'un véritable domaine de recherche autour des cellules souches cancéreuses après les années 2000. Ce domaine de recherche a trouvé sa place dans la recherche fondamentale. Il est investi par de nombreuses équipes, discuté en congrès, enseigné à l'université. Il donne lieu à quantité de publications et il est bien financé. Mais les cellules souches cancéreuses sont également au cœur de la recherche et du développement de nouveaux médicaments. De nombreuses sociétés de biotechnologies spécialisées sur les CSC ont été créées, l'industrie pharmaceutique investit massivement le domaine et plusieurs molécules sont en cours d'essais cliniques. Le succès rencontré par ce nouveau domaine de recherche est lié aux espoirs thérapeutiques que les cellules souches cancéreuses suscitent. Ces espoirs proviennent de la proposition d'une

⁹¹ <http://www.epistem.co.uk/cancer-stem-cells.asp>

⁹² http://www.epistem.co.uk/newsitems_107.asp

⁹³ http://www.roche.com/media/media_releases/med_dia_2011-06-09.htm
<http://www.stemcell.ucla.edu/news/agreement-roche-gives-ucla-stem-cell-and-cancer-researchers-early-access-leading-edge-technolog>

⁹⁴ Chang J, Landis M, Schott A, Pavlick A, Dobrolecki L, Korkaya H, Zhang X, Froehlich A, Rodriguez A, Rimawi M, Wicha M, Lewis M and Hayes D (2009) « Targeting Intrinsically-Resistant Breast Cancer Stem Cells with Gamma-Secretase Inhibitors » *Cancer Research* 69(24 supp3): 48.

⁹⁵ <http://ittakes30.wordpress.com/2011/02/09/postdoctoral-position-at-pfizer/>

⁹⁶ Pour plus de détail sur cet accord :
<http://www.ds-pharma.com/news/2011/20110407.html>

Pour plus de détail sur Boston Biomedical Inc et son objectif de ciblage des CSC :
<http://www.bostonbiomedical.com/home/index.cfm>

stratégie thérapeutique originale : l'élimination des CSC serait nécessaire et suffisante à la guérison complète des cancers. L'élimination des CSC est le rêve de demain qui anime la cancérologie d'aujourd'hui.

Je montrerai qu'il n'est pas certain que cette stratégie puisse parvenir à ses fins et même qu'il est probable, au regard d'un ensemble de données qui seront examinées dans la partie IV, que l'élimination des CSC ne soit pas suffisante pour assurer la guérison complète des cancers. Ce premier chapitre met donc en valeur l'importance de cette analyse conceptuelle au regard des espoirs thérapeutiques et des efforts investis dans le domaine.

1.4. *English summary*

This chapter briefly describes the booming research field of CSCs in order to contextualize the conclusions of this dissertation. The massive investments in this field are driven by the expectation of therapeutic applications that would target the CSCs. The historical and conceptual analysis developed in this dissertation is a detour to question the credibility of the promises of miracle cures based on CSCs.

The emergence of an organized field of research on CSC can be seen through a bibliometric analysis. The number of publications on CSCs rose from an average of a few unit per year in the 2000's to around 1000 in 2011 (see Figure 4). The number of biologists investing the field increased accordingly.

The programs of the AACR annual meetings (probably the most important and popular meetings in oncology) are also indicators of the attractiveness of a field of research on CSC. Before 2006, the concept of CSC was almost inexistent. Only few presentations or posters dealt with the topic. But, since 2006, posters sessions and symposiums (rather than individual presentations), forums, “meet-the-expert” sessions, and even educational sessions have been dedicated to this topic. The research field entered the standard process of institutionalization with an increasing number of university courses and textbooks on CSCs.

Finally this chapter conveys a view of the legitimacy acquired by the CSCs through the great amount of funding they raise. Results from the dozen of semi-directed interviews I have conducted during my PhD indicate that the CSC field of research has become highly competitive, and generously financed.

Taken together, these data are the symptoms of the interest and trust raised by the concept of CSCs in biomedical communities. This success is associated to, and at least based on, hopes raised by the therapeutic strategy against CSCs. According to the CSC proponents, failures of conventional therapies are due to resistant CSCs. Thus, killing the CSCs would be necessary and sufficient to cure cancer. The diagrammatic representation of this therapeutic strategy, published in *Nature* in 2001 (see Figure 6), has toured the world. It has been used, reused with slight modifications in many publications, in blogs, on Wikipedia, on web pages of biologist societies, by start-ups and pharmaceutical industries (see Figure 7). A google search on the CSCs in various languages show that it has been translated in Chinese, Danish, German, Italian, Japanese, Polish, Spanish, and Swedish. I

have also found it untranslated in web pages in Arabic, Korean, Persian, Tagalog, Tamil, and Thai (see Figure 8).

Furthermore, the anti-CSC therapeutic strategy is more than a collective dream of miracle cures. It is an active field of research and development attracting biotech companies (BostonBiomedical, Eclipse Therapeutics, Formula Pharmaceuticals, Geron Corporation, ImmunoCellular Therapeutics, KaloBios Pharmaceuticals, OncoMed, Stemica, Stemline Therapeutics, Verastem) and investments of Big Pharma (GlaxoSmithKline, Merck, Novartis, Pfizer, Sanofi-Aventis). Some molecules are being developed and tested with the view to targeting specific CSCs. Some Biotech companies are also testing the effectiveness of their molecules on the CSCs.

CHAPITRE 2. La théorie des CSC

Après avoir montré, au chapitre précédent, l'émergence d'un domaine de recherche portant sur les cellules souches cancéreuses et l'existence d'enjeux thérapeutiques forts, je propose d'examiner les fondements théoriques et conceptuels sur lesquels reposent l'espoir de guérir les cancers en ciblant spécifiquement les CSC.

Le chapitre 1 a déjà introduit le modèle de stratégie thérapeutique proposé par les partisans des CSC (voir section 1.2.1). La proposition consiste essentiellement en un changement de cible. Pour obtenir un traitement efficace à long terme, il faudrait cibler et détruire spécifiquement les CSC, au lieu de détruire massivement les cellules en division qui composent le gros de la tumeur. Cette stratégie présuppose, d'une part, l'existence des cellules souches cancéreuses et, d'autre part, une définition précise de ces cellules. La question de la caractérisation des CSC, préalable au ciblage thérapeutique de ces cellules, nécessite d'entrer dans les détails techniques et sera, de ce fait, analysée au cours de la Partie II. Le présent chapitre a pour objectif de montrer que la stratégie thérapeutique de ciblage des CSC repose sur un modèle particulier de développement des cancers, basé sur les CSC, ainsi que sur un « modèle de rechute ». J'appelle « théorie des CSC » l'ensemble de ces modèles et les hypothèses sur lesquels ils reposent. La question de savoir s'il s'agit véritablement d'une théorie ou non fait l'objet de l'annexe 1.

Pour exposer cela, je m'appuierai sur deux articles fondamentaux. Le premier, déjà évoqué au chapitre précédent, est la revue du domaine publiée par Tannishtha Reya, Sean Morrison, Michael Clarke et Irving Weissman dans *Nature* en 2001⁹⁷. Le second est le rapport du colloque sur les CSC organisé par l'AACR en février 2006⁹⁸. Comme l'a déjà montré le chapitre 1, la revue de 2001 a joué un rôle fondateur dans la représentation générale des CSC. C'est le premier énoncé de la version moderne de la théorie des CSC. Le rapport de 2006 est aussi un jalon historique car il garde la mémoire du premier colloque international consacré aux cellules souches cancéreuses. Les plus grands spécialistes du domaine étaient présents à ce colloque et ont cosigné le rapport. On peut en particulier citer John Dick, le chercheur canadien qui a été le premier à apporter une preuve solide de

⁹⁷ Reya T, Morrison SJ, Clarke MF and Weissman IL (2001) « Stem cells, cancer, and cancer stem cells » *Nature* 414(6859):105-111.

⁹⁸ Clarke MF, Dick JE, Dirks PB, Eaves CJ, Jamieson CH, Jones DL, Visvader J, Weissman IL and Wahl GM (2006) « Cancer stem cells--perspectives on current status and future directions: AACR Workshop on cancer stem cells » *Cancer Res* 66(19): 9339-9344.

l'existence de CSC⁹⁹, le Californien Irving Weissman, reconnu pour ses travaux sur les cellules souches hématopoïétiques et la caractérisation des différents progéniteurs du système hématopoïétique¹⁰⁰, le chercheur californien Michael Clarke dont l'équipe a été la première à mettre en évidence l'existence de CSC dans un cancer solide (cancer du sein)¹⁰¹ et le Canadien Peter Dirks également pionnier dans la recherche de CSC dans les cancers solides (tumeur du cerveau)¹⁰². Tous se sont réunis autour d'un objectif : aboutir à une définition commune des CSC et discuter des problèmes techniques et théoriques soulevés par ces cellules. Or, le consensus auquel a abouti ce colloque, sur la définition des CSC, aussi bien que sur la théorie des CSC, est très proche de ce que propose l'article de 2001. Ces raisons justifient la considération de ces deux publications comme hautement représentatives du domaine.

Pour repérer les fondements du modèle de stratégie thérapeutique proposé par les spécialistes des CSC, je commencerai par m'intéresser à l'objet principal sur lequel repose cette stratégie, à savoir le concept de CSC (sans, pour autant, entrer dans les détails techniques de la caractérisation de ces cellules). La définition des CSC mènera à l'examen du modèle de cancérogenèse (section 2.1). J'examinerai alors l'ensemble des explications et prédictions qui composent la théorie des CSC. Certaines d'entre elles sont contenues dans le modèle de cancérogenèse, alors que d'autres nécessitent de faire appel à des hypothèses supplémentaires (section 2.2). C'est en particulier le cas de l'explication des rechutes, sur laquelle repose le modèle de stratégie thérapeutique (section 2.3).

⁹⁹ Lapidot T, Sirard C, Vormoor J, Murdoch B, Hoang T, Caceres-Cortes J, Minden M, Paterson B, Caligiuri MA and Dick JE (1994) « A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice » *Nature* 367(6464): 645-648; Bonnet D and Dick JE (1997) « Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell » *Nat Med* 3(7): 730-737.

¹⁰⁰ Weissman IL, Heimfeld S and Spangrude G (1989) « Haemopoietic stem cell purification ». *Immunol Today* 10(6): 184-185; Morrison SJ, Wandycz AM, Hemmati HD, Wright DE and Weissman IL (1997) « Identification of a lineage of multipotent hematopoietic progenitors ». *Development* 124(10): 1929-1939; Weissman IL (2002) « The road ended up at stem cells ». *Immunol Rev* 185: 159-174.

¹⁰¹ Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, Morrison SJ and Clarke MF (2003) « Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells » *Proc Natl Acad Sci U S A* 100(7): 3983-3988.

¹⁰² Singh SK, Clarke ID, Terasaki M, Bonn VE, Hawkins C, Squire J and Dirks PB (2003) « Identification of a cancer stem cell in human brain tumors ». *Cancer Res* 63(18): 5821-5828; Singh SK, Hawkins C, Clarke ID, Squire JA, Bayani J, Hide T, Henkelman RM, Cusimano MD and Dirks PB (2004) « Identification of human brain tumour initiating cells ». *Nature* 432(7015): 396-401.

2.1. Qu'est-ce qu'une CSC ?

Le colloque organisé par l'AACR en février 2006 avait pour objectif d'évaluer les données « suggérant que les cancers se développeraient à partir d'une petite sous-population de cellules possédant des propriétés d'auto-renouvellement analogues à celles des cellules souches des organes »¹⁰³. Ils appellent cela « le modèle des cellules souches cancéreuses ». Ce modèle de développement des cancers repose sur l'existence d'un objet : les cellules souches cancéreuses. Les intervenants sont arrivés à une définition fonctionnelle consensuelle de ces cellules :

Une cellule souche cancéreuse est « une cellule d'une tumeur qui possède la capacité de s'auto-renouveler et de produire les lignées hétérogènes de cellules cancéreuses contenues par la tumeur en question »¹⁰⁴.

Cette définition est très proche de celle qui avait été proposée en 2001 par Tannishtha Reya et ses collègues. Ils avaient défini les CSC comme « de rares cellules possédant un potentiel prolifératif illimité qui dirige la formation et la croissance des tumeurs »¹⁰⁵, avec pour sous-entendu, largement explicité dans l'article, que ces cellules dirigent la formation et la croissance de la tumeur par la production des lignées hétérogènes de cellules contenues par la tumeur en question.

Dans chacune de ces deux publications, les CSC sont définies par un ensemble de 4 propriétés majeures :

- (a) Elles sont capables de s'auto-renouveler.
- (b) Elles sont capables de se différencier et de donner naissance à des cellules de phénotypes divers.
- (c) Elles représentent une petite sous-population, distincte des autres populations de cellules cancéreuses, c'est-à-dire identifiable en droit.
- (d) Elles sont la source de la formation des cancers.

¹⁰³ « The meeting participants were charged with evaluating data suggesting that cancers develop from a small subset of cells with self-renewal properties analogous to organ stem cells » Clarke MF, Dick JE, Dirks PB, Eaves CJ, Jamieson CH, JonesDL, Visvader J, Weissman IL and Wahl GM (2006) « Cancer stem cells--perspectives on current status and future directions: AACR Workshop on cancer stem cells » *Cancer Res* 66(19): 9339.

¹⁰⁴ « The consensus definition of a cancer stem cell that was arrived at in this Workshop is a cell within a tumor that possess the capacity to self-renew and to cause the heterogeneous lineages of cancer cells that comprise the tumor. » Clarke MF, Dick JE, Dirks PB, Eaves CJ, Jamieson CH, JonesDL, Visvader J, Weissman IL and Wahl GM (2006) « Cancer stem cells--perspectives on current status and future directions: AACR Workshop on cancer stem cells » *Cancer Res* 66(19): 9340.

¹⁰⁵ « Rare cells with indefinite proliferative potential that drive the formation and growth of tumours ». Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL (2001) « Stem Cells, Cancer, and Cancer Stem Cells. » *Nature* 414(6859): 105-111, ici p. 105.

Les propriétés (a) et (b) (auto-renouvellement et différenciation) sont des propriétés attribuées spécifiquement aux CSC. Elles définissent les CSC et permettent de comprendre ce que désignent les chercheurs par CSC. Ensemble, ces deux propriétés forment ce que l'on appelle la propriété « souche », qui répond classiquement à la définition suivante :

Si une cellule est capable de s'auto-renouveler (a) et de se différencier (b), alors c'est une cellule souche¹⁰⁶.

Ainsi, dire des CSC qu'elles disposent des propriétés (a) et (b) est équivalent à dire qu'elles disposent de la propriété générale « souche » (noté « P_s » sur les Figures). Autrement dit, une première hypothèse (H1) soutient qu'une catégorie de cellules, dites CSC, existe et est définie par les propriétés d'auto-renouvellement et de différenciation, c'est-à-dire par la propriété « souche ».

Contrairement aux propriétés (a) et (b) qui caractérisent les CSC sans référence à d'autres cellules, la proposition (c), selon laquelle les CSC sont une petite sous-population distincte des autres cellules cancéreuses, est d'ordre relationnel : elle implique une comparaison entre les CSC et *les autres* cellules cancéreuses. Ainsi, la proposition (c) distingue deux classes d'objets : les CSC et les cellules cancéreuses non-souches (notées « non-CSC » ou « \neg CSC », dans les Figures). Elle indique que l'on peut dire des CSC qu'elles sont des CSC parce que les autres cellules cancéreuses ne sont pas dotées des propriétés (a) et (b). Cette proposition n'est pas directement impliquée par les propositions précédentes. Il se pourrait que l'observation empirique montre que toutes les cellules cancéreuses sont dotées des propriétés (a) et (b), auquel cas « cellule souche cancéreuse » serait équivalent à « cellule cancéreuse ». Ceci permet de mettre en évidence le fait que (c) relève d'une hypothèse adjacente à l'hypothèse de l'existence des CSC. Cette hypothèse soutient que la plupart des cellules cancéreuses ne sont pas des CSC. Dès lors, on peut noter que cette seconde hypothèse ne concerne pas seulement les CSC et les non-CSC mais les cancers : les cancers sont formés d'au moins deux classes distinctes de cellules, les cellules souches cancéreuses et les cellules cancéreuses non-souches. Les propriétés (a) et (b) permettent de distinguer les cellules de ces deux classes. La proposition (c) ajoute une

¹⁰⁶ Tout manuel de biologie définit les cellules souches par ces deux propriétés. Pour un exemple précis, on peut se rendre sur le site web du NIH qui dispose d'un glossaire important : <http://stemcells.nih.gov/info/basics/basics2.asp>

caractéristique quantitative en indiquant qu'il s'agit d'un « petit sous-ensemble » : dans un cancer, il y a plus de non-CSC que de CSC¹⁰⁷.

L'hypothèse selon laquelle il existe des CSC (H_1) s'accompagne donc d'une seconde hypothèse selon laquelle les cellules cancéreuses ne sont pas toutes des CSC (H_2).

Enfin, la proposition (d) (les CSC sont la source de la formation des tumeurs) concerne à la fois les CSC et les cancers dans leur globalité. En effet, (d) dit à la fois des cancers qu'ils sont initiés par des CSC et des CSC qu'elles initient les cancers. Cette propriété est considérée comme le corollaire des propriétés (a) et (b) : les CSC sont capables d'initier des tumeurs parce qu'elles sont dotées des capacités d'auto-renouvellement et de différenciation (voir Figure 10 et section 2.2.1). En conséquence de l'hypothèse H_2 (toutes les cellules cancéreuses ne sont pas des CSC), le corollaire que je viens d'exprimer (la capacité d'initiation et de maintien des cancers résulte des capacités d'auto-renouvellement et de différenciation) implique que la proposition « les cancers sont initiés par des CSC » est nécessaire. Autrement dit, la propriété (d) n'indique pas simplement que les cancers peuvent prendre leur origine dans des CSC, elle indique que les cancers naissent et croissent *toujours nécessairement* à partir de CSC et *jamais* à partir de non-CSC.

Les propositions (a), (b), (c) et (d) montrent donc que le concept de CSC est plus qu'une proposition terminologique décrivant un ensemble de cellules. Les CSC sont au cœur d'un modèle de cancérogenèse, c'est-à-dire un modèle qui décrit un certain nombre de principes que le développement des cancers suivrait toujours. Je propose donc de distinguer le concept de CSC du modèle de cancérogenèse basé sur les CSC :

Concept de cellule souche cancéreuse : les cellules souches cancéreuses sont des cellules cancéreuses qui sont capables de s'auto-renouveler (propriété (a)) et de se différencier (propriété (b)).

Modèle de cancérogenèse basé sur les CSC : les cancers sont initiés et maintenus par des cellules souches cancéreuses.

Distinguer le concept de CSC et le modèle de cancérogenèse permet de différencier, parmi les descriptions faites par les biologistes, celles qui servent à caractériser ce qu'est une cellule souche cancéreuse de celles qui indiquent l'utilisation de ce concept pour la caractérisation du mode de développement des cancers, et plus généralement pour

¹⁰⁷ Des quatre propriétés, la rareté des CSC est là seule à être remise en cause aujourd'hui dans certains cancers. J'aurai l'occasion d'y revenir.

la production d'explications ou de prédictions en cancérologie, puisque d'autres modèles ont été développés à partir des CSC. Ces distinctions seront importantes par la suite car les débats ne portent pas toujours sur les mêmes propriétés et/ou hypothèses. Distinguer les modèles des CSC du concept de CSC permet notamment de mettre en évidence les conditions de validité propres à ces objets. Il serait, par exemple, possible qu'il existe des CSC, c'est-à-dire des objets répondant aux caractéristiques qui définissent le concept de CSC (l'hypothèse H_1 serait vraie), sans que le modèle de cancérogenèse basé sur les CSC soit vrai pour autant, c'est-à-dire sans que les cancers soit initiés par ces cellules.

Il est donc possible, à partir des quatre propositions par lesquelles sont définies les CSC, de dresser un premier tableau du contenu de la théorie des CSC (Figure 9). Cette théorie propose un modèle de cancérogenèse. Ce modèle repose sur deux hypothèses conjointes.

- *Hypothèse 1 (H_1) : Il existe des cellules souches cancéreuses.*
- *Hypothèses 2 (H_2) : Toutes les cellules cancéreuses ne sont pas des cellules souches cancéreuses. Autrement dit, il existe des cellules cancéreuses non-souches.*

Au sein de ces hypothèses, deux propriétés (ou un ensemble de propriétés) permettent de distinguer les CSC des non-CSC.

- *Propriété a (P_A (CSC)) : les CSC sont capables de s'auto-renouveler.*
- *Propriété b (P_B (CSC)) : les CSC sont capables de se différencier (c'est-à-dire de produire des lignées hétérogènes de cellules).*
- \Rightarrow *Propriété s (P_S (CSC)) : les CSC sont des cellules souches parce que, par définition, $P_A \wedge P_B \Rightarrow P_S$.*

Par ces propriétés distinctives, la théorie des CSC propose un modèle de cancérogenèse que l'on peut résumer comme ceci :

- *Modèle de cancérogenèse des CSC : les cancers sont toujours initiés et maintenus par des CSC.*

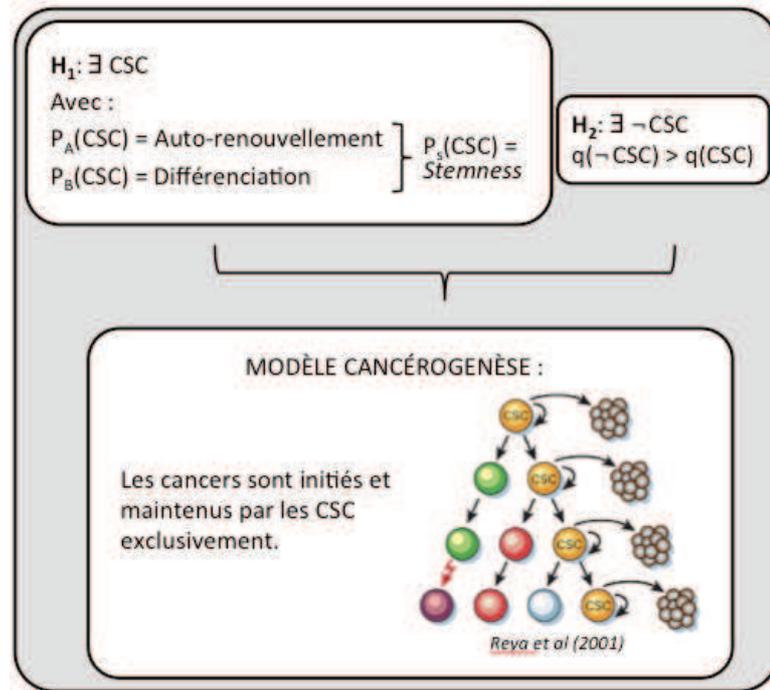


Figure 9. Le modèle de cancérogenèse de la théorie des CSC et ses hypothèses. Les CSC sont représentées en orange (pour la légende originale de la figure de Reya *et al* (2001), voir Figure 10). Les autres cellules sont des cellules cancéreuses non-souches. \exists : il existe ; $-\text{CSC}$: cellules cancéreuses non-souches ; q : quantité.

2.2. Un nouveau modèle de cancérogenèse

La théorie des CSC propose un modèle de cancérogenèse, c'est-à-dire de développement des cancers, fondé sur l'hypothèse de l'existence des CSC. Ce modèle diffère sur plusieurs points de la conception classique du développement des cancers (section 2.2.1). Il unifie un certain nombre d'explications par rapport à la conception classique (section 2.2.2). Néanmoins, certaines explications et prédictions proposées par les partisans des CSC requièrent, en fait, de faire appel à des hypothèses supplémentaires par rapport à celles qui sont mises en évidence dans la section précédente (voir H_1 et H_2 dans la Figure 9). L'enjeu est de taille puisqu'il s'agit des explications et prédictions des rechutes, sur lesquelles le modèle de stratégie thérapeutique anti-CSC se fonde (section 2.3).

2.2.1. Un modèle hiérarchique

Tannishtha Reya, Sean Morrison, Michael Clarke et Irving Weissman offraient, dès 2001, une schématisation expliquant la différence entre deux modèles de cancérogenèse : le

modèle classique (qui est une reconstruction de la conception classique de la cancérogenèse) et celui des CSC (Figure 10)¹⁰⁸.

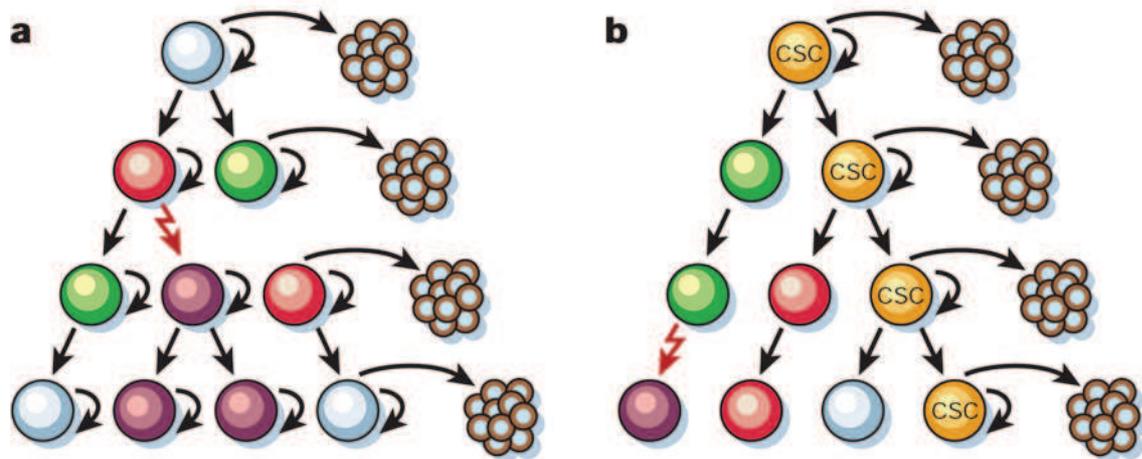


Figure 10. Le modèle stochastique traditionnel et le modèle hiérarchique des CSC. Tiré de Reya et al (2001). Légende d'origine, dans la figure : (a) « les cellules tumorales sont hétérogènes mais, la plupart des cellules peuvent proliférer de manière extensive et former de nouvelles tumeurs » ; (b) « les cellules tumorales sont hétérogènes et seul le sous-ensemble des cellules souches cancéreuses (CSC ; en jaune/orange) a la capacité de proliférer de manière extensive et de former de nouvelles tumeurs »¹⁰⁹.

La représentation du modèle classique (Figure 10 a) suggère que toutes les cellules cancéreuses sont susceptibles d'alimenter la tumeur à laquelle elles appartiennent et d'en produire une nouvelle. Cette représentation graphique montre deux choses. D'une part, toutes les cellules sont capables de s'auto-renouveler (phénomène représenté par une flèche circulaire qui part de la cellule et y revient) et ceci est vrai indépendamment du type cellulaire (les différentes couleurs indiquent des identités distinctes). D'autre part, différents types cellulaires sont capables d'initier de nouvelles tumeurs.

Des cellules cancéreuses de phénotypes très différents ont le potentiel de proliférer à long terme, mais chaque cellule aurait, individuellement, une probabilité très faible d'exhiber ce potentiel dans un test de clonogénicité ou de tumorigénicité.¹¹⁰

¹⁰⁸ Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL (2001) « Stem Cells, Cancer, and Cancer Stem Cells. » *Nature* 414: 109.

¹⁰⁹ (a) « Tumour cells are heterogeneous, but most cell scan proliferate extensively and form new tumours » (b) « Tumour cells are heterogeneous and only the cancer stem cell subset (CSC ; yellow) has the ability to proliferate extensively and form new tumours ». Reya T, Morrison SJ, Clarke MF and Weissman IL (2001) « Stem cells, cancer, and cancer stem cells » *Nature* 414(6859): 105-111 (ici, Figure 4, p. 109).

¹¹⁰ « Cancer cells of many different phenotypes have the potential to proliferate extensively, but any one cell would have a low probability of exhibiting this potential in an assay of clonogenicity or tumorigenicity ». Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL (2001) « Stem Cells, Cancer, and Cancer Stem Cells. » *Nature* 414: 109.

La clonogénicité est la capacité d'une cellule unique à se diviser pour donner une population de cellules. La population de cellules issues de cette cellule unique est appelée « clone » ou « population clonale ».

La tumorigénicité est la capacité à produire une tumeur.

Le modèle des CSC (Figure 10 b) suggère au contraire, d'une part, que seul un type de cellule est capable de s'auto-renouveler, ce sont les CSC (représentées en orange) et, d'autre part, que seul ce type de cellule est capable de donner naissance à de nouvelles tumeurs.

La plupart des cellules cancéreuses n'ont qu'un potentiel prolifératif très limité, mais un sous-ensemble de cellules cancéreuses prolifère régulièrement de manière extensive dans les essais clonogéniques et peuvent former de nouvelles tumeurs en cas de transplantation. Le modèle **b** prédit qu'un sous ensemble distinct de cellules est enrichi en capacité à former de nouvelles tumeurs alors que la plupart des cellules sont dépourvues de cette capacité.¹¹¹

Notons que, d'après cette description, les causes requises pour initier une nouvelle tumeur sont les mêmes dans les deux modèles : la capacité d'auto-renouvellement et de différenciation. C'est pour cette raison que j'avais indiqué, à la section précédente, que l'initiation des cancers est considérée comme corollaire à la propriété P_s (auto-renouvellement et différenciation). La différence fondamentale entre le modèle classique et le modèle des CSC se trouve donc au niveau de l'attribution de P_s à différents types cellulaires. Le modèle classique attribue P_s de manière stochastique (c'est-à-dire probabiliste¹¹²) à l'ensemble des cellules, tandis que le modèle des CSC ne l'attribue qu'à un seul type cellulaire bien déterminé (les CSC). Ils sont respectivement usuellement appelés « modèle stochastique » et « modèle hiérarchique ».

2.2.2. Un modèle parcimonieux

Les différences entre les deux modèles ont des conséquences importantes concernant le développement des cancers. Le modèle des CSC (modèle hiérarchique) fournit un ensemble unifié d'explications et de prédictions là où le modèle classique (modèle stochastique) doit faire appel à des hypothèses *ad hoc*. Le modèle stochastique et le modèle hiérarchique permettent, l'un et l'autre, d'expliquer la faible clonogénicité des

¹¹¹ « Most cancer cells have only limited proliferative potential, but a subset of cancer cells consistently proliferate extensively in clonogenic assays and can form new tumours on transplantation. The model shown in **b** predicts that a distinct subset of cells is enriched for the ability to form new tumours, whereas most cells are depleted of this ability ». Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL (2001) « Stem Cells, Cancer, and Cancer Stem Cells. » *Nature* 414: 109.

¹¹²Sur les notions de stochasticité et de probabilité, voir les travaux de Francesca Merlin, en particulier Merlin F (2009) *Le hasard et les sources de la variation biologique : analyse critique d'une notion multiple*. Thèse de doctorat, Université Paris I ; Merlin F (2013). *Mutations et aléas : le hasard dans la théorie de l'évolution*. Hermann, Paris.

populations de cellules cancéreuses¹¹³. Le modèle stochastique l'explique par une faible probabilité d'expression de la propriété P_C alors que le modèle hiérarchique l'explique par le petit nombre de cellules porteuses de cette propriété, les CSC (voir les deux citations de la section précédente). Mais le modèle hiérarchique permet également d'expliquer l'hétérogénéité des cellules qui composent les tumeurs et la présence de cellules cancéreuses non-métastatiques à distance du site de la tumeur primaire.

En effet, dans le modèle des CSC, l'existence de cellules hétérogènes au sein des cancers est une conséquence prédictible de la capacité des CSC à se différencier. En revanche, le modèle stochastique n'apporte pas directement d'explication à cette hétérogénéité. Celle-ci est expliquée par le modèle dit de l'« évolution clonale » qui fut proposé par Peter Nowell en 1976¹¹⁴. Selon ce modèle, ce sont les mutations et l'instabilité génomique qui expliquent l'apparition de nouveaux types de cellules (voir Figure 11). Cette explication causale de l'émergence de nouveaux types cellulaires dans une population clonale est représentée, dans la Figure 10, par l'intervention d'une flèche rouge en forme d'éclair. Dans l'exemple fourni par le modèle stochastique, la mutation est la cause de l'émergence du type cellulaire « couleur prune »¹¹⁵.

¹¹³ La clonogénicité est la capacité d'une cellule unique à se diviser pour donner une population de cellules. La population de cellules issues de cette cellule unique est appelée « clone » ou « population clonale ».

¹¹⁴ Nowell PC (1976) « The clonal evolution of tumor cell populations » *Science* 194(4260): 23-28.

¹¹⁵ Notons cependant que le modèle des CSC et celui de l'évolution clonale ne sont pas mutuellement exclusifs. Les CSC peuvent être soumises à une évolution clonale. C'est d'ailleurs très probablement le cas. Voir Campbell LL and Polyak K (2007) « Breast tumor heterogeneity: cancer stem cells or clonal evolution? » *Cell Cycle* 6(19): 2332-2338 ; Odoux C, Fohrer H, Hoppo T, Guzik L, Stolz DB, Lewis DW, Gollin SM, Gamblin TC, Geller DA and Lagasse E (2008) « A stochastic model for cancer stem cell origin in metastatic colon cancer » *Cancer Res* 68(17): 6932-6941 ; Barabe F, Kennedy JA, Hope KJ and Dick JE (2007) « Modeling the initiation and progression of human acute leukemia in mice » *Science* 316(5824): 600-604 ; Bonavia R, Inda MM, Cavenee WK, and Furnari FB (2011) « Heterogeneity maintenance in glioblastoma: a social network », *Cancer Res* 71(12): 4055-4060; Greaves M (2010) « Cancer stem cells: back to Darwin? » *Semin Cancer Biol* 20 (2): 65-70.

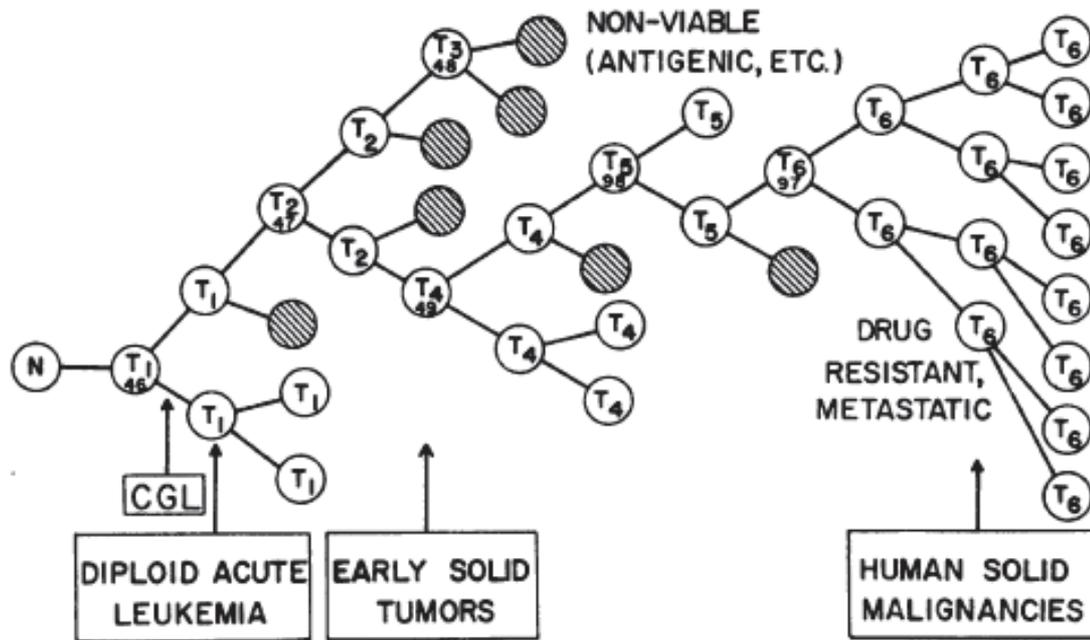


Figure 11. Le modèle de l'évolution clonale de Peter Nowell (1976)¹¹⁶. Légende d'origine : « Modèle de l'évolution clonale dans les néoplasies. Le changement induit par les carcinogènes dans les cellules normales progénitrices (N) produit une cellule tumorale diploïde (T₁, 46 chromosomes) avec un avantage de croissance permettant à l'expansion clonale de commencer. L'instabilité génétique des cellules T₁ conduit à la production de variants (illustrés par des changements dans le nombre de chromosomes, T₂ à T₆). La plupart des variants meurent, en raison d'un désavantage métabolique ou immunologique (cercles hachurés); occasionnellement, un variant a un avantage sélectif additionnel (par exemple, T₂, 47 chromosomes) et sa descendance devient la sous-population prédominante, jusqu'à ce qu'un variants plus favorable encore apparaisse (par exemple, T₄). La séquence progressive diffère dans chaque tumeur (la séquence étant partiellement déterminée par les pressions environnementales sur la sélection) et résulte en un caryotype aneuploïde différents dans chaque tumeur maligne développée (T₆). Les caractéristiques biologiques de la progression tumorale (par exemple, la perte morphologique et métabolique de la différenciation, l'invasion et la métastase, la résistance aux thérapies) sont parallèles aux stades de l'évolution génétique. Les tumeurs humaines avec un nombre de changement chromosomique minimal (une leucémie aiguë diploïde, une leucémie chronique myéloïde) sont considérées être au début de l'évolution clonale; les cancers solides humains, typiquement hautement aneuploïdes, sont considérées être à un stade tardif du processus développemental. »

¹¹⁶ Nowell PC (1976) « The clonal evolution of tumor cell populations » *Science* 194(4260): 23-28 (ici, figure 1 p. 24). « Fig. 1. Model of clonal evolution in neoplasia. Carcinogen-induced change in progenitor normal cell (N) produces a diploid tumor cell (T₁, 46 chromosomes) with growth advantage permitting clonal expansion to begin. Genetic instability of T₁ cells leads to production of variants (illustrated by changes in chromosome number, T₂ to T₆). Most variants die, due to metabolic or immunologic disadvantage (hatched circles); occasionally one has an additional selective advantage (for example, T₂, 47 chromosomes), and its progeny become the predominant subpopulation until an even more favorable variant appears (for example, T₄). The stepwise sequence in each tumor differs (being partially determined by environmental pressures on selection), and results in a different, aneuploid karyotype in each fully developed malignancy (T₆). Biological characteristics of tumor progression (for example, morphological and metabolic loss of differentiation, invasion and metastasis, resistance to therapy) parallel the stages of genetic evolution. Human tumors with minimal chromosome change (diploid acute leukemia, chronic granulocytic leukemia) are considered to be early in clonal evolution; human solid cancers, typically highly aneuploid, are viewed as late in the developmental process ».

De même, l'absence de développement de tumeurs secondaires chez des patients, en dépit de la détection de cellules cancéreuses disséminées à des sites distants de la tumeur primaire, s'explique, dans le modèle hiérarchique, par le fait que « la capacité à former de nouvelles tumeurs manque à la plupart des cellules cancéreuses, si bien que seule la dissémination des rares cellules souches cancéreuses peut conduire au développement d'une métastase cancéreuse¹¹⁷ ». En revanche, le modèle stochastique n'apporte pas d'explication à ces cellules cancéreuses disséminées non-métastatiques. D'après le modèle stochastique, toute cellule cancéreuse doit, à plus ou moins long terme, être susceptible d'initier un cancer. L'hypothèse la plus fréquemment proposée pour expliquer le caractère non-métastatique de ces cellules est celle de l'efficacité du système immunitaire : la surveillance immunitaire serait très efficace lorsqu'il s'agirait de détruire les cellules cancéreuses disséminées avant qu'elles ne forment des tumeurs détectables¹¹⁸. L'hypothèse reste cependant très controversée. De plus, la section suivante montrera qu'elle entre en conflit avec l'explication des rechutes.

La théorie des CSC permet donc d'expliquer un certain nombre de faits, en particulier le développement des cancers, la faible clonogénicité des populations de cellules cancéreuses, l'hétérogénéité des cellules qui composent la tumeur et la présence de cellules cancéreuses non-métastatiques à distance du site de la tumeur primaire. Ces mêmes faits sont, en revanche, expliqués de manière hétérogène, indépendamment les uns des autres, par la cancérologie classique. A ce titre, la théorie des CSC semble plus parcimonieuse que la cancérogenèse classique (modèle stochastique). Elle permet d'expliquer un plus grand nombre de faits à partir d'un plus petit nombre d'hypothèses et suggère, de ce fait, une unité causale¹¹⁹.

¹¹⁷ « Most cancer cells lack the ability to form a new tumour such that only the dissemination of rare cancer stem cells can lead to metastatic disease ». Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL (2001) « Stem Cells, Cancer, and Cancer Stem Cells. » *Nature* 414: 109.

¹¹⁸ « Immune surveillance is highly effective at killing disseminated cancer cells before they can form a detectable tumour ». Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL (2001) « Stem Cells, Cancer, and Cancer Stem Cells. » *Nature* 414: 110.

¹¹⁹ Pour plus de références à cet argument de parcimonie, voir par exemple : Bohl SR, Pircher A and Hilbe W (2011) « Cancer stem cells: characteristics and their potential role for new therapeutic strategies » *Onkologie* 34(5): 269-274.

2.3. Les rechutes en question

Les spécialistes des CSC soutiennent également que le modèle des CSC explique les rechutes. Je voudrais (1) montrer que ceci n'est que partiellement vrai et (2) mettre en évidence la ou les hypothèses supplémentaires nécessaires à cette explication.

2.3.1. Une hypothèse additionnelle

Lorsque la stratégie thérapeutique de ciblage des CSC a été proposée en 2001, elle reposait sur l'explication suivante des rechutes :

Il semble que les cellules souches de différents tissus ont tendance à être plus résistantes aux chimiothérapies que ne le sont les types cellulaires matures des mêmes tissus [...]. Si ceci est également vrai des cellules souches cancéreuses, alors on peut prédire que ces cellules sont plus résistantes aux chimiothérapies que les cellules tumorales ayant un potentiel prolifératif restreint. Même les thérapies qui produisent une régression complète de la tumeur peuvent épargner suffisamment de cellules souches cancéreuses pour permettre une nouvelle croissance de la tumeur¹²⁰.

Dix ans plus tard, on retrouve le même type d'explication :

Les CSC ont une importance clinique parce qu'il a été montré qu'elles sont plus résistantes aux chimiothérapies et aux radiothérapies que les autres cellules malignes. Cela peut être une caractéristique biologique issue des cellules souches qui possèdent nativement différentes stratégies pour échapper aux chimiothérapies [...]. Si les CSC sont capables d'échapper aux traitements, alors la rechute est très probable même dans les cas où peu de cellules initiatrices de tumeur auraient survécu.¹²¹

¹²⁰ « It seems that normal stem cells from various tissues tend to be more resistant to chemotherapeutics than mature cell types from the same tissues. The reasons for this are not clear, but may relate to high levels of expression of anti-apoptotic proteins or ABC transporters such as the multidrug resistance gene. If the same were true of cancer stem cells, then one would predict that these cells would be more resistant to chemotherapeutics than tumour cells with limited proliferative potential. Even therapies that cause complete regression of tumours might spare enough cancer stem cells to allow regrowth of the tumours ». Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL (2001) « Stem Cells, Cancer, and Cancer Stem Cells. » *Nature* 414: 110.

¹²¹ « CSCs are of clinical significance as it has been shown that they are more resistant to both chemotherapy and radiotherapy than other malignant. This may be a biological feature retained from normal tissue stem cells that natively possess various strategies to evade chemotherapy including cellular quiescence and the expression of proteins to eliminate drugs from the cytoplasm such as ABC transporters and MDR proteins. Indeed, this phenomenon of drug transport has been used by some groups to isolate stem cells based on the efflux of the Hoechst DNA binding dye. If CSCs are capable of evading adjuvant treatment then disease recurrence is likely where even a few tumour-initiating cells remain after therapy » Buczacki S, Davies RJ and Winton DJ (2011) « Stem cells, quiescence and rectal carcinoma: an

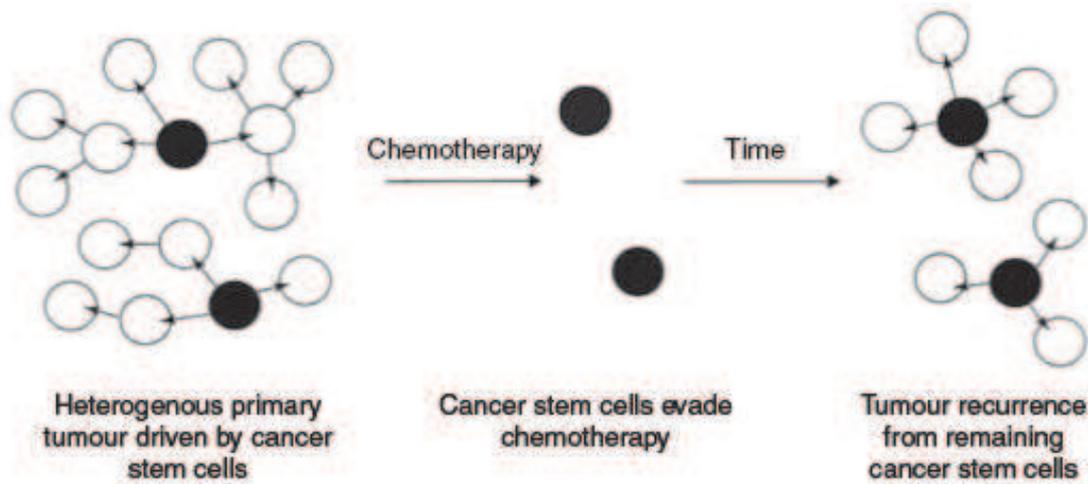


Figure 12. Explication de la rechute avec les CSC, selon Buczacki et al (2011). Légende d'origine : « L'hypothèse des CSC et la récurrence. Les CSC sont responsables du développement de la tumeur. Si les CSC, plus que les autres cellules malignes, échappent à la chimiothérapie, alors elles peuvent être responsables du rétablissement de la tumeur, se présentant sous la forme d'une rechute ou d'une métastase »¹²².

Les partisans de la théorie des CSC considèrent donc que leur modèle de cancérogenèse permet d'expliquer les rechutes par le biais de la résistance des CSC aux thérapies. La Figure 12 présente un schéma illustrant cette explication. Les CSC sont capables de survivre aux thérapies. Comme elles restent en petit nombre, elles échappent aux observations du clinicien qui conclut un état de rémission. Comme ce sont les cellules responsables de la croissance des tumeurs, elles sont capables de réinitier le cancer. Cela aboutit à une rechute.

Le processus de « rechute » fait appel à deux explications distinctes : (1) celle de la résistance de CSC aux thérapies et (2) celle de la nouvelle croissance de la tumeur. Or, si la seconde est contenue dans le modèle de cancérogenèse des CSC, ce n'est pas nécessairement le cas de la première.

L'explication de la nouvelle croissance de la tumeur repose sur les mêmes principes que ceux observés à l'occasion de l'explication du développement des cancers. Dans le modèle hiérarchique, la présence d'une seule cellule souche cancéreuse épargnée par les thérapies suffit à expliquer une rechute puisque toute CSC est capable d'initier un cancer. Si la thérapie en épargne plusieurs alors le modèle des CSC permet de prédire que la rechute

unexplored relationship and potential therapeutic target ». *Br J Cancer* 105(9): 1253-1259, ici p. 1254.

¹²² Buczacki S, Davies RJ and Winton DJ (2011) « Stem cells, quiescence and rectal carcinoma: an unexplored relationship and potential therapeutic target » *Br J Cancer* 105(9): 1253-1259 (ici, Figure 1, p. 1255). Légende : « Figure I. The CSC hypothesis and disease recurrence. CSCs are responsible for driving tumour growth. If CSCs rather than other malignant cells evade chemotherapy, then they can be responsible for re-establishing the tumour, clinically presenting as local recurrence or metastatic disease. »

est hautement probable. Au contraire, dans le modèle stochastique, la probabilité qu'une seule cellule, ou un petit groupe de cellules cancéreuses, puisse provoquer une rechute est très faible. Les données sur la clonogénicité¹²³ prédisent, soit qu'il faudrait beaucoup de cellules cancéreuses pour rendre probable la croissance d'une tumeur et donc pour rendre probable une rechute, soit que cet événement est peu probable et donc ne devrait arriver que de manière exceptionnelle. Or, (1) les rechutes sont loin d'être un phénomène exceptionnel et (2) si une grosse quantité de cellules cancéreuses résistait aux traitements (quantité nécessaire pour rendre probable la rechute), cela ne passerait pas inaperçu et ne permettrait pas de conclure à un état de rémission. Plus problématique encore, l'explication de la rechute, dans le modèle classique, entre en contradiction avec l'explication des cellules cancéreuses non-métastatiques à distance du site de la tumeur primaire. En effet, ces dernières étaient expliquées par l'efficacité du système immunitaire face à un petit nombre de cellule (voir section 2.2.2). Une telle efficacité du système immunitaire sur un petit nombre de cellules cancéreuses devrait prévenir tout risque de rechute après des traitements ayant éliminé la plus grande partie des cellules.

La partie de la rechute qui concerne la nouvelle croissance de la tumeur trouve donc une meilleure explication dans la théorie des CSC que dans la théorie classique.

La résistance, en revanche, est expliquée, dans la conception classique, par l'hypothèse de l'évolution clonale développée par Nowell, mais n'est pas directement expliquée par le modèle hiérarchique des CSC. Les explications de la résistance aux thérapies, par l'évolution clonale et par les CSC, sont représentées dans la Figure 13.

¹²³ Le chiffre exact reste flou. Les auteurs parlent de 1 à 4% pour la clonogénicité *in vivo* des cellules leucémiques déjà triées et entre 1/1000 et 1/5000 pour la clonogénicité *in vitro* des cellules de cancers du poumons, des ovaires et du cerveau. Pour une définition de la clonogénicité, voir note 113.

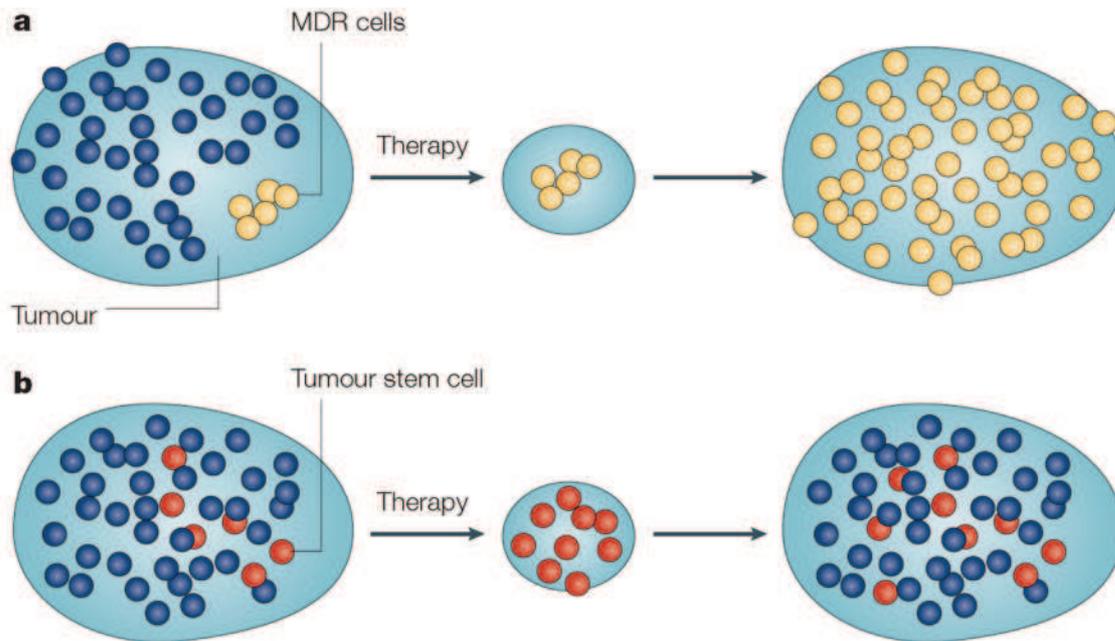


Figure 13. Explication des rechutes selon Dean *et al* (2005)¹²⁴. Légende d'origine : « **a** | Dans le modèle conventionnel de la résistance des cellules tumorales aux médicaments, de rares cellules avec des altérations génétiques conférant une polypharmacorésistance (MDR : *Multiple Drug Resistance*) forment un clone résistant aux médicaments (en jaune). Suite à la chimiothérapie, ces cellules survivent et prolifèrent, formant une nouvelle tumeur composée de la descendance du clone résistant aux médicaments. **b** | Dans le modèle des cellules souches cancéreuses, la résistance aux médicaments peut être médiée par les cellules souches. Dans ce modèle, les tumeurs contiennent une petite sous-population de cellules souches tumorales (en rouges) et leur descendance différenciée, qui sont engagées dans des voies de différenciation particulières (en bleues). A la suite de la chimiothérapie, les cellules engagées sont tuées mais les cellules souches, qui expriment des transporteurs de médicaments, survivent. Ces cellules repeuplent la tumeur, résultant en une tumeur hétérogène composée de cellules souches et de cellules filles engagées dans diverses voies de différenciation. »

Dans le modèle de l'évolution clonale, un petit groupe de cellules peut avoir acquis une ou plusieurs mutations leur ayant conféré une résistance aux thérapies¹²⁵. Le problème est ensuite d'expliquer la capacité de ces cellules à produire une rechute. Dans le modèle des CSC, l'explication offerte par les biologistes repose sur une analogie avec les cellules

¹²⁴ Dean M, Fojo T and Bates S (2005) « Tumour stem cells and drug resistance » *Nat Rev Cancer* 5(4): 275-284 (ici, Figure 2, p. 279). « Models of tumour drug resistance. **a** | In the conventional model of tumour-cell drug resistance, rare cells with genetic alterations that confer multidrug resistance (MDR) form a drugresistant clone (yellow). Following chemotherapy, these cells survive and proliferate, forming arecurrent tumour that is composed of offspring of the drug-resistant clone. **b** | In the cancer-stem-cell model, drug resistance can be mediated by stem cells. In this model, tumours contain a small population of tumour stem cells (red) and their differentiated offspring, which are committed to a particular lineage (blue). Following chemotherapy, the committed cells are killed, but the stem cells, which express drug transporters, survive. These cells repopulate the tumour, resulting in a heterogeneous tumour composed of stem cells and committed but variably differentiated offspring ».

¹²⁵ Voir : Baguley BC (2010) « Multiple drug resistance mechanisms in cancer » *Mol Biotechnol* 46(3): 308-316; Berridge MV, Herst PM and Tan AS (2010) « Metabolic flexibility and cell hierarchy in metastatic cancer » *Mitochondrion* 10(6): 584-588 et Aguirre-Ghiso JA (2006) « The problem of cancer dormancy: understanding the basic mechanisms and identifying therapeutic opportunities » *Cell Cycle* 5(16): 1740-1743.

souches. Cette analogie est justifiée par la propriété « souche », attribuée aux CSC en vertu du fait qu'elles disposent des caractéristiques essentielles à cette propriété, à savoir les capacités d'auto-renouvellement et de différenciation ($P_a \wedge P_b \Rightarrow P_s$, voir section 2.1). Néanmoins, la propriété « souche » ne suffit pas à garantir l'explication. En effet, les biologistes ne font jamais appel aux capacités d'auto-renouvellement et de différenciation des cellules souches normales et cancéreuses pour expliquer leur résistance aux thérapies. Ils font appel à une surexpression de protéines anti-apoptotiques¹²⁶, à la quiescence¹²⁷, à une capacité accrue à la réparation des dommages causés à l'ADN par les traitements¹²⁸, à une capacité d'excrétion des substances génotoxiques¹²⁹, à une localisation dans une niche hypoxique¹³⁰ ou encore à une concentration plus basse en dérivés réactifs de l'oxygène

¹²⁶ Liu G, Yuan X, Zeng Z, Tunici P, Ng H, Abdulkadir IR, Lu L, Irvin D, Black KL and Yu JS (2006) « Analysis of gene expression and chemoresistance of CD133+ cancer stem cells in glioblastoma » *Mol Cancer* 5: 67.

Hambardzumyan D, Becher OJ, Rosenblum MK, Pandolfi PP, Manova-Todorova K and Holland EC (2008) « PI3K pathway regulates survival of cancer stem cells residing in the perivascular niche following radiation in medulloblastoma in vivo » *Genes Dev* 22(4): 436-448.

¹²⁷ On pourrait me répondre que la quiescence est directement liée à la capacité des cellules souches à s'auto-renouveler. Je souhaite lever cette objection en rappelant que les données concernant le cycle cellulaire des CSC restent controversées. A titre d'exemple, les travaux de l'équipe de Michael Clarke avaient montré un cycle semblable entre les cellules cancéreuses non-souches et les CSC qui ne semblaient pas entrer en quiescence.

Pour des arguments en faveur d'une quiescence des CSC expliquant leur résistance aux thérapies, voir : Graham SM, Jorgensen HG, Allan E, Pearson C, Alcorn MJ, Richmond L and Holyoake TL (2002) « Primitive, quiescent, Philadelphia-positive stem cells from patients with chronic myeloid leukemia are insensitive to STI571 in vitro » *Blood* 99(1): 319-325 ; Holtz MS, Forman SJ and Bhatia R (2005) « Nonproliferating CML CD34+ progenitors are resistant to apoptosis induced by a wide range of proapoptotic stimuli » *Leukemia* 19(6): 1034-1041 ; Copland M, Hamilton A, Elrick LJ, Baird JW, Allan EK, Jordanides N, Barow M, Mountford JC and Holyoake TL (2006) « Dasatinib (BMS-354825) targets an earlier progenitor population than Imatinib in primary CML but does not eliminate the quiescent fraction » *Blood* 107(11): 4532-4539.

Pour les données remettant en question la quiescence des CSC, voir : Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, Morrison SJ and Clarke MF (2003) « Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells ». *Proc Natl Acad Sci USA* 100(7): 3983-3988.

¹²⁸ Bao S, Wu Q, McLendon RE, Hao Y, Shi Q, Hjelmeland AB, Dewhirst MW, Bigner DD and Rich JN (2006) « Glioma stem cells promote radioresistance by preferential activation of the DNA damage response » *Nature* 444(7120): 756-760 ; Zhang M, Atkinson RL and Rosen JM (2010) « Selective targeting of radiation-resistant tumor-initiating cells ». *Proc Natl Acad Sci USA* 107(8): 3522-3527.

¹²⁹ Hirschmann-Jax C, Foster AE, Wulf GG, Nuchtern JG, Jax TW, Gobel U, Goodell MA and Brenner MK (2004) « A distinct "side population" of cells with high drug efflux capacity in human tumor cells » *Proc Natl Acad Sci USA* 101(39): 14228-14233 ; Huss WJ, Gray DR, Greenberg NM, Mohler JL and Smith GJ (2005) « Breast cancer resistance protein-mediated efflux of androgen in putative benign and malignant prostate stem cells » *Cancer Res* 65(15): 6640-6650 ; Abbott BL (2006) « ABCG2 (BCRP): a cytoprotectant in normal and malignant stem cells. » *Clin Adv Hematol Oncol* 4(1): 63-72.

¹³⁰ Les CSC de gliome présentent un phénotype similaire à celui des cellules en contexte hypoxique. Calabrese C, Poppleton H, Kocak M, Hogg TL, Fuller C, Hamner B, Oh EY,

(ROS, pour *Reactive Oxygen Species*) qui sont des médiateurs importants de la destruction des cellules par les radiations ionisantes¹³¹. Toutes ces propriétés ont été observées dans les cellules souches normales et cancéreuses. Mais la nature des relations entre les propriétés d'auto-renouvellement et de différenciation et les propriétés de résistance des CSC reste inconnue. Or, au moins trois types de relations entre ces propriétés peuvent être envisagées :

- 1) Ces propriétés peuvent être causalement liées, c'est-à-dire que les propriétés de résistance accompagneraient nécessairement les propriétés d'auto-renouvellement et de différenciation.
- 2) Les mécanismes impliqués dans la résistance aux traitements pourraient être hérités indépendamment des propriétés d'auto-renouvellement et de différenciation si les CSC étaient des cellules souches normales devenues cancéreuses suite à des mutations.
- 3) Ces propriétés pourraient être purement contingentes. C'est ce qui a été mis en cause pour l'hypoxie¹³², par exemple. En effet, les cellules cancéreuses, indépendamment de leurs caractéristiques souches, sont susceptibles de survivre dans des niches hypoxiques et pourraient, de ce fait, échapper aux thérapies¹³³.

C'est seulement dans le cas d'un lien causal entre ces propriétés que l'on peut considérer que le modèle de cancérogenèse permet d'expliquer la résistance des CSC. Dans les deux autres cas, il est nécessaire d'ajouter au moins une hypothèse au modèle. En effet, dans le cas d'une contingence de la coexistence des propriétés permettant la résistance aux

Gaber MW, Finklestein D, Allen M, Frank A, Bayazitov IT, Zakharenko SS, Gajjar A, Davidoff A and Gilbertson RJ (2007) « A perivascular niche for brain tumor stem cells ». *Cancer Cell* 11(1): 69-82.

¹³¹ Diehn M, Cho RW, Lobo NA, Kalisky T, Dorie MJ, Kulp AN, Qian D, Lam JS, Ailles LE, Wong M, Joshua B, Kaplan MJ, Wapnir I, Dirbas FM, Somlo G, Garberoglio C, Paz B, Shen J, Lau SK, Quake SR, Brown JM, Weissman IL and Clarke MF (2009) « Association of reactive oxygen species levels and radioresistance in cancer stem cells ». *Nature* 458(7239): 780-783.

¹³² Manque d'oxygène. On appelle « niches hypoxiques » des zones où les cellules sont peu pourvues en oxygène.

¹³³ Par ailleurs, l'hypothèse de la résistance des CSC par l'hypoxie a été soumise du fait de l'observation d'un « phénotype hypoxique », mais d'une part les causes de l'expression de ce phénotype sont controversées, d'autre part des CSC aux phénotypes hypoxique ont été trouvées dans des niches périvasculaires (donc extrêmement bien pourvues en oxygène). Pour la controverse, voir : Diaz A and Leon K (2011) « Therapeutic Approaches to Target Cancer Stem Cells » *Cancers* 3: 3331-3352 (en particulier p. 3337).

Pour l'observation de CSC au phénotype hypoxique dans des niches périvasculaires, voir : Calabrese C, Poppleton H, Kocak M, Hogg TL, Fuller C, Hamner B, Oh EY, Gaber MW, Finklestein D, Allen M, Frank A, Bayazitov IT, Zakharenko SS, Gajjar A, Davidoff A and Gilbertson RJ (2007) « A perivascular niche for brain tumor stem cells » *Cancer Cell* 11(1): 69-82 et Eyler CE and Rich JN (2008) « Survival of the fittest: cancer stem cells in therapeutic resistance and angiogenesis » *J Clin Oncol* 26(17): 2839-2845.

thérapies et des propriétés d'auto-renouvellement et de différenciation, il faut, pour expliquer les rechutes, postuler d'une part que les CSC initient et maintiennent les cancers (ce qu'énonce le modèle des CSC) et d'autre part que les CSC résistent aux thérapies (ce qui représente une hypothèse supplémentaire qui doit être expliquée). Dans le cas d'une transmission héréditaire des propriétés permettant la résistance aux thérapies, il faut poser l'hypothèse que les CSC proviennent de cellules souches normales qui sont dotées de ces propriétés, en plus de l'hypothèse qu'elles initient et maintiennent les cancers. Historiquement, cette hypothèse était explicite. En effet, la première équipe à avoir apporté une preuve solide de l'existence des CSC (l'équipe du canadien John Dick) avait soutenu que ces cellules provenaient de cellules souches hématopoïétiques mutées¹³⁴. L'explication de la rechute dans l'article fondateur de 2001 s'appuyait sur cette hypothèse. Mais l'origine des CSC dans des cellules souches a fait l'objet d'un débat important. La question reste donc ouverte à une analyse expérimentale pour chaque type de cancer¹³⁵.

En l'absence de toute démonstration à l'égard du lien entre la propriété souche et la capacité d'échapper aux thérapies, l'explication des rechutes nécessite de faire appel à une nouvelle hypothèse :

- *Hypothèse 3 (H₃): les CSC échappent aux thérapies.*

L'explication de cette résistance aux thérapies est elle-même susceptible de varier en fonction de la question de l'origine des CSC.

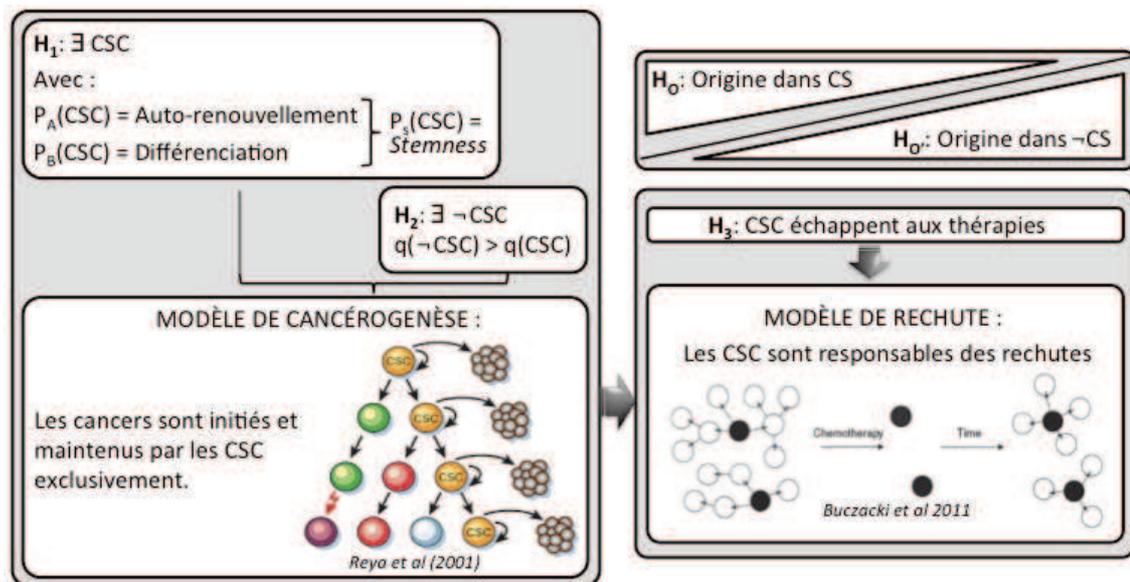


Figure 14. Schéma de l'explication des rechutes par les CSC, au sein de la théorie des CSC.

¹³⁴ Bonnet D and Dick JE (1997) « Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell ». *Nat Med* 3(7): 730-737.

¹³⁵ Le débat sur l'origine des CSC dans des cellules souches ou non-souche est analysé au chapitre 5, section 5.2.1.

2.3.2. Les CSC : cible thérapeutique ?

L'explication des rechutes par les CSC est indirectement devenue un élément majeur de la théorie des CSC. En effet, le problème des rechutes fut l'occasion, pour les biologistes, de critiquer la stratégie thérapeutique classique, d'une part, et d'en proposer une nouvelle, basée sur le ciblage des CSC, d'autre part.

La stratégie classique de traitement des cancers repose sur l'élimination de la « masse tumorale ». Cette stratégie tacite est rendue visible par les critères d'évaluation de l'efficacité des thérapies¹³⁶, appelés RECIST pour « *Response Evaluation Criteria in Solid Tumor* », qui consistent à tester « leur capacité à réduire la tumeur ». Cette stratégie est remise en cause par les spécialistes des CSC. Toute thérapie à laquelle échapperaient les CSC serait susceptible de mener à une rechute, quand bien même la thérapie aurait eu de très bons résultats en matière d'élimination de la masse tumorale. Ce critère d'évaluation ne semble pas être le bon critère et la stratégie de production de thérapies répondant à ce critère poursuit un objectif qui n'est pas le bon. Les partisans des CSC proposent donc de réévaluer l'objectif des thérapies contre le cancer et de construire ces dernières à partir d'une tout autre stratégie :

Pour guérir les cancers, il est nécessaire et suffisant de tuer
les cellules souches cancéreuses¹³⁷.

La force de cette stratégie, représentée par le schéma ci-dessous (Figure 15), repose sur la prédiction de non-rechute, c'est-à-dire de « guérison » en lieu et place de l'usuelle « rémission ». En effet, comme l'indique le schéma, les traitements classiques « qui tuent les cellules tumorales mais pas les cellules souches cancéreuses » aboutissent à une régression de la tumeur suivie d'une rechute. Au contraire, un traitement qui tuerait les cellules souches cancéreuses aboutirait à « la perte de la capacité de générer de nouvelles cellules » ce qui aurait inéluctablement pour conséquence la « dégénération » de la tumeur. La théorie des CSC offre donc l'espoir du développement de thérapies qui permettraient enfin de véritablement « guérir » les cancers¹³⁸.

¹³⁶ Therasse P, Arbuck SG, Eisenhauer EA, Wanders J, Kaplan RS, Rubinstein L, Verweij J, Van Glabbeke M, van Oosterom AT, Christian MC and Gwyther SG (2000) « New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors ». European Organization for Research and Treatment of Cancer, National Cancer Institute of the United States, National Cancer Institute of Canada. *J Natl Cancer Inst* 92(3): 205-216.

¹³⁷ « In order to cure cancer, it is necessary and sufficient to kill cancer stem cells. ». Reya T, Morrison SJ, Clarke MF and Weissman IL (2001) « Stem cells, cancer, and cancer stem cells » *Nature* 414(6859): 105-111, ici p. 110.

¹³⁸ Toutes les citations et mots entre guillemets sont issus de : Reya T, Morrison SJ, Clarke MF and Weissman IL (2001) « Stem cells, cancer, and cancer stem cells » *Nature* 414(6859): 105-111.

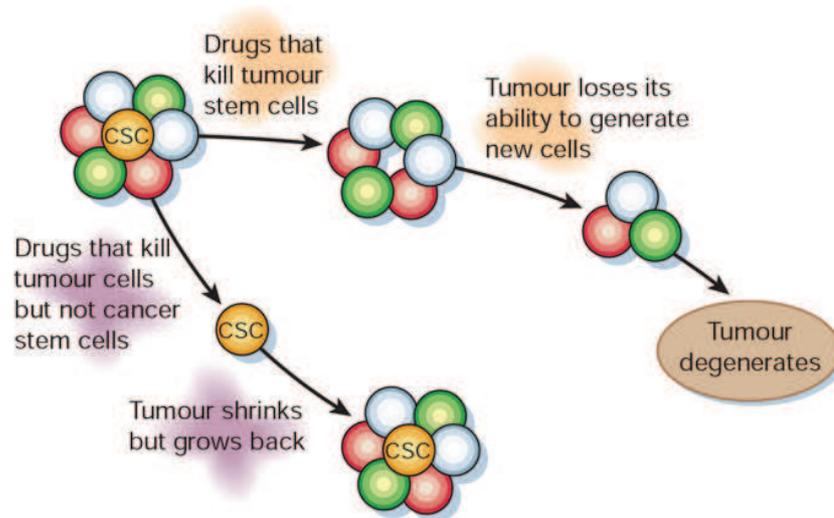


Figure 15. Explication des rechutes et proposition d'une nouvelle stratégie thérapeutique. Légende d'origine : voir Figure 6.

Le modèle thérapeutique proposé par les spécialistes des CSC repose sur l'explication de l'échec des thérapies classiques par la capacité des CSC à leur résister et à réinitier la croissance de la tumeur. Ce modèle repose donc sur les mêmes conditions de validité mises en évidence dans la section précédente, concernant les rechutes. Ces dernières impliquent à la fois le modèle de cancérogenèse des CSC et l'hypothèse de la résistance des CSC (voir Figure 16). La conséquence du recrutement de cette hypothèse est que le modèle de cancérogenèse des CSC pourrait être correct sans que le modèle thérapeutique le soit. Réciproquement, l'échec de cette stratégie thérapeutique consistant à cibler les CSC ne remettrait pas nécessairement en question la validité du modèle de cancérogenèse.

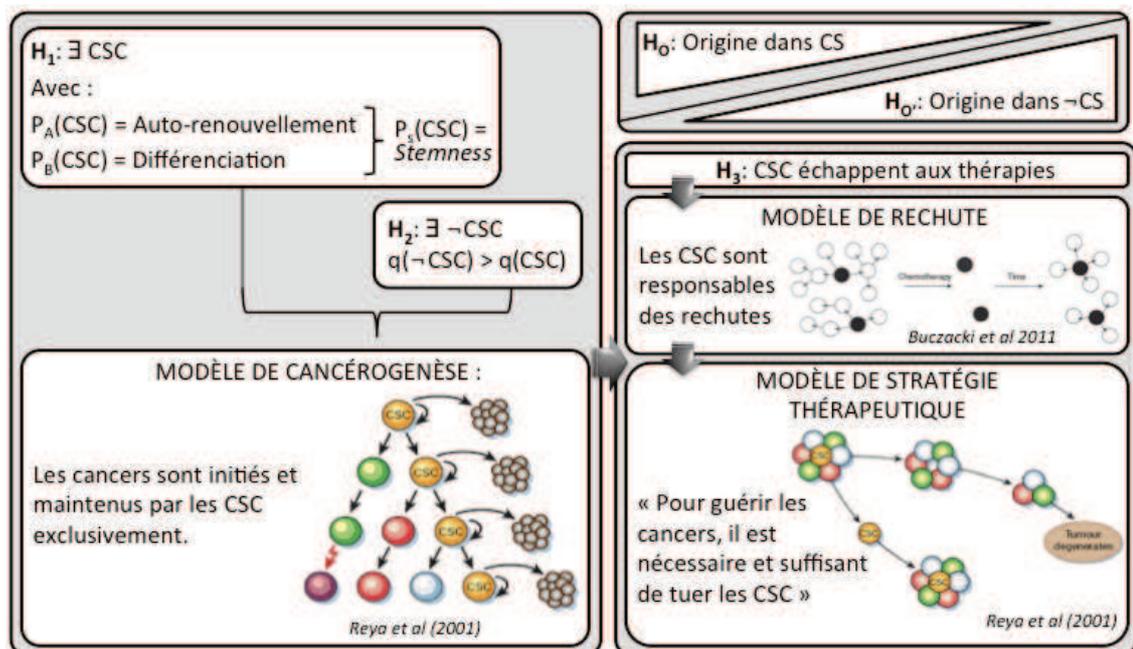


Figure 16. Représentation schématique des liens entre les modèles des CSC au sein de la théorie des CSC.

2.4. Conclusion

Le modèle de stratégie thérapeutique proposé par les partisans des CSC incite à développer des thérapies ciblées capables d'éliminer spécifiquement les CSC. Cette stratégie a été adoptée par tous les programmes de recherches de nouvelles thérapies anti-CSC décrits au chapitre 1. Ce chapitre 2 a montré que ce modèle thérapeutique repose sur un autre modèle, celui des rechutes. Le modèle des rechutes explique ces dernières par la capacité des CSC à échapper aux thérapies classiques. Il repose à la fois sur le modèle de cancérogenèse selon lequel les cancers sont initiés et maintenus par les CSC exclusivement et sur une hypothèse complémentaire selon laquelle les CSC sont capables de résister aux thérapies (voir Figure 16, pour une représentation schématique globale).

Mettre en évidence les rapports qu'entretiennent les modèles composant la théorie des CSC permet, notamment, de montrer les conditions de validité de chacun de ces modèles.

Le problème de la résistance des CSC aux thérapies a permis d'aborder la question de l'origine des CSC. Cette question pourrait être reformulée comme ceci : les CSC sont-elles des cellules souches devenues cancéreuses ou bien sont-elles des cellules cancéreuses qui ont la propriété d'être « souches » ? Cette question sera centrale dans ce travail car elle engage l'ontologie tacite de la propriété souche sur laquelle repose l'ensemble de la théorie des CSC.

2.5. *English summary*

Chapter 2 aims to analyze the theoretical and conceptual foundations of the hope to cure cancer by targeting the cancer stem cells (CSCs). The CSCs targeting strategy relies on two models – a model of cancer development and a model of cancer relapse – and on a number of hypotheses – existence of CSCs, existence of cancer non-stem cells, and resistance of CSCs to therapies. I call this combination of models and hypotheses “the cancer stem cell theory” (Annexe 1 argue in what sense we can say that it really is a theory). There are accumulating evidences in favor of the CSC theory. These are presented in Part II.

The central claim of the CSC theory is that cancers are initiated, developed and propagated exclusively by a specific sub-population of cancer cells, the so-called “cancer stem cells”. These cells are defined by a set of two properties:

(P_A) : *CSCs are able to self-renew*

(P_B) : *CSCs are able to differentiate, that is, to give rise to different kind of cancer cells.*

This set of properties is also the set by which stem cells are defined. Thus, CSCs are stem cells.

(P_S) : *CSCs are stem cells*

This central claim relies on two hypotheses:

(H_1) : *in a given cancer, some cells are CSCs.*

(H_2) : *not every cancer cells are CSCs.*

The second hypothesis is as important as the first one. Indeed, the CSC model of cancer development differs from the classical model by distinguishing two functionally different subpopulations of cancer cells. In the classical conception of carcinogenesis, reframed as the so-called “stochastic model”, all cancer cells have equivalent functional capacities for cancer development (see Figure 10 a). On the contrary, according to the CSC model, often called the “hierarchical model”, only a restricted discrete subpopulation of cancer cells share the abilities to initiate and develop cancers. These are the CSCs (see Figure 10 b). Thus, if all cancer cells were CSCs, then the major distinction between the stochastic and the hierarchical models would collapse.

The CSC hierarchical model is both powerful and parsimonious. It provides a unified set of explanations and predictions, whereas the traditional stochastic model uses *ad hoc* hypotheses. Both models explain the low clonogenicity of cancer cell populations (they were produced to explain this phenomenon). In the CSC hierarchical model, it is due to the

rarity of CSCs. In the traditional stochastic model, it is due to the low probability that a cancer cell expresses P_A and P_B . But only the CSC hierarchical model can explain both the heterogeneity of cancer cells in a given cancer and the presence of non-metastatic cancer cells at distance from the site of the primary tumor.

The production of heterogeneous populations of cancer cells is a predictable consequence of the capacity of CSCs to differentiate. Conversely, the traditional stochastic model offers no direct explanation of this heterogeneity and refers to the clonal evolution model of Nowell, according to which mutations and genomic instability (and, possibly, some processes of selection) induce differentiations (apparition of new cell lineages) in cancer (see Figure 11).

The presence of non-metastatic cells at a distance from the primary tumor is also easily explained by the CSC theory since only CSC would be metastatic. On the contrary, observation of such cells is highly problematic in the traditional model. At some point in time, they would be expected to initiate a metastasis. Thus, their existence is often explained through an *ad hoc* hypothesis according to which the immune system would be highly efficient against dispersed cancer cells, before they form detectable tumors.

Thus, the CSC theory is more parsimonious than the traditional view of cancer development. It explains more phenomena with fewer hypotheses and suggests a causal unity.

CSC theory proponents claim that their model of cancer development also explains relapses after apparently successful therapies (see note 120, note 121, and Figure 12). Relapses require accounting for:

- (1) The resistance of some cells to therapies
- (2) The regrowth.

I argue that H_1 , H_2 , and the hierarchic model only provide direct explanation for the regrowth. Regrowth is a cancer development process. As such, it can be adequately explained by the presence of CSCs, even in small numbers. By contrast, explaining the post-therapy persistence of some CSCs (i.e. resistance) requires additional hypotheses. Why would CSCs resist or escape therapies? Because stem cells do? That is the classical argument of CSC proponents. But it is a rather obscure argument. Resistance of stem cells to cancer therapies is explained by many characteristics like anti-apoptotic proteins, increased capacity for ADN damage repair, quiescence, drug efflux capacity, localization in hypoxic niches, or low concentration of ROS protein, for which experimental data are

available for both normal and cancer stem cells. But it is never explained by ability to self-renew and/or to differentiate. There is no evidence so far of a relationship between the major features of resistance and the stemness set of properties. They might be causally related, so that possession of stemness implies resistance. But they might also be unrelated, so that CSCs would possess these properties either contingently or through inheritance. In that case, at least one supplementary hypothesis should be added to the CSC theory in order to explain relapses:

(H₃): CSCs are resistant to therapies.

Notably, if CSCs are mutated/transformed stem cells, then they could inherit stem cells resistance properties. Thus, the hypothesis (H₀) that CSCs originate from stem cells can replace H₃.

(H₀): CSCs originate from stem cells.

In the traditional stochastic conception, resistance is explained by Nowell's model of clonal evolution. A small group of cells may have acquired one or more mutations conferring them resistance to therapies (see Figure 13). But the explanation of relapse is highly problematic. First, the probability that a resistant cancer cell can initiate a new growth is supposed to be low. Second, according to the explanation of non-metastatic disseminated cancer cells, the immune surveillance is supposed to be highly efficient on small cell populations. Combined together, it produces the prediction that relapse might be very uncommon, which is unfortunately not true.

If H₁, H₂ and H₃ or H₀ are true (there are major empirical arguments in favor of these hypotheses), then the CSC theory allows two predictions:

- (1) Relapses after apparently successful therapies are highly probable.
- (2) Given that relapses are due to resistance of and regrowth from CSCs, and given that CSCs are the only tumorigenic cells in cancers, elimination of every single CSC should be "necessary and sufficient" to cure cancer. A treatment that kills CSCs would lead to "the loss of the ability to generate new cells" which would inevitably result in the "degeneration" of the tumor (see Figure 15).

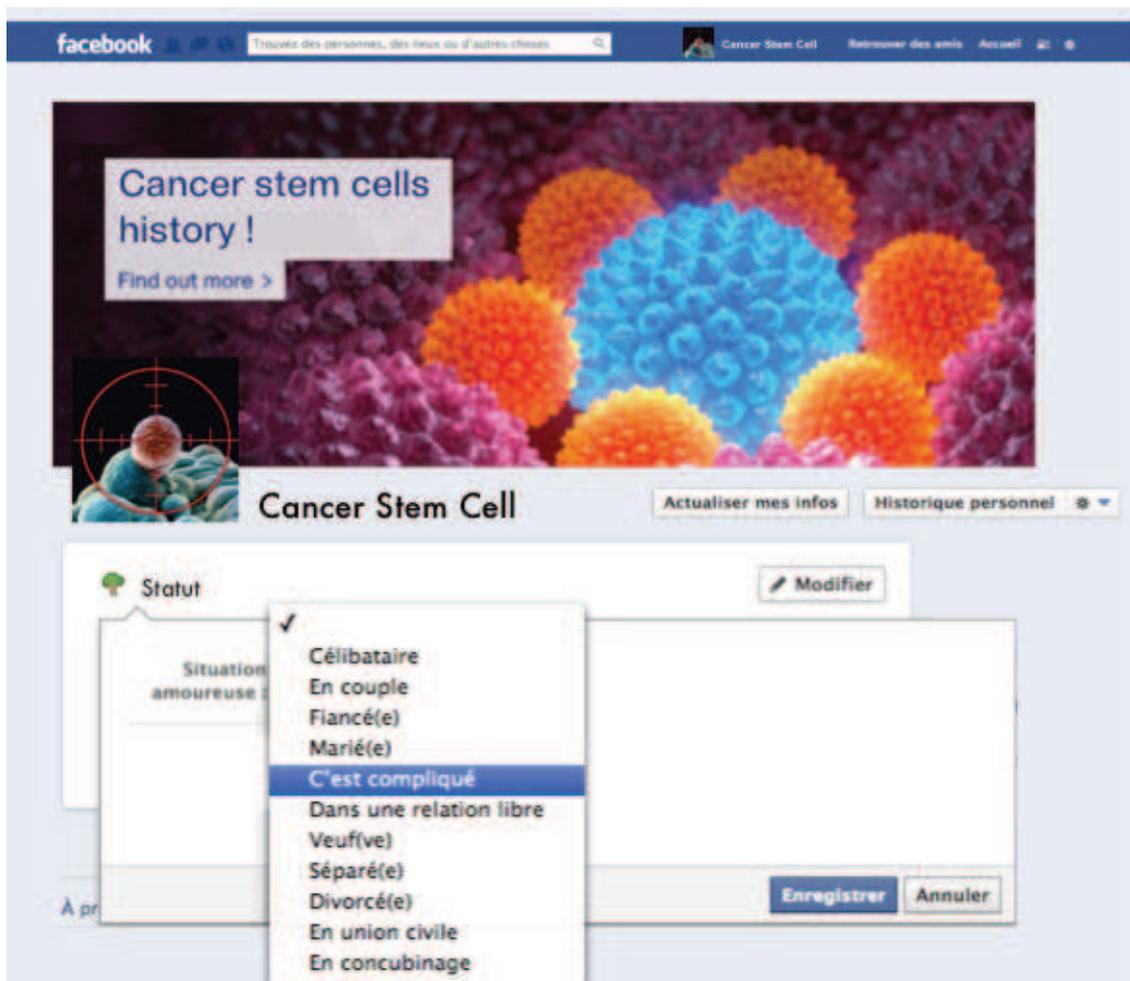
This second prediction raises powerful hopes to cure cancers, hopes that tended to be lost with the "failure" of the "war against cancer".

The model supported by the proponents of the CSC theory provides incentives to develop targeted therapies against CSCs. This is exactly what biologists, biotech and Big

Pharma try to do, as described in chapter 1. Chapter 2 highlighted the theoretical foundations of this therapeutic strategy. It relies on a model of cancer relapses that itself relies on the hierarchical model of cancer development. The model of cancer relapses involves a supplementary hypothesis (either that CSCs originate from stem cells, or that they are resistant to classical therapies). Each distinct model of the CSC theory has its own conditions of validity. The hierarchical model of cancer development might be true and the therapeutic model false. Conversely, if the therapeutic model were proven false, this would not imply that the entire CSC theory would be false. Indeed, the hierarchical model can still be true. This means that when I will argue that killing CSCs might not be sufficient to cure cancer (chapter 8), it will not necessarily entail that the entire CSC theory is erroneous.

PARTIE II

Perspective historique : les ambiguïtés de l'hypothèse de l'origine des cancers de la théorie des CSC



La première partie a présenté le concept de cellule souche cancéreuse (CSC) sur le plan théorique, son rôle au sein de la théorie des CSC et la place que ce concept occupe en cancérologie aujourd'hui. L'objectif de la partie II est de développer une perspective historique sur les bases théoriques et empiriques de la théorie des CSC.

L'histoire de leur discipline, ou sous-discipline, a une valeur et un sens particulier pour les biologistes (et les scientifiques, en général), qui se montrent soucieux d'identifier des précurseurs et de revendiquer des paternités¹³⁹. La biologie, comme d'autres sciences, s'accompagne ainsi d'une reconstruction du passé qui aide à définir le présent et les contours de l'avenir. Ce faisant, l'histoire trace des filiations conceptuelles et révèle des influences parcourant les décennies. Cette reconstruction du passé par les acteurs est utile, mais pas entièrement satisfaisante dans la mesure où elle tend à décontextualiser l'émergence des concepts et conceptions. À l'inverse, les historiens et les philosophes des sciences sont désireux de contextualiser la pratique scientifique et la production des concepts. Ils tendent à mettre l'accent sur les discontinuités, à souligner les ruptures ou les changements de paradigme¹⁴⁰. Quelle que soit la richesse de l'une ou l'autre approche, l'attention portée aux différents sens qu'à successivement pris le concept de « cellule souche », au cours de l'histoire, a occulté la complexité et les ambiguïtés du concept actuel de « cellule souche ».

Plutôt qu'une reconstruction cohérente du passé, ce chapitre vise donc à souligner la multiplicité et à l'hétérogénéité des trajectoires historiques menant à la théorie des cellules souches cancéreuses¹⁴¹. Plus précisément, l'hypothèse de l'origine des cancers dans et par un certain type de cellules (souche/embryonnaire/pluripotente/indifférenciée) a traversé l'histoire de la biologie sous des formes très variées. Je soutiens que cette

¹³⁹ Abir-Am PG (ed) (1998) *La mise en mémoire de la science : pour une ethnographie historique des rites commémoratifs*. Paris : Taylor & Francis Group.

¹⁴⁰ Sur les différentes approches de l'histoire de la biologie, voir: Jacob F (1970) *La logique du vivant : une histoire de l'hérédité*. Paris : Gallimard, en particulier pp. 18-20: « Pour un biologiste, il y a deux façons d'envisager l'histoire de sa science. On peut tout d'abord y voir la succession des idées et leur généalogie. [...] Il y a une autre manière d'envisager l'histoire de la biologie. C'est de chercher comment les objets sont devenus accessibles à l'analyse [...]. Chaque époque se caractérise par le champ du possible que définissent, non seulement les théories ou les croyances en cours, mais la nature même des objets accessibles à l'analyse, l'équipement pour les étudier, la façon de les observer et d'en parler. [...] Cette façon d'envisager l'évolution d'une science comme la biologie diffère profondément de la précédente. Il ne s'agit plus de retrouver la voie royale des idées ; de retracer la démarche assurée d'un progrès vers ce qui apparaît maintenant comme la solution [...]. Il est question au contraire de repérer les étapes du savoir, d'en préciser les transformations, de déceler les conditions qui permettent aux objets et aux interprétations d'entrer dans le champs du possible ».

¹⁴¹ Sur les trajectoires de recherches, voir : Holmes FL (2004) *Investigative Pathways: Patterns and Stages in the Careers of Experimental Scientists*. New Haven: Yale University Press.

hétérogénéité est constitutive du concept de cellule souche cancéreuse. En effet, révéler l'hétérogénéité de cette hypothèse de l'origine des cancers permet de mettre à jour les ambiguïtés actuelles de la théorie des CSC (chapitre 5).

L'histoire de la théorie des CSC a suivi deux grandes trajectoires, contenant chacune des parcours multiples. Une des deux trajectoires principales concerne essentiellement le système hématopoïétique et les leucémies (chapitre 3), l'autre concerne certains types de cancers solides (en particulier les tératocarcinomes) (chapitre 4). Dans chacune, on peut repérer des continuités et des discontinuités, que soulignent les biologistes et les historiens. Pour ma part, je voudrais mettre en évidence les points suivants :

- 1) Au sein de ces deux grandes trajectoires, l'hypothèse générale de l'origine des cancers à partir de cellules de type souche (ou équivalent) a pris des formes hétérogènes. Il s'agit d'une hypothèse très permissive, susceptible d'héberger des théories adverses.
- 2) Dans les deux cas également, l'hypothèse selon laquelle les cancers se développent *à partir de* cellules de type souche (ou équivalent) n'est généralement pas distinguée de l'hypothèse selon laquelle les cancers *proviennent de* cellules souches.

Si la théorie des cellules souches cancéreuses a permis à ces trajectoires de se rencontrer, elle n'en a pas dissout l'hétérogénéité pour autant.

Part I has presented the cancer stem cell's sociological and theoretical framework. Cancer stem cells have great importance in today oncology as they raise promising prospects for the development of new cures. It has also highlighted the power of explanations and predictions provided by the cancer stem cell theory, which explains the development of cancers, the relapses and failure of traditional therapies.

Part II develops a historical perspective on the theoretical and empirical bases of the CSC theory.

History has a certain value and meaning for scientists in general. They like to identify precursors and "founding fathers" and make strong paternity claims in their research articles. In so doing they delineate theoretical filiations and influences leading to their own contributions that are useful as a starting point for historical inquiry. However, this reconstruction of the past by the actors is not satisfactory, as it tends to decontextualize the emergence of new views or concepts. By contrast, professional historians and philosophers are keen to contextualize the production of new concepts and theories and they often emphasize discontinuities in their historical narratives. Whatever the interest of both approaches to the past, they tend to occult the complexity and ambiguities of the contemporary concept of stem cell.

Accordingly, my own historical narrative (chapters 3 and 4) tries to pay more attention to the multiple and heterogeneous research pathways that led to the hypothetical origin of cancers in and from a particular kind of cells (stem / embryonic / pluripotent / undifferentiated). I claim that these heterogeneous perspectives are constitutive of the concept of cancer stem cell. Revealing this heterogeneity will reveal the present ambiguities of the cancer stem cell theory (chapter 5).

History of the cancer stem cell theory has followed two main pathways, each containing multiple trajectories. One research pathway is focused on hematopoiesis and blood cancers (chapter 3). The second one is concerned with solid cancers (in particular teratocarcinomas) (chapter 4). In each of them, biologists and historians have identified continuities and discontinuities. My own historical survey is meant to highlight the following points:

- 1) In the two main pathways, one finds the general hypothesis that cancers originated from stem cells (or equivalent types of cells), which is roughly the core idea of the hierarchical model of development of cancers in the CSC theory.*
- 2) In both cases, this general hypothesis nevertheless takes heterogeneous forms. Such is the heterogeneity of this hypothesis that it may even be framed in by rival theoretical frameworks.*
- 3) In both cases, the hypothesis that cancers originate from stem cells is undifferentiated from the hypothesis that cancers originate from stem cells.*

The cancer stem cell concept makes all these historical trajectories meet without dissolving heterogeneity so far.

CHAPITRE 3. Cellules souches hématopoïétiques et leucémiques

Le modèle central du développement des cancers proposé par la théorie des CSC est le modèle dit « hiérarchique ». D'après ce modèle, les cancers sont initiés et maintenus par des cellules souches cancéreuses exclusivement (voir chapitre 2). Cette idée n'est pas nouvelle. Elle a émergé à plusieurs reprises, dans des contextes distincts, comme une solution possible à différents problèmes. Je m'intéresserai à la fois à l'unité, c'est-à-dire à la persistance de l'hypothèse générale de l'origine des cancers dans et par des cellules souches, et à l'hétérogénéité des formes particulières que cette hypothèse a pu prendre. D'autre part, ce chapitre portera une attention particulière à l'égard des conditions expérimentales, sur lesquelles repose cette hypothèse, dont les limites seront discutées aux chapitres 5 et 6.

Parmi les trajectoires constitutives de cette hypothèse de l'origine des cancers dans et par des cellules souches, deux grands ensembles se détachent : d'un côté les recherches sur le système hématopoïétique et les leucémies (cancers du sang), de l'autre les recherches en embryologie et sur les cancers solides, notamment les tératocarcinomes. Le chapitre 3 examine le premier ensemble. Le second fera l'objet du chapitre 4.

Dans le domaine des recherches sur le système hématopoïétique sain et cancéreux, la seconde moitié du XX^e siècle est traversée par trois trajectoires de recherches distinctes dans lesquelles l'hypothèse de l'origine des cancers dans et par des cellules souches fut présente :

- 1) L'hypothèse des cellules souches dans le contexte du débat sur l'origine clonale (dans une seule cellule) ou multicellulaire (dans plusieurs cellules) des cancers (section 3.1).
- 2) L'hypothèse des cellules souches dans le contexte des études sur la division cellulaire dans le cancer (section 3.2).
- 3) L'hypothèse des cellules souches dans le contexte du développement de la transplantation de moelle osseuse (section 3.3).

L'étude de ces trajectoires mène chaque fois à des interrogations sur la notion de cellule souche. La troisième trajectoire est celle qui mène à la première mise en évidence du modèle de cancérogenèse des CSC et de l'existence de CSC dans certaines leucémies (section 3.3.2). Le système expérimental de mise en évidence des cellules souches adultes normales ou cancéreuses repose toujours aujourd'hui sur ces technologies. Les limites de ce

système expérimental, en particulier la manière dont il interfère avec les résultats, seront examinées au chapitre 5.

3.1. L'hypothèse de l'origine des cancers dans et par des cellules souches dans le contexte du débat sur l'origine clonale ou multicellulaire des cancers

Au milieu du XX^e siècle, les recherches sur les cancers étaient agitées par un débat concernant l'origine des cancers. Les cancers proviennent-ils de la transformation d'une ou plusieurs cellules ? Deux hypothèses s'affrontaient. Selon l'hypothèse de l'origine « clonale », les cancers se développeraient à partir d'une seule cellule. Ils formeraient ce qu'on appelle un « clone » ou une « population clonale », pour désigner le fait que toutes les cellules d'un cancer proviennent d'une seule et même « cellule mère ». Selon l'hypothèse multicellulaire, les cancers proviendraient de la transformation de plusieurs cellules.

Ce débat a conduit, dans les années 1970, à la co-découverte de cellules souches communes aux différentes lignées cellulaires normales et cancéreuses du système hématopoïétique. Je montrerai que la notion de cellule souche y est pour le moins ambiguë concernant son « référent », c'est-à-dire concernant les cellules auxquelles elle fait référence.

3.1.1. Origine clonale et explication de l'hétérogénéité des cellules cancéreuses

L'hypothèse selon laquelle les cancers seraient initiés par des cellules cancéreuses de type souche a été suggérée pour les leucémies dès les années 1970, à l'issue d'une controverse portant sur l'origine des cancers¹⁴². La question de l'origine clonale ou multicellulaire des cancers, a émergé suite aux travaux de cytologie menés pendant toute la première moitié du XX^e siècle. L'étude des chromosomes, rendue possible par la photomicrographie et le dessin en chambre claire, a abouti, dans les années 1950, à l'observation d'une variation dans le nombre de chromosomes contenus par les cellules cancéreuses. Cette observation soulevait immédiatement la question de l'origine des

¹⁴² Notons que cette controverse a occupé une place importante en cancérologie parce qu'elle était liée à une autre question cruciale, celle de l'étiologie des cancers (mutation ? virus ? hérédité ? etc.). « One would expect a cancer that arises from a rare event like a "spontaneous" somatic mutation to have a clonal (single cell) origin. On the other hand, a multicellular origin would be anticipated if a neoplasm arose primarily as the result of an oncogenic virus that was highly infectious on a cellular level ». Fialkow PJ (1979) « Clonal Origin of Human Tumors. » *Ann. Rev. Med* 30: 135-143 (ici p. 135).

cancers : l'hétérogénéité chromosomique entre les cellules est-elle le fruit d'un processus évolutif ? Ou bien ces différences étaient-elles présentes dès l'origine des cancers ? Si elles étaient là dès l'origine, cela implique que le nombre de cellules à l'origine du développement des cancers est au moins égal au nombre de cellules aux caryotypes distincts que l'on peut observer¹⁴³. Plusieurs techniques ont été utilisées pour tenter de répondre à la question du développement à partir d'une ou plusieurs cellules, en particulier l'observation du chromosome de Philadelphie¹⁴⁴, la monosomie 7 et la trisomie 8¹⁴⁵, la forme enzymatique de la G-6-PD¹⁴⁶ et les réarrangements de la chaîne lourde de

¹⁴³ Voir par exemple : Sato H (1952) « On the Chromosomes of Yoshida Sarcoma; Studies with Tumor Cells Proliferated in the Peritoneal Cavity of the Rat Transplanted with a Single Cell ». *Gan* 43(1): 1-16, en particulier p. 1 : « In view of the fact that the number of chromosomes of Yoshida sarcoma cells is not fixed, there arise the question: whether the tumor is a population of various strains of cells which have respective fixed numbers large or small, of chromosomes, or the number of chromosomes of the tumor cells is generally changeable according to varying conditions » ; Makino S and Kano K (1953) « Cytological Studies of Tumors. IX. Characteristic Chromosome Individuality in Tumor Strain-Cells in Ascites Tumors of Rats. » *J Natl Cancer Inst* 13(5): 1213-1235, en particulier p. 1221 : « The occurrence of two types of tumor strain-cells with different chromosome complements in the MTK-sarcoma I and of five types of such cells in the Hirosaki sarcoma is of special interest in connection with transformation in tissue cells into malignant cells [...]. This fact implies that mutational change in the chromosome might have taken place independently in at least two different cells in the MTK-sarcoma I, and in five cells in the Hirosaki sarcoma » ; Makino S (1952) « A cytological study of the Yoshida sarcoma, an ascites tumor of white rats ». *Chromosoma* 4(7): 649-674 ; Makino S (1956) « Further evidence favoring the concept of the stem cell in ascites tumors of rats ». *Ann N Y Acad Sci* 63(5): 818-830.

Makino S (1959) « The role of tumor stem-cells in regrowth of the tumor following drastic applications ». *Acta Unio Internationalis Contra Cancrum* 15(1): 196-198.

¹⁴⁴ Le chromosome de Philadelphie désigne le chromosome 22 ayant subi une translocation avec le chromosome 9. Cette translocation est caractéristique des leucémies myéloïdes chroniques. Elle est facilement repérable car le chromosome 22 perd 40% de sa taille et devient très petit.

Pour des exemples d'études de l'origine clonale ou multicellulaire des cancers par l'observation du chromosome de Philadelphie, voir : Tough IM, Jacobs PA, Court Brown WM, Baikie AG and Williamson ER (1963) « Cytogenetic studies on bone-marrow in chronic myeloid leukaemia ». *Lancet* 1(7286): 844-846 ; Rastrick JM (1969) « A method for the positive identification of erythropoietic cells in chromosome preparations of bone marrow ». *Br J Haematol* 16(1): 185-191 ; Whang J, Frei E, 3rd, Tjio JH, Carbone PP and Brecher G (1963) « The Distribution of the Philadelphia Chromosome in Patients with Chronic Myelogenous Leukemia ». *Blood* 22: 664-673.

¹⁴⁵ La perte d'un chromosome 7 (monosomie) et la présence d'un troisième chromosome 8 (trisomie) sont observables dans certaines leucémies. Voir, par exemple : Keinanen M, Griffin JD, Bloomfield CD, Machnicki J and de la Chapelle A (1988) « Clonal chromosomal abnormalities showing multiple-cell-lineage involvement in acute myeloid leukemia ». *N Engl J Med* 318(18): 1153-1158.

¹⁴⁶ La G-6-PD (glucose-6-phosphate-déhydrogénase) est une enzyme qui existe sous plusieurs formes. Elle est produite à partir d'un gène porté par le chromosome X. De ce fait, tous les individus XX hétérozygotes sont porteurs d'un mosaïsme naturel qui permet de suivre les lignées cellulaires parce que les gènes de l'un des deux chromosomes de chaque paire sont inactivés aléatoirement au début du développement (principe de Lyon).

l'immunoglobuline¹⁴⁷ ou encore d'ADN recombinants¹⁴⁸. Toutes ces techniques répondent de la même méthode : identifier un marqueur permettant de suivre des lignées cellulaires.

Un néoplasme qui a une origine clonale commence, par définition, dans une cellule (une cellule A, par exemple) et par conséquent toutes les cellules de cette tumeur seront de type (A) en tant que descendantes de l'unique cellule progénitrice A. Si, au contraire, une tumeur s'avère contenir des cellules néoplasiques de type A et de type B, alors elle doit avoir une origine multicellulaire¹⁴⁹.

Ces recherches ont abouti à la démonstration de l'origine clonale (c'est-à-dire dans une seule cellule) de certains cancers (en particulier de leucémies) car les observations montrent la présence de ces différents marqueurs de manière homogène dans toutes les

Pour des exemples d'études, voir : Linder D and Gartler SM (1965) « Glucose-6-phosphate dehydrogenase mosaicism: utilization as a cell marker in the study of leiomyomas ». *Science* 150(692): 67-69 ; Gartler SM, Ziprkowski L, Krakowski A, Ezra R, Szeinberg A and Adam A (1966) « Glucose-6-phosphate dehydrogenase mosaicism as a tracer in the study of hereditary multiple trichoepithelioma ». *Am J Hum Genet* 18(3): 282-287 ; Linder D and Gartler SM (1967) « Problem of single cell versus multicell origin of a tumor ». *Proceedings of the Fifth Berkeley Symposium on Mathematical Statistics and Probability* 4: 625-633 ; Murray RF, Hobbs J and Payne B (1971) « Possible clonal origin of common warts (*Verruca vulgaris*) ». *Nature* 232(5305): 51-52; Fialkow PJ, Denman AM, Jacobson RJ and Lowenthal MN (1978) « Chronic myelocytic leukemia. Origin of some lymphocytes from leukemic stem cells ». *J Clin Invest* 62(4): 815-823 ; Jacobson RJ, Salo A and Fialkow PJ (1978) « Agnogenic myeloid metaplasia: a clonal proliferation of hematopoietic stem cells with secondary myelofibrosis ». *Blood* 51(2): 189-194.

¹⁴⁷ Les immunoglobulines sont des petites protéines (souvent) de surface qui existent sous différentes formes permettant, dans les cancers, d'examiner la clonalité des cellules, c'est-à-dire leur origine commune. Fialkow PJ, Klein E, Klein G, Clifford P and Singh S (1973) « Immunoglobulin and glucose-6-phosphate dehydrogenase as markers of cellular origin in Burkitt lymphoma ». *J Exp Med* 138(1): 89-102 ; Thiel E, Rodt H, Huhn D and Thierfelder S (1976) « Decrease and altered distribution of human T antigen on chronic lymphatic leukemia cells of T type, suggesting a clonal origin ». *Blood* 47(5): 723-736 et Thiel E, Dormer P, Rodt H, Huhn D, Bauchinger M, Kley HP and Thierfelder S (1977) « Quantitation of T-antigenic sites and Ig-determinants on leukemic cells by microphotometric immunautoradiography. Proof of the clonal origin of thymus-derived lymphocytic leukemias ». *Haematol Blood Transfus* 20: 131-145.

Wetter O, Delbruck H and Linder KH (1978) « Surface markers on peripheral blood lymphocytes of patients with follicular lymphoma suggesting a clonal origin ». *Klin Wochenschr* 56(8): 415-419 ; Kubagawa H, Vogler LB, Capra JD, Conrad ME, Lawton AR and Cooper MD (1979) « Studies on the clonal origin of multiple myeloma. Use of individually specific (idiotype) antibodies to trace the oncogenic event to its earliest point of expression in B-cell differentiation ». *J Exp Med* 150(4): 792-807.

¹⁴⁸ Fearon ER, Burke PJ, Schiffer CA, Zehnbauser BA and Vogelstein B (1986) « Differentiation of leukemia cells to polymorphonuclear leukocytes in patients with acute nonlymphocytic leukemia ». *N Engl J Med* 315(1): 15-24.

¹⁴⁹ « A neoplasm that has a clonal origin begins, by definition, in one cell (e.g. in an A cell), and thus all cells in that tumor will have one type (A) as descendants of the one A progenitor cell. If, in contrast, a tumor is found to contain neoplastic cells of both A and B types, it must have had a multicellular origin ». Fialkow PJ (1979) « Clonal Origin of Human Tumors. » *Ann. Rev. Med* 30: 135-143 (ici p. 135).

cellules cancéreuses¹⁵⁰. Mais cette démonstration a soulevé une nouvelle question : comment expliquer l'hétérogénéité des cellules qui composent ces cancers ? Trois hypothèses ont été proposées. Une première était qu'une « tumeur maligne en développement pourrait incorporer des éléments provenant d'autres lésions et ainsi devenir « hétérogène » »¹⁵¹. Mais les résultats obtenus, en particulier par les études de la G-6-PD, la rendaient peu plausible¹⁵². Une autre hypothèse, qui a eu un grand succès, est celle de l'instabilité génétique, développée par Peter Nowell en 1976¹⁵³. Ce modèle expliquait l'hétérogénéité par l'accumulation de mutations (voir chapitre 2, section 2.2.2). Enfin, la troisième hypothèse développée fut celle d'une origine dans les cellules souches. Cette hypothèse consistait à expliquer l'hétérogénéité des cellules cancéreuses par les capacités intrinsèques de la cellule d'origine (le « progéniteur cancéreux ») à produire ces types cellulaires. Une explication donc semblable à celle du modèle de cancérogenèse par la théorie des CSC.

Pour bien comprendre l'émergence de cette explication, qui a été rétrospective, il faut indiquer que les travaux cités montrant une origine clonale des leucémies avaient eu des retentissements importants pour les recherches sur le système hématopoïétique. En effet, à la même époque, une question similaire à celle de l'origine clonale ou multicellulaire des cancers préoccupait les spécialistes du système hématopoïétique : les différentes cellules du sang proviennent-elles toutes d'un progéniteur commun (une cellule souche hématopoïétique)¹⁵⁴ ? Or, les observations de caryotypes (nombre de chromosomes, chromosome de Philadelphie, monosomie 7 et trisomie 8)¹⁵⁵ et les marqueurs permettant

¹⁵⁰ Pour des exemples d'études dans les cancers solides, voir Stich HF and Emson HE (1959) « Aneuploid deoxyribonucleic acid content of human carcinomas ». *Nature* 184(Suppl 5): 290-291; Stich HF and Steele HD (1962) « DNA content of tumor cells. III. Mosaic composition of sarcomas and carcinomas in man ». *J Natl Cancer Inst* 28: 1207-1218.

¹⁵¹ « Thus, a developing malignancy could incorporate elements from other lesions, and hence become 'heterogeneous' ». Heppner GH and Miller BE (1983) « Tumor heterogeneity: biological implications and therapeutic consequences » *Cancer Metastasis Reviews* 2: 5-23 (ici p. 9).

¹⁵² En effet, de telles incorporations de cellules devraient introduire des lignées variées quand à la G-6-PD. Or les observations montraient au contraire une homogénéité de la forme enzymatique de la G-6-PD.

¹⁵³ Nowell PC (1976) « The clonal evolution of tumor cell populations ». *Science* 194(4260): 23-28.

¹⁵⁴ Voir Le Douarin N (2007) *Cellules souches porteuses d'immortalité*. Paris: Odile Jacob, p. 193 ; Lichtman MA (2001) « The stem cell in the pathogenesis and treatment of myelogenous leukemia: a perspective ». *Leukemia* 15(10): 1489-1494.

¹⁵⁵ À la fin des années 50, David Barnes et ses collègues avaient, par exemple, tiré de ces études l'idée d'induire des mutations pour mettre en évidence l'existence de cellules souches communes aux différentes lignées cellulaires composant le système hématopoïétique. Barnes DWH, Ford CE, Gray SM, Loutit JF (1959) « Spontaneous and induced changes in cell

le suivi des lignées cellulaires (telles que la G-6-PD et l'immunoglobuline)¹⁵⁶ montraient que des types cellulaires hétérogènes, notamment des granulocytes¹⁵⁷, des érythrocytes¹⁵⁸ et des mégacaryocytes¹⁵⁹ dans les leucémies myéloïdes chroniques provenaient d'une même cellule¹⁶⁰. Les cancérologues comme les hématologues pouvaient en déduire l'existence d'un progéniteur commun qu'ils appelaient « cellules souches ».

En plus d'indiquer une origine clonale pour ce cancer, nos résultats apportent un support important à l'hypothèse selon laquelle les érythrocytes et les granulocytes proviennent de cellules souches communes¹⁶¹.

Ces résultats ont donné lieu à une enquête approfondie de la capacité de différenciation des cellules leucémiques, non-seulement en granulocytes¹⁶², érythrocytes¹⁶³

populations in heavily irradiated mice ». *Progress in Nuclear Energy - Biological sciences*. Series 6(2): 1-10. Voir aussi Barnes DWH, Ford CE, Gray SM, Loutit JF (1958) « Spontaneous and induced changes in cell populations in heavily irradiated mice » *Proceedings of the Second United Nations International Conference on the Peaceful Uses of Atomic Energy* 23: 10-16.

Pour le chromosome de Philadelphie, voir : Tough IM, Jacobs PA, Court Brown WM, Baikie AG and Williamson ER (1963) « Cytogenetic studies on bone-marrow in chronic myeloid leukaemia ». *Lancet* 1(7286): 844-846, en particulier p. 846 : « It seems likely, therefore, that erythrocytes, granulocytes, and megakaryocytes are derived from a common ancestral cell, and that as far as Ph¹ +ve cases of chronic myeloid leukaemia are concerned, the abnormal chromosome presumably originates in such a cell or cells » ou Rastrick JM (1969) « A method for the positive identification of erythropoietic cells in chromosome preparations of bone marrow ». *Br J Haematol* 16(1): 185-191, en particulier p. 190 : « It is reasonable on the basis of all evidence to postulate the derivation of the erythroid and myeloid cell series from a common stem cell. There is also evidence suggesting that megakaryocytic cell series may share this precursor with the erythroid and myeloid cell lines ».

¹⁵⁶ Pour la G-6-PD, voir par exemple : Linder D and Gartler SM (1965) « Glucose-6-phosphate dehydrogenase mosaicism: utilization as a cell marker in the study of leiomyomas » *Science* 150(692): 67-69 ;

Pour l'immunoglobuline, voir par exemple : Fialkow PJ, Klein E, Klein G, Clifford P and Singh S (1973) « Immunoglobulin and glucose-6-phosphate dehydrogenase as markers of cellular origin in Burkitt lymphoma » *J Exp Med* 138(1): 89-102.

¹⁵⁷ Les granulocytes sont des globules blancs.

¹⁵⁸ Ce sont les globules rouges. On parle parfois d'hématies.

¹⁵⁹ Ce sont de larges cellules présentes dans la moelle osseuse qui, en se fragmentant, donnent les plaquettes sanguines (ou thrombocytes).

¹⁶⁰ Tough IM, Jacobs PA, Court Brown WM, Baikie AG and Williamson ER (1963) « Cytogenetic studies on bone-marrow in chronic myeloid leukaemia ». *Lancet* 1(7286): 844-846. Whang J, Frei E, 3rd, Tjio JH, Carbone PP and Brecher G (1963) « The Distribution of the Philadelphia Chromosome in Patients with Chronic Myelogenous Leukemia ». *Blood* 22: 664-673.

Fialkow PJ, Gartler SM and Yoshida A (1967) « Clonal origin of chronic myelocytic leukemia in man ». *Proc Natl Acad Sci USA* 58(4): 1468-1471.

¹⁶¹ « In addition to indicating a clonal origin of this malignancy, our results provide strong support for the hypothesis that erythrocytes and granulocytes have a common stem cell » Fialkow PJ, Gartler SM and Yoshida A (1967) « Clonal origin of chronic myelocytic leukemia in man ». *Proc Natl Acad Sci USA* 58(4): 1468-1471.

¹⁶² Voir par exemple : Whang J, Frei E, 3rd, Tjio JH, Carbone PP and Brecher G (1963) « The Distribution of the Philadelphia Chromosome in Patients with Chronic Myelogenous

et mégacaryocytes¹⁶⁴, mais aussi en lymphocytes B et T du système immunitaire¹⁶⁵. L'enquête a même été poussée jusqu'aux fibroblastes¹⁶⁶. Ceci a mené Philippe Fialkow¹⁶⁷ et son équipe à distinguer plusieurs types de cellules souches, notamment les « cellules souches myéloïdes » et les « cellules souches leucémiques » également dites « pluripotentes ».

La plupart des études des leucémies chroniques à la G-6-PD ont montré qu'elles provenaient de cellules souches pluripotentes [...]. Il y a une exception, celle de la LLC [leucémie lymphoïde chronique] qui est exprimée dans les cellules dont la différenciation est restreinte à la lignée des lymphocytes B. Les études de la G-6-PD dans les LMC [leucémies myéloïdes chroniques] donnent des preuves en faveur à la fois de l'existence d'une cellule souche multipotente pour les systèmes lymphoïdes et myéloïdes chez l'homme et de l'existence de cellules souches

Leukemia ». *Blood* 22: 664-673 ; Fearon ER, Burke PJ, Schiffer CA, Zehnbauser BA and Vogelstein B (1986) « Differentiation of leukemia cells to polymorphonuclear leukocytes in patients with acute nonlymphocytic leukemia ». *N Engl J Med* 315(1): 15-24.

¹⁶³ Voir par exemple : Blackstock AM and Garson OM (1974) « Direct evidence for involvement of erythroid cells in acute myeloblastic leukaemia ». *Lancet* 2(7890): 1178-1179 ; Clein GP and Flemans RJ (1966) « Involvement of the erythroid series in blastic crisis of chronic myeloid leukaemia. Further evidence for the presence of Philadelphia chromosome in erythroblasts » *Br J Haematol* 12(6): 754-758; Trujillo JM and Ohno S (1963) « Chromosomal alteration of erythropoietic cells in chronic myeloid leukemia ». *Acta Haematol* 29: 311-316.

¹⁶⁴ Voir par exemple : Tough IM, Jacobs PA, Court Brown WM, Baikie AG and Williamson ER (1963) « Cytogenetic studies on bone-marrow in chronic myeloid leukaemia ». *Lancet* 1(7286): 844-846.

¹⁶⁵ Voir par exemple : Fialkow PJ, Jacobson RJ and Papayannopoulou T (1977) « Chronic myelocytic leukemia: clonal origin in a stem cell common to the granulocyte, erythrocyte, platelet and monocyte/macrophage ». *Am J Med* 63(1): 125-130.

¹⁶⁶ Les fibroblastes sont les cellules qui constituent les tissus conjonctifs. On parle parfois de cellules « de soutien ». La question de l'origine des fibroblastes depuis la cellule souche de LMC était très débattue. Plusieurs études avaient obtenu des données contradictoires : Hentel et Hirschhorn, en particulier, avaient observé la présence de fibroblastes de la moelle osseuse porteurs de la translocation t(9;22) alors que d'autres au contraire n'avaient jamais retrouvé le chromosome de Philadelphie dans les fibroblastes de la moelle des patients atteints de LMC. Voir Hentel J and Hirschhorn K (1971) « The origin of some bone marrow fibroblasts ». *Blood* 38(1): 81-86 et De la Chapelle A, Vuopio P and Borgstrom GH (1973) « The origin of bone marrow fibroblasts ». *Blood* 41(6): 783-787 pour un exemple contraire. On sait aujourd'hui que les fibroblastes proviennent des cellules souches mésenchymateuses et non hématopoïétiques.

¹⁶⁷ La mort prématurée de Philip Fialkow (1937-1996) a donné lieu à un symposium intitulé « Clonal origin of leukemia – revisited. A tribute to Philip J Fialkow » lors du congrès annuel de l'*American Society of Hematology* puis à un ensemble de publications dans la revue *Leukemia* dont une revue historique : Raskind WH, Steinmann L and Najfeld V (1998) « Clonal development of myeloproliferative disorders: clues to hematopoietic differentiation and multistep pathogenesis of cancer ». *Leukemia* 12(2): 108-116. Voir aussi l'éditorial : Najfeld V (1998) « Clonal origin of leukemia – revisited. A tribute to Philip J Fialkow, MD ». *Leukemia* 12(2): 106-107.

restreintes engagées dans la différenciation en cellules myéloïdes uniquement ou en lymphocytes T.¹⁶⁸

Ceci semble être la première apparition du concept de cellules souches cancéreuses pour un type de cancer particulier (les leucémies) dans son sens moderne (une cellule à la fois souche et cancéreuse). La notion de cellule souche, pourtant, est ambiguë. En effet, dans la citation de Philip Fialkow ci-dessus, le concept de cellule souche peut faire référence, à la fois aux cellules multipotentes capables de donner les cellules des lignées lymphoïdes et myéloïdes du système hématopoïétique, et aux cellules déjà engagées dans une voie de différenciation, capables, par exemple, de donner uniquement des cellules myéloïdes, voire des cellules largement engagées dans la différenciation, capables de se différencier uniquement en lymphocytes T.

3.1.2. A quoi fait référence le concept de cellule souche ?

Bien que la notion de cellule souche ait plus d'un siècle¹⁶⁹, la classification précise qui permet aujourd'hui de distinguer, d'une part, les cellules souches des progéniteurs et, d'autre part, les différents types de cellules souches (totipotentes, pluripotentes, multipotentes et unipotentes), est récente. Dans les années 1970, plusieurs distinctions avaient été proposées et débattues, notamment celle entre « cellules souches dépendantes »

¹⁶⁸ Fialkow PJ (1980) « Clonal and Stem Cell Origin of Blood Cell Neoplasms », pp. 1-46. In Lobue J, Gordon AS, Silber R and Muggia FM (eds), *Contemporary Hematology and Oncology*. Vol.1, New York: Plenum, p. 31.

¹⁶⁹ La notion de cellules souches remonterait à Ernest Hæckel selon certains historiens et biologistes. Ramalho-Santos M and Willenbring H (2007) « On the Origin of the Term « Stem Cell » » *Cell Stem Cell* 1(1): 35-38 et Maehle A-H (2011) « Ambiguous cells: the emergence of the stem cell concept in the nineteenth and twentieth centuries » *Notes Rec. R. Soc.* 65: 359-378. Voir Haeckel E (1877) *Anthropogenie oder Entwicklungsgeschichte des Menschen*, 3rd edn, Leipzig : Wilhelm Engelmann, en particulier p. 144 et alentours.

Concernant le système hématopoïétique, on trouve la notion de cellule souche comme précurseur commun à différentes lignées cellulaires dès la fin du XIX^e siècle et début XX^e. Voir Pappenheim A (1896) « Ueber Entwicklung und Ausbildung der Erythroblasten » *Virchows Arch. Pathol. Anat.* 145: 587-643. Il est notable que Pappenheim utilise également la notion de cellule souche dans ses travaux sur les leucémies. Voir Pappenheim A (1907) « Zwei Fälle akuter grosslymphozytärer Leukämie » *Fol. Haematol.* 4: 301-308.

Voir aussi Dantschakoff W (1908) « Untersuchungen über die Entwicklung des Blutes und Bindegewebes bei den Vögeln » *Anat. Hefte* 37: 471-589 ; ou en anglais : Danchakoff V (1916) « The Differentiation of Cells as a Criterion for Cell Identification, Considered in Relation to the Small Cortical Cells of the Thymus ». *J Exp Med* 24(1): 87-105 ; Maximow A (1909) « Der Lymphozyt als gemeinsame Stammzelle der verschiedenen Blutelemente in der embryonalen Entwicklung und im postfetalen Leben der Säugetiere » *Fol. Haematol.* 8: 125-134 ; Cunningham RS, Sabin FR, Doan CA (1925) « The development of leucocytes, lymphocytes, and monocytes from a specific stem-cell in adult tissues » *Contributions to embryology* 16(84): 229-276.

et « indépendantes », proposée par Ernst McCulloch¹⁷⁰ et critiquée par Laszlo Lajtha¹⁷¹ ; celle entre « cellules souches pluripotentes » et « cellules souches engagées »¹⁷², celle entre « cellules souches multipotentes » et « cellules souches restreintes » utilisée par Philip Fialkow¹⁷³ et celle entre « cellules souches » et « progéniteurs »¹⁷⁴ qui est la distinction qui a finalement été retenue par la communauté scientifique. Différents modèles ont également été proposés comme celui des « *feeders* » et « *sleepers* »¹⁷⁵. Selon ce modèle, soit il existe une population de cellules souches, qui sont tantôt dormantes (hors du cycle de division cellulaire) tantôt actives (en division), soit il existe deux populations de cellules : une population de cellules dormantes et une population de cellules en prolifération active. Les cellules de la population dormante ne rentreraient alors en division que pour entretenir la population des cellules en prolifération¹⁷⁶. Ces distinctions tendent toutes à préciser la notion de cellule souche et ce à quoi il fait référence. Une seule propose de restreindre la référence de la notion de cellule souche, celle entre « cellule souche » et « progéniteurs », celle qui se trouve s'être imposée. Les autres suggèrent la distinction entre plusieurs sous-populations de cellules souches (par exemple, celles qui sont pluripotentes *versus* celles qui sont engagées). Ceci montre que :

- 1) La position généalogique était primordiale dans la notion de cellule souche : une cellule souche désigne avant tout une cellule à l'origine d'autres cellules.
- 2) Le concept de cellule souche était enclin à accueillir une certaine hétérogénéité.

Les tentatives actives, et multiples dans les années 1970, pour préciser la notion de cellule souche généraient une forte ambiguïté dans l'utilisation des noms et leurs références.

¹⁷⁰ McCulloch EA, Till JE and Siminovitch L (1965) « The role of independent and dependent stem cells in the control of hemopoietic and immunologic responses ». *Wistar Inst Symp Monogr* 4: 61-68.

¹⁷¹ Lajtha LG (1966) « Cytokinetics and regulation of progenitor cells ». *J. Cell. Physiol.* 67: 133-147.

¹⁷² Voir par exemple : Abramson S, Miller RG and Phillips RA (1977) « The identification in adult bone marrow of pluripotent and restricted stem cells of the myeloid and lymphoid systems ». *J Exp Med* 145(6): 1567-1579 ; Killmann SA (1991) « Acute leukaemia: development, remission/relapse pattern, relationship between normal and leukaemic haemopoiesis, and the 'sleeper-to-feeder' stem cell hypothesis ». *Baillière's Clinical Haematology* 4(3): 577-598, en particulier p. 583.

¹⁷³ Voir la citation ci-dessus et la note 168.

¹⁷⁴ Revue dans Ebbe S (1968) « Megakaryocytopoiesis and platelet turnover ». *Series Haemat.* 1(2): 51.

¹⁷⁵ Killmann SA (1991) « Acute leukaemia: development, remission/relapse pattern, relationship between normal and leukaemic haemopoiesis, and the 'sleeper-to-feeder' stem cell hypothesis ». *Baillière's Clinical Haematology* 4(3): 577-598.

¹⁷⁶ Kay HE (1965) « How Many Cell-Generations? » *Lancet* 2(7409): 418-419.

Ainsi, l'expression « cellule souche leucémique » désignait chez certains (notamment Philip Fialkow) une cellule commune à *toutes* les lignées hématopoïétiques et chez d'autres la cellule commune aux lignées *observées* dans une leucémie donnée (ce qui peut regrouper la notion de « cellules souches leucémiques », développée par l'équipe de Philip Fialkow, aussi bien que la notion de « cellule souche myéloïde » ou de « cellule souche lymphoïde », qui correspondent aussi aux notions de « cellules souches dépendantes », de « cellules souches engagées » et de « progéniteurs »).

S'ajoute à cela une ambiguïté, propre à la cancérologie, liée à l'aspect très indifférencié des cellules cancéreuses. Ces cellules cancéreuses d'allure immature sont généralement appelées des « blastes », mais l'hypothèse a également été émise qu'il s'agirait de cellules souches¹⁷⁷. Ceci a eu pour effet l'apparition d'une catégorie descriptive de leucémies, dites « *stem cell leukemia* », que l'on pourrait traduire « leucémie à cellules souches »¹⁷⁸. Elle ne doit pas être confondue avec le concept de « *leukemic stem cell* » ou « cellule souche leucémique » qui décrit un type particulier de cellules ayant un rôle fonctionnel spécifique au sein d'un type de cancer¹⁷⁹. Pour Philip Fialkow, par exemple, les blastes ne sont pas des « cellules souches leucémiques » mais représentent un compartiment distinct de cellules leucémiques. La « leucémie à cellule souche » est une notion descriptive qui n'attribue pas de rôles spécifiques aux cellules souches.

Notons, par la même occasion, une autre ambiguïté conceptuelle particulièrement appuyée dans les recherches caryotypiques des années 1950 mentionnées au début du

¹⁷⁷ Voir : Killmann SA (1965) « Proliferative activity of blast cells in leukemia and myelofibrosis. Morphological differences between proliferating and non-proliferating blast cells ». *Acta Med Scand* 178(3): 263-280 ou encore Mauer AM and Fisher V (1966) « Characteristics of cell proliferation in four patients with untreated acute leukemia ». *Blood* 28(3): 428-445.

¹⁷⁸ Voir, par exemple : Evans TS, Cipriano AP and Ferrell EH, Jr. (1949) « Reticulo-endotheliosis or stem-cell leukemia; a case report ». *Conn State Med J* 13(12): 1128-1133 ; Ross RT & Schoemperlen CB (1950) « The effect of aminopterin and partial exsanguination transfusion on a case of acute stem cell leukemia; a case report and review of the literature on these two procedures ». *Ann Intern Med* 32(1): 123-128 ; Anlyan AJ (1954) « Beta-Glucuronidase studies in stem-cell leukemias ». *Cancer* 7(2): 391-393 ; Reynolds AH, Olivetti RG and Ekstrand RW (1955) « Aleukemic stem cell leukemia with polyserositis; report of case ». *Blood* 10(1): 81-86 ; Anastasea-Vlachou C, Cassimos C, Messaritakis J and Papadaki E (1961) « A case of stem cell leukemia occurring in an infant 38 days old ». *Ann Paediatr* 196: 310-315 ; Zuelzer WW (1964) « Implications of Long-Term Survival in Acute Stem Cell Leukemia of Childhood Treated with Composite Cyclic Therapy ». *Blood* 24: 477-494. Une recherche bibliométrique dans *Web of Science* et *PubMed* montre un nombre de publication annuel entre 1 et 5 sur ce type de leucémie entre les années 50 et 80.

¹⁷⁹ La confusion existe aujourd'hui, en particulier dans les revues désireuses de mettre en évidence l'émergence historique des CSC. On peut citer, à titre d'exemple, la très fameuse revue réalisée par John Dick à l'occasion du cinquantième anniversaire de la Société Américaine d'Hématologie : Dick JE (2008) « Stem cell concepts renew cancer research ». *Blood* 112(13): 4793-4807, voir en particulier p. 4796.

chapitre¹⁸⁰. Une notion de « *tumor stem cells* » est alors utilisée pour désigner certaines cellules cancéreuses. La même expression est souvent employée aujourd'hui comme un synonyme de CSC. Il s'agit d'un homonyme dans la mesure où la notion de *tumor stem cells* des années 1950 est équivalente et interchangeable avec celle de *tumor strain cells*. Autrement dit, elle ne vise pas à désigner un type cellulaire, comme le fait la notion moderne de cellule souche, mais une population cellulaire clonale (elles ont le même caryotype) ayant un statut particulier dans l'histoire naturelle des cancers. La notion de *tumor strain/stem cell* vise à désigner, dans un cancer, une population cellulaire clonale suspectée d'avoir précédé les autres lignées cellulaires (définies par des caryotypes distincts) présentes dans ce cancer. On retrouve l'idée de cellules souches au sens de cellules à l'origine d'autres cellules mais ici le concept de « souche » s'applique à une population et non à des cellules individuelles (voir Figure 17).

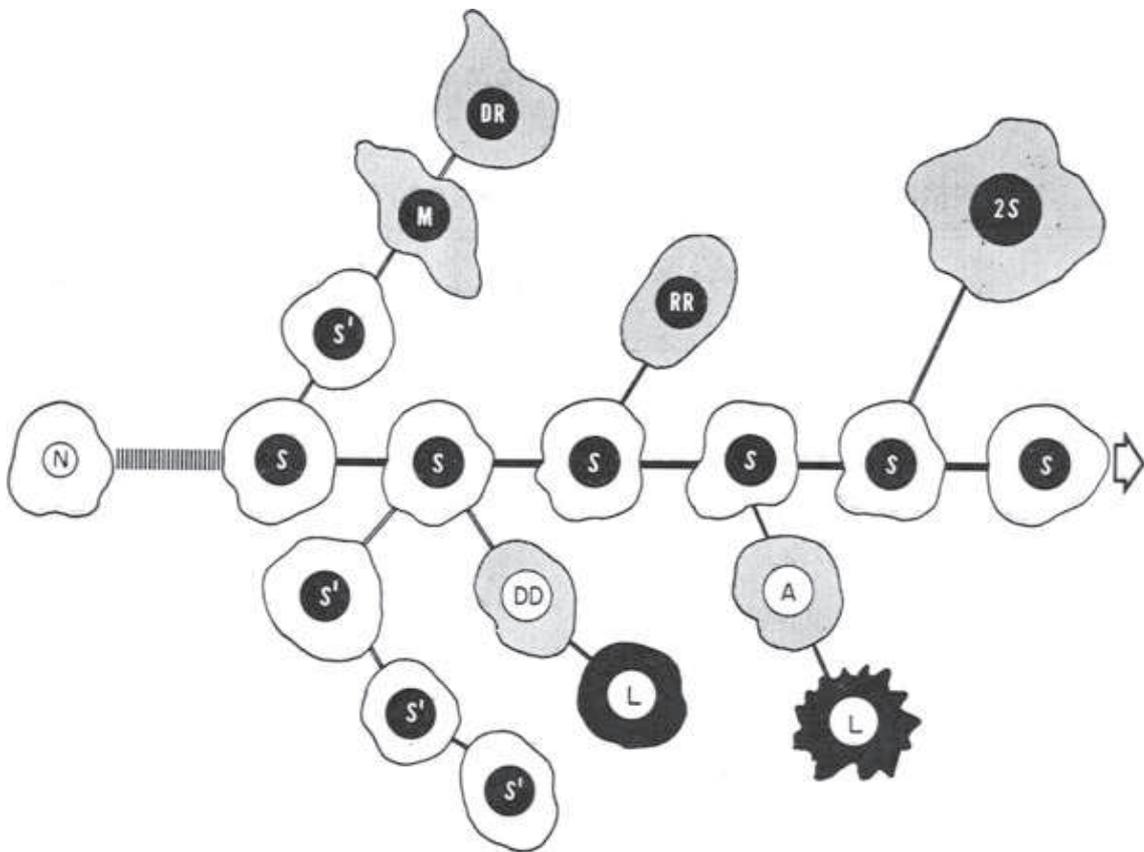


Figure 17. La notion de « cellule souche de tumeur » chez Theodore Hauschka (1961)¹⁸¹. Légende d'origine : « Diagramme illustrant la progression tumorale par la variabilité de la lignée souche. Les symboles

¹⁸⁰ Pour des références, voir note 143. La notion est également abordée au chapitre 4 section 4.2.3 et est représentée dans la Figure 30.

¹⁸¹ Hauschka TS (1961) « The chromosomes in ontogeny and oncogeny ». *Cancer Res* 21: 957-974 (ici, Chart 1, p. 964). « Diagram illustrating tumor progression through stem-line variability. The nuclear symbols represent the following cell types: *N*, nonmalignant cell; *S*, main stem-line; *S'*, secondary stem-lines; *2S*, polyploid stem-cell variant; *M*, metastatic cell;

nucléaires représentent les types cellulaires suivant : *N* : cellule non-maligne ; *S* : lignée souche principale ; *S'* : lignées souches secondaires ; *2S* : variant de cellule-souche polyploïde ; *M* : cellule métastatique ; *DR* : mutant résistant aux médicaments ; *RR* : cellule avec résistance accrue aux radiations ; *DD* : mutant médicament-dépendant ; *A* : mutant expriment un nouvel antigène ; *L* : mutations létales pour les cellules tumorales au niveau individuel ».

3.2. Système auto-entretenu ou réservoir de cellules souches cancéreuses ?

Parallèlement à ces recherches sur l'origine clonale des cancers, qui ont permis l'émergence du concept de « cellules souches leucémiques » à l'origine des leucémies, les observations sur la division cellulaire dans les cancers ont abouti à une opposition de modèles de développement des cancers proche de celle, décrite au chapitre 2, entre le modèle stochastique classique et le modèle hiérarchique des CSC (section 2.2).

Dès les années 1950, les travaux de G Astaldi et C Mauri sur la division cellulaire des cellules hématopoïétiques¹⁸² et leucémiques¹⁸³ avaient remis en cause l'idée reçue selon laquelle les cellules leucémiques se diviseraient plus (et plus rapidement) que les cellules hématopoïétiques non-cancéreuses¹⁸⁴. Ces résultats surprenants ont amorcé de nombreuses recherches sur l'activité mitotique¹⁸⁵ des cellules hématopoïétiques normales et cancéreuses. La mise en place de protocoles d'incorporation de thymidine tritiée¹⁸⁶ qui permettent, d'une

DR, drug-resistant mutant; *RR*, cell with increased radiation-resistance; *DD*, drug-dependent mutant; *A*, antigenic mutant; *L*, mutations lethal for individual tumor cells ».

¹⁸² Astaldi G, Allegri A and Mauri C (1947) « Experimental investigations of the proliferative activity of erythroblasts in their different stages of maturation ». *Experientia* 3(12): 499-500. Astaldi G and Mauri C (1950) « New criteria to estimate mitotic activity in bone marrow cells ». *Acta Haematologica* 3(2): 122-122.

¹⁸³ Astaldi G and Mauri C (1953) « Recherches sur l'activité proliférative de l'hémocytoblaste de la leucémie aigue ». *Rev Belg Pathol Med Exp* 23(2): 69-82.

¹⁸⁴ A l'inverse des organismes en état stable, les cancers suivent souvent une croissance sans fin. Cette croissance avait mené les chercheurs à considérer les cancers, en particulier les leucémies aigües, comme des troubles de la prolifération des cellules et à concevoir ce trouble comme une prolifération rapide. Voir, par exemple : Killmann SA, Cronkite EP, Robertson JS, Fliedner TM and Bond VP (1963) « Estimation of phases of the life cycle of leukemic cells from labeling in human beings in vivo with tritiated thymidine ». *Lab Invest* 12: 671-684 ou encore Mauer AM and Fisher V (1966) « Characteristics of cell proliferation in four patients with untreated acute leukemia. » *Blood* 28(3): 428-445, en particulier p. 428 : « Earlier concepts of a rapidly growing malignant cell population in patients with acute leukemia have been challenged by the finding of relatively few mitotic figures among leukemic cells ».

¹⁸⁵ La mitose désigne la division non-sexuée des cellules.

¹⁸⁶ La thymidine correspond au nucléotide T de l'ADN. La thymidine tritiée est un nucléotide T radioactif observable par autoradiographie. Voir : Cronkite EP, Bond VP, Fliedner TM and Rubini JR (1959) « The use of tritiated thymidine in the study of DNS synthesis and cell turnover in hemopoietic tissues ». *Lab Invest* 8(1): 263-275; and Killmann SA, Cronkite EP, Fliedner TM and Bond VP (1962) « Cell proliferation in multiple myeloma studied with tritiated thymidine in vivo ». *Lab Invest* 11: 845-853.

part de marquer les cellules qui se divisent pendant un laps de temps t^{187} et, d'autre part de suivre la descendance de ces cellules¹⁸⁸, a permis aux biologistes de confirmer l'observation d'Astaldi et Mauri. Dès lors, deux interprétations distinctes de la division cellulaire dans les cancers ont été proposées : l'hypothèse du système auto-entretenu et l'hypothèse des cellules souches.

Selon l'hypothèse du système auto-entretenu, les cellules cancéreuses se diviseraient peu (c'est-à-dire peu souvent), mais la grande majorité d'entre elles maintiendraient des capacités prolifératives, en particulier les cellules blastiques. Ce modèle est similaire au modèle stochastique selon lequel toutes les cellules cancéreuses seraient faiblement clonogéniques et entreraient de manière stochastique (avec une probabilité faible) en division.

Nous soupçonnons fortement que les cellules dormantes ne constituent pas une sous-population distincte ou unique mais représentent simplement un extrême dans une population dont le temps de génération est très variable (...) au moins certaines des cellules dormantes et leur descendance ont probablement le potentiel de reprendre un taux de prolifération en moyenne équivalent à celui de l'ensemble de la population d'origine¹⁸⁹. Il n'y a « pas besoin de postuler un réapprovisionnement de la population leucémique identifiable » et il est au contraire « plus raisonnable de supposer que les cellules classifiées comme leucémiques constituent une population auto-maintenue »¹⁹⁰.

¹⁸⁷ Le protocole consiste à faire des injections intraveineuses de thymidine tritiée ou à mettre en culture les cellules dans un milieu contenant de la thymidine tritiée. Lors de la division cellulaire, la réplication chromosomique nécessite l'incorporation de nouveaux nucléotides que les cellules prennent dans le milieu. Après 30 minutes, pour les injections intraveineuses, ou à la fin du temps de culture, les cellules ayant incorporé de la thymidine tritiée, observables par autoradiographie, sont celles qui se sont divisées.

¹⁸⁸ Une fois l'incorporation de thymidine tritiée finie, lors des divisions cellulaires, les cellules filles des cellules incorporées héritent de la thymidine tritiée de la cellule mère, ce qui les rend elles aussi reconnaissables par autoradiographie.

¹⁸⁹ « We strongly suspect that the dormant cells do not constitute a separate or unique subpopulation but merely represent one extreme in a population whose generation time is very variable (...) at least some of the dormant cells and their progeny probably have the potential to resume proliferation at about the same average rate as that of the original whole population ». Clarkson B, Fried J, Strife A, Sakai Y, Ota K, Okita T (1970) « Studies of cellular proliferation in human leukemia. 3. Behavior of leukemic cells in three adults with acute leukemia given continuous infusions of 3H-thymidine for 8 or 10 days » *Cancer* 25(6): 1237-1260, ici p. 1254, 1255.

¹⁹⁰ « We therefore see no necessity for postulating replenishment of the recognizable leukemic population and consider it more reasonable to assume that the cells classified as leukemic constitute a self-maintaining population ». Clarkson B, Fried J, Strife A, Sakai Y, Ota K, Okita T (1970) « Studies of cellular proliferation in human leukemia. 3. Behavior of leukemic cells in three adults with acute leukemia given continuous infusions of 3H-thymidine for 8 or 10 days ». *Cancer* 25(6): 1237-1260, ici p. 1257.

Selon l'hypothèse des cellules souches, la majorité des cellules seraient inertes, incapables de se diviser à nouveau (post-mitotiques), et seule une petite sous-population proliférerait rapidement et maintiendrait l'ensemble de la population des cellules cancéreuses. Il y aurait donc un « réservoir »¹⁹¹ qui serait la source d'alimentation des cancers en nouvelles cellules cancéreuses. Ce réservoir serait lui-même constitué de cellules souches cancéreuses. Ce modèle est très proche du modèle hiérarchique des CSC dans lequel les « cellules souches cancéreuses » fournissent également l'ensemble des cellules cancéreuses.

Le compartiment des blastes en prolifération ne se présente pas comme un système auto-entretenu, mais plutôt comme un compartiment à la fois de multiplication et de maturation¹⁹².

Le débat entre l'hypothèse des cellules souches et l'hypothèse du système auto-entretenu était également affecté par l'ambiguïté de la notion de cellule souche. Certains partisans de l'hypothèse du système auto-entretenu, par exemple, considéraient les cellules « blastiques » des leucémies comme des cellules souches¹⁹³. Les « blastes » ou « cellules

Voir aussi p. 92 : « Our own studies demonstrate that in most patients the majority of leukemic cells proliferate, but their generation times vary widely (mostly due to variation in G1). This is not to deny the importance of the relatively small fraction of cells that divide very slowly or may remain dormant for long periods, since it may well be that these cells escape the action of current chemotherapeutic regimens and are eventually responsible for relapse of the disease. However, we believe these dormant cells do not constitute a separate or unique subpopulation but merely represent one end of the spectrum in a population whose generation time is extremely variable. Moreover, although this has not h-yet been proved, we suspect that the dormant state is only temporary and that, when the condition of the disease changes, such dormant cells and their progeny may be able to resume proliferation at about the same average rate that of the original whole population ».

¹⁹¹ Il est notable que la notion de réservoir est toujours présente aujourd'hui pour qualifier les CSC. Entretiens avec les chercheurs du « Cancer stem cell network » et réaction des chercheurs à la communication : Laplane L « CSC : perspective épistémologique », Colloque CHO-CSK, session « cellules souches cancéreuses », Presqu'île de Giens, 30 septembre 2010. Elle est aussi présente pour qualifier les cellules souches somatiques présentes dans l'organisme tout au long de la vie. Voir par exemple : Nguyen LV, Vanner R, Dirks P and Eaves CJ (2012) « Cancer stem cells: an evolving concept ». *Nat Rev Cancer* 12(2): 133-143, en particulier p. 133 : « normal tissue stem cells constitute a life-long reservoir of cells with active mechanisms for self-renewal ».

¹⁹² En français dans le résumé. Gavosto F, Pileri A, Gabutti V and Masera P (1967) « Cell population kinetics in human acute leukaemia ». *Eur J Cancer* 3(4): 301-307, ici p. 306.

¹⁹³ Voir par exemple : Gavosto F, Pileri A, Gabutti V and Masera P (1967) « Non-self-maintaining kinetics of proliferating blasts in human acute leukaemia ». *Nature* 216(5111): 188-189, en particulier p. 188 : « There is still uncertainty about the cytological characteristics of stem cells, their production and kinetics. As far as pathology is concerned the acute leukaemias are characterized by the presence and multiplication of the youngest recognizable cells of each haemopoietic line; these are the blasts. The identity of the blasts and their histogenetic connexions with stem cells are not known, and the possibility that acute leukaemia blasts are stem cells has recently been raised. These blasts are often similar to the

blastiques » désignent les cellules cancéreuses d'allure immature, c'est-à-dire qui ne possèdent aucune caractéristique phénotypique distinctive propre aux cellules différenciées. Aujourd'hui, les cellules blastiques sont clairement distinguées des cellules souches, mais l'absence de distinction tranchée, dans les années 1970, rend les positions des acteurs concernés particulièrement ambiguës. En effet, pour ceux qui considéraient les cellules blastiques comme des cellules souches, l'hypothèse du système auto-entretenu était une forme alternative d'hypothèse du développement des cancers par des cellules souches.

Cette ambiguïté se retrouve, quoiqu'elle soit bien dissimulée, dans l'opposition actuelle entre le modèle hiérarchique et le modèle stochastique (voir chapitre 2, section 2.2.2). En effet, dans le modèle stochastique, le développement des cancers est expliqué par la capacité des cellules (toutes les cellules) à s'auto-renouveler et se différencier. Or, si l'on en croit la définition des cellules souches, ces deux propriétés devraient suffire à faire de toutes les cellules cancéreuses des cellules souches. Le fait que ce ne soit pas le cas interroge la définition des cellules souches¹⁹⁴.

3.3. La différence de clonogénicité entre les cellules cancéreuses

La troisième trajectoire de l'hypothèse de l'origine des cancers dans et par des cellules souches a émergé de manière inattendue, suite aux travaux de transplantation de moelle osseuse. Ces derniers exigent la mise en place de systèmes de culture *in vitro* et *in vivo* des cellules immatures du système hématopoïétique sain et cancéreux. Dans les années 1990, le croisement de contextes très hétérogènes a accéléré la mise en place d'outils expérimentaux tels que des modèles murins immunodéficients et des machines permettant de trier les cellules (FACS). Ces outils ont permis de montrer l'existence de populations à la fois fonctionnellement et phénotypiquement distinctes. C'est une trajectoire incontournable de l'histoire des notions de cellule souche hématopoïétique et de cellule souche leucémique. Elle a mené à la première mise en évidence du modèle de cancérogenèse des CSC et de l'existence de CSC dans certaines leucémies. Le système

normal parent cells of the various haemopoietic lines and can therefore be identified as myeloblasts, lymphoblasts or monoblasts. Sometimes, however, their features are even more undifferentiated and/or atypical, and thus the definitions stem cell leukaemia, haemocytoblastic acute leukaemia, acute histioloekaemia. »

¹⁹⁴ Sur les difficultés concernant la définition des cellules souches par la capacité à s'auto-renouveler et à se différencier, voir le chapitre 6.

expérimental de mise en évidence des cellules souches normales et cancéreuses repose toujours, aujourd'hui, sur ces technologies. Ses limites en seront évaluées au chapitre 5.

3.3.1. Les transplantations de moelle osseuse

La peur des irradiations massives engendrée par l'invention de la bombe atomique, les bombardements d'Hiroshima et de Nagasaki, la fin du monopole des USA sur la bombe, les accidents liés aux tests nucléaires comme les retombées radioactives au Nevada et à Semipalatinsk (aujourd'hui appelée Semeï), la contamination du thonier japonais *Daigo Fukuryu Maru* dans l'atoll Bikini lors de l'essai de la bombe H (*Castle Bravo*), les accidents de réacteurs à Los Alamos, à Oak Ridge ou encore à l'Institut Boris Kidric en Yougoslavie, tous ces événements ont créé un contexte de recherches intensives de traitements et/ou d'agents protecteurs contre les effets des irradiations. Le développement des transplantations de moelle osseuse a largement bénéficié de ce contexte de recherches¹⁹⁵ qui a abouti, en 1951, à la démonstration de la capacité de telles transplantations à reconstituer le système hématopoïétique après sa destruction par des irradiations létales¹⁹⁶. Grâce aux méthodes de suivi des lignées cellulaires exposées à la section 3.1.1, Charles Ford et ses collègues de l'Etablissement de Recherche Atomique d'Harwell ont pu démontrer, en 1956, que la reconstitution du système hématopoïétique dans une souris transplantée était bien produite par la prolifération des cellules de moelle osseuse du donneur¹⁹⁷. La transplantation de moelle osseuse a ainsi offert, aux hématologues et cancérologues, le premier protocole expérimental permettant l'étude *in vivo* du système hématopoïétique et de la moelle osseuse¹⁹⁸. Notons aussi que le développement des transplantations de moelle osseuse comme outil thérapeutique a largement contribué à la diffusion de la notion de cellule souche.

C'est dans ce contexte que les chercheurs canadiens James Till et Ernest McCulloch ont mis au point un système expérimental permettant d'étudier *in vivo* les capacités de

¹⁹⁵ Kraft A (2009) « Manhattan transfer: lethal radiation, bone marrow transplantation, and the birth of stem cell biology, ca. 1942-1961 ». *Hist Stud Nat Sci* 39(2): 171-218.

¹⁹⁶ Lorenz E, Uphoff D, Reid TR and Shelton E (1951) « Modification of irradiation injury in mice and guinea pigs by bone marrow injections ». *J Natl Cancer Inst* 12(1): 197-201.

¹⁹⁷ Ford CE, Hamerton JL, Barnes DW and Loutit JF (1956) « Cytological identification of radiation-chimaeras ». *Nature* 177(4506): 452-454.

¹⁹⁸ Des protocoles de culture *in vitro* des cellules hématopoïétiques ont également été développés dès les années 50, dans ce même contexte. Ils ne permettaient, au départ, que l'étude des capacités prolifératives des cellules. Voir : Puck TT, Morkovin D, Marcus PI and Cieciura SJ (1957) « Action of x-rays on mammalian cells. II. Survival curves of cells from normal human tissues ». *J Exp Med* 106(4): 485-500.

prolifération mais aussi (et surtout) de différenciation des cellules transplantées. Ils avaient remarqué que l'injection de cellules de moelle osseuse dans des souris irradiées aboutissait à la génération de nodules dans la rate. Ces nodules, observables à l'œil nu (voir Figure 18), permettaient à la fois de se faire une idée des capacités prolifératives des cellules injectées et d'observer leurs capacités différenciatives puisque les deux biologistes rapportèrent la présence, dans ces nodules, d'érythrocytes, de granulocytes et de mégacaryocytes¹⁹⁹.

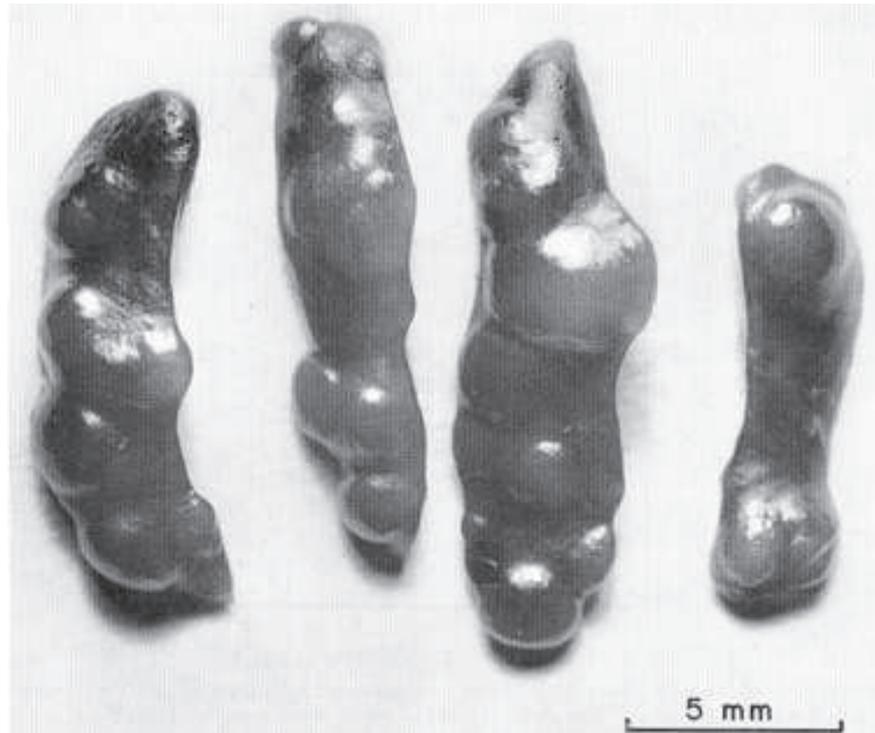


Figure 18. Rates de souris transplantées après irradiation. Photo de Till & McCulloch (1961)²⁰⁰. Légende d'origine : « Rates de souris irradiées 10 jours après injection de 6×10^4 cellules nucléées. Les nodules sur lesquels l'analyse est basée sont facilement visibles ».

Deux ans plus tard, ils ont fourni la preuve de l'origine clonale de ces nodules, dont ils pouvaient déduire l'existence d'une cellule souche hématopoïétique à l'origine de ces différentes lignées cellulaires. Comme Charles Ford et David Barnes (voir note 155), ils ont fait usage de la technique consistant à induire des anomalies chromosomiques par irradiation, qui permet d'inférer de la présence d'une anomalie chromosomique, dans une population cellulaire donnée, l'origine clonogénique de ces cellules²⁰¹. La cellule à l'origine

¹⁹⁹ Till JE and McCulloch EA (1961) « A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells ». *Radiat Res* 14: 213-222.

²⁰⁰ Till JE and McCulloch EA (1961) « A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells » *Radiat Res* 14: 213-222 (ici, Figure 1, p. 215). « Splens of irradiated mice 10 days after injection of 6×10^4 nucleated cells. The nodules on which the assay is based are readily seen ».

²⁰¹ Becker AJ, McCulloch EA and Till JE (1963) « Cytological demonstration of the clonal nature of spleen colonies derived from transplanted mouse marrow cells ». *Nature* 197: 452-454.

du développement des nodules dans les rates des souris est appelée CFU-S (acronyme de *Colony Forming Unit – Spleen* en référence à sa capacité à former une colonie dans la rate). Ce système expérimental *in vivo* et le systèmes de culture *in vitro*²⁰² sont rapidement devenus les modèles standards d'études des cellules souches hématopoïétiques. Les études permises par la mise en place de ces protocoles ont abouti à la caractérisation d'une hiérarchie de cellules hématopoïétiques disposant de capacités clonogéniques spécifiques, dont la Figure 19 donne un exemple.

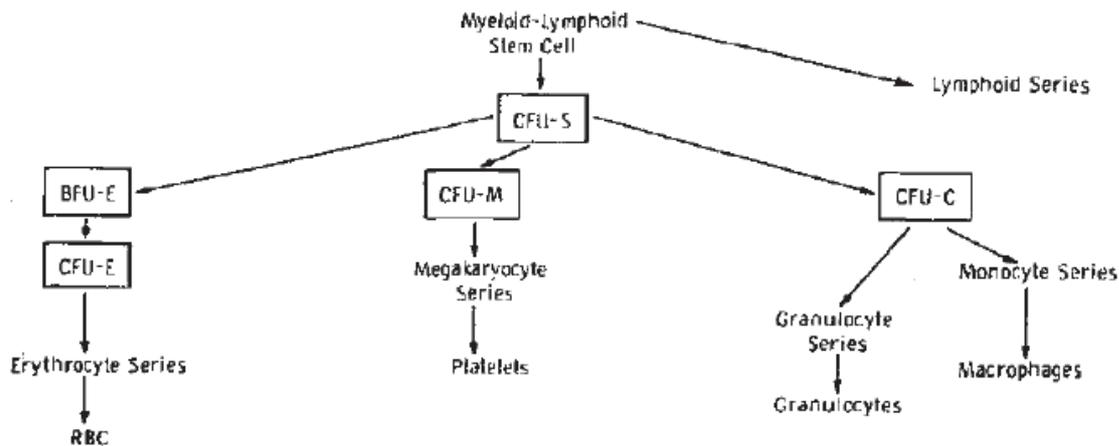


Figure 19. Modèle hiérarchique du développement de la lignée myéloïde du système hématopoïétique selon Till & McCulloch (1980)²⁰³. Légende d'origine : « Modèle de myélopoïèse. Les classes de cellules indiquées dans des rectangles peuvent être détectées par des testes de formation de colonies. CFU-S : cellule souche myéloïde pluripotente. BFU-E : progéniteur précoce (primitif) érythrocyte. CFU-E : progéniteur tardif (mature) érythrocyte. CFU-M : progéniteur mégakaryocyte. CFU-C (aussi appelé CFU-GM, unité de

²⁰² Pour les protocoles de culture des BFU-E (progéniteurs des érythrocytes), voir : Heath DS, Axelrad AA, McLeod DL and Shreeve MM (1976) « Separation of the erythropoietin-responsive progenitors BFU-E and CFU-E in mouse bone marrow by unit gravity sedimentation ». *Blood* 47(5): 777-792.

Pour les protocoles de CFU-M, voir : Nakeff A and Daniels-McQueen S (1976) « In vitro colony assay for a new class of megakaryocyte precursor: colony-forming unit megakaryocyte (CFU-M) ». *Proc Soc Exp Biol Med* 151(3): 587-590 ; Messner HA, Jamal N and Izaguirre C (1982) « The growth of large megakaryocyte colonies from human bone marrow ». *J Cell Physiol Suppl* 1: 45-51 et Burstein SA, Adamson JW, Erb SK and Harker LA (1981) « Megakaryocytopoiesis in the mouse: response to varying platelet demand ». *J Cell Physiol* 109(2): 333-341.

Pour les protocoles de culture des CFU-C, voir : Pluznik DH and Sachs L (1966) « The induction of clones of normal mast cells by a substance from conditioned medium ». *Exp Cell Res* 43(3): 553-563; Bradley TR and Metcalf D (1966) « The growth of mouse bone marrow cells in vitro ». *Aust J Exp Biol Med Sci* 44(3): 287-299 ou encore Pike BL and Robinson WA (1970) « Human bone marrow colony growth in agar-gel ». *J Cell Physiol* 76(1): 77-84.

²⁰³ Till JE and McCulloch EA (1980) « Hemopoietic stem cell differentiation » *Biochim Biophys Acta* 605(4): 431-459 (ici, Figure 1, p. 434). « Model of myelopoiesis. The cell classes indicated within rectangles can be detected by assays for colony formation. CFU-S : pluripotent myeloid stem cell. BFU-E : early (primitive) erythrocyte progenitor. CFU-E : late (mature) erythrocyte progenitor. CFU-M : megakaryocyte progenitor. CFU-C (also called CFU-GM, colony-forming unit, granulocyte, macrophage) : granulocyte, monocyte, macrophage progenitor. RBC, red blood cells. »

formation de colonies – granulocyte, macrophage) : progéniteur granulocyte, monocyte, macrophage. RBC : cellules rouges sanguines.

Des protocoles similaires ont très rapidement été développés pour étudier les leucémies²⁰⁴. Les résultats obtenus grâce à ces méthodes de culture des cellules leucémiques étaient semblables à ceux obtenus pour les cellules hématopoïétiques non-cancéreuses : les cellules leucémiques sont hétérogènes dans leur capacité à produire des populations clonales, c'est-à-dire dans leurs capacités prolifératives et différenciatives. Seule une petite fraction de cellules leucémiques est capable de produire des clones importants composés de cellules cancéreuses hétérogènes. Les spécialistes des leucémies aiguës myéloïdes, sur lesquelles la plupart des études de clonogénicité ont été conduites, ont appelé ces cellules « AML-CFU » (acronyme de *Acute Myeloid Leukemia – Colony Forming Unit*), en référence à leur capacité à produire des populations hétérogènes de cellules leucémiques. Dès 1969, les premiers résultats avaient mené Donald Metcalf, Malcolm Moore et Noel Warner à postuler une équivalence entre l'organisation du système hématopoïétique et celle des leucémies :

Ces ressemblances entre la formation des colonies normales et tumorales suggèrent fortement que les colonies qui se développent à partir de cellules leucémiques myélomonocytaires sont un équivalent néoplasique des colonies hématopoïétiques normales²⁰⁵.

Ces résultats permettaient de soutenir l'hypothèse de l'existence de cellules souches leucémiques et le modèle de l'initiation des cancers par ces cellules :

²⁰⁴ Metcalf D, Moore MA and Warner NL (1969) « Colony formation in vitro by myelomonocytic leukemic cells » *J Natl Cancer Inst* 43(4): 983-1001 ; Moore MA, Williams N and Metcalf D (1973) « In vitro colony formation by normal and leukemic human hematopoietic cells: characterization of the colony-forming cells » *J Natl Cancer Inst* 50(3): 603-623 ; Dicke KA, Spitzer G and Ahearn MJ (1976) « Colony formation in vitro by leukaemic cells in acute myelogenous leukaemia with phytohaemagglutinin as stimulating factor » *Nature* 259(5539): 129-130 ; Buick RN, Till JE and McCulloch EA (1977) « Colony assay for proliferative blast cells circulating in myeloblastic leukaemia » *Lancet* 1(8016): 862-863 ; Izaguirre CA, Minden MD, Howatson AF and McCulloch EA (1980) « Colony formation by normal and malignant human B-lymphocytes ». *Br J Cancer* 42(3): 430-437; McCulloch EA (1983) « Stem cells in normal and leukemic hemopoiesis (Henry Stratton Lecture, 1982) » *Blood* 62(1): 1-13 ; Sabbath KD, Ball ED, Larcom P, Davis RB and Griffin JD (1985) « Heterogeneity of clonogenic cells in acute myeloblastic leukemia ». *J Clin Invest* 75(2): 746-753 ; Griffin JD and Lowenberg B (1986) « Clonogenic cells in acute myeloblastic leukemia » *Blood* 68(6): 1185-1195. Pour une revue, voir : Griffin JD and Löwenberg B (1986) « Clonogenic Cells in Acute Myeloblastic Leukemia » *Blood* 68(6): 1185-95.

Des protocoles ont également été mis au point pour étudier les CFU de cancers solides. Voir en particulier : Hamburger AW and Salmon SE (1977) « Primary bioassay of human tumor stem cells ». *Science* 197(4302): 461-463.

²⁰⁵ « These resemblances between normal and tumor colony formation strongly suggest that colonies developing from myelomonocytic leukemic cells are a neoplastic equivalent of normal hematopoietic colonies » Metcalf D, Moore MA, Warner NL (1969) « Colony formation in vitro myelomonocytic leukemic cells » *J Natl Cancer Inst* 43(4): 983-1001 (ici p. 995).

Dans chaque expérience de culture, il était clair que seule une petite portion des cellules tumorales pouvait former des colonies *in vitro*. Cela était en partie dû à la présence dans la masse tumorale de cellules qui n'avaient plus la capacité de se diviser, par exemple les métamyélocytes et les polymorphes tumoraux. Au delà de cela, néanmoins, il semble évident que certaines cellules dans la tumeur ont une capacité de cellule souche, exprimée ici comme la capacité à générer *in vitro* des colonies contenant à la fois des cellules granulocytaires et mononucléaires²⁰⁶.

Cependant, ces protocoles expérimentaux se heurtaient à des limites importantes concernant l'identification des cellules souches, qu'elles soient leucémiques ou hématopoïétiques. En particulier, les CFU-S et les AML-CFU identifiables par ces protocoles regroupent des cellules dont le potentiel clonogénique (division et différenciation) est hétérogène, bien que plus important que pour le reste des cellules²⁰⁷. L'hypothèse originelle selon laquelle les CFU-S et les AML-CFU seraient respectivement des cellules souches hématopoïétiques et leucémiques a rapidement été remise en question. La purification totale n'était pas achevée. Ces protocoles avaient toutefois amorcé une course à la caractérisation des cellules souches leucémiques et hématopoïétiques²⁰⁸. Ils ont

²⁰⁶ « In every culture experiment, clearly only a small proportion of tumor cells could form colonies *in vitro*. In part, this was due to the presence of cells in the tumor mass which no longer had the capacity for division, *e.g.*, tumor metamyelocytes and polymorphs. Beyond this, however, it seems clear that some cells in the tumor have a stem cell capacity, expressed here as the capacity to generate colonies of both granulocytic and mononuclear cells *in vitro*. » Metcalf D, Moore MA, Warner NL (1969) « Colony formation in vitro myelomonocytic leukemic cells » *J Natl Cancer Inst* 43(4): 995.

²⁰⁷ Pour le cas des leucémies, voir Griffin JD and Löwenberg B (1986) « Clonogenic Cells in Acute Myeloblastic Leukemia ». *Blood* 68(6): 1185-95, en particulier p. 1189 : « The major limitation of this type of analysis is the possibility that the AML-CFU proliferating in vitro is not the most immature leukemic stem cell, but a derivative of a stem cell that does not grow well with available culture systems. » Voir aussi les travaux de l'équipe de McCulloch, notamment : Buick RN, Minden MD and McCulloch EA (1979) « Self-renewal in culture of proliferative blast progenitor cells in acute myeloblastic leukemia ». *Blood* 54(1): 95-104 et McCulloch EA and Till JE (1981) « Blast cells in acute myeloblastic leukemia: a model ». *Blood Cells* 7(1): 63-77.

Pour le cas du système hématopoïétique, voir : Dick JE (2008) « Stem cell concepts renew cancer research ». *Blood* 112(13): 4793-4807, en particulier p. 4797 : « Despite widespread use of the spleen colony assay as a surrogate HSC assay, by the mid 1980s it was clear that a more primitive HSC must exist. First, CFU-S were heterogeneous in terms of their spleen repopulation kinetics. Second, careful lineage examination showed that the spleen colony was devoid of lymphoid cells and therefore not multipotential. Third, after 5-fluorouracil treatment, CFU-S were killed whereas other dormant cells capable of CFU-S replenishment survived, suggesting the existence of a pre-CFU-S stem cell ».

²⁰⁸ Je ne décrirais pas l'histoire de cette course qui a fait l'objet d'analyses détaillées, notamment de la part de la philosophe de la biologie Melinda Fagan. Voir en particulier : Fagan MB (2007) « The search for the hematopoietic stem cell: social interaction and epistemic success in immunology ». *Stud Hist Philos Biol Biomed Sci* 38(1): 217-237 et Fagan MB (2010)

aussi véritablement institué le modèle hiérarchique dans la représentation des hématologues et des spécialistes des leucémies²⁰⁹. Selon ce modèle, illustré par la Figure 20, le système hématopoïétique et les leucémies seraient organisés comme des hiérarchies à la tête desquelles se trouveraient les cellules souches. A chaque étape de différenciation, les cellules perdraient de leur potentiel de différenciation et gagneraient en spécialisation. Ainsi, les cellules souches seraient les seules à pouvoir générer toutes les cellules de la hiérarchie. Les autres cellules ne seraient capables de produire que les cellules des lignages inférieurs. Le problème des essais clonogéniques *in vivo* et *in vitro* est qu'ils isolent une population hétérogène de cellules, contenant des cellules souches mais aussi de nombreux progéniteurs.

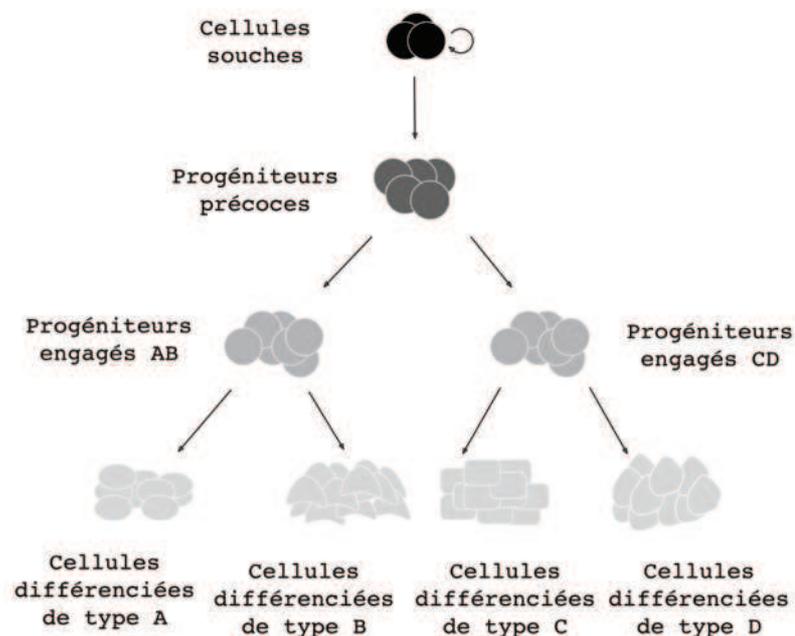


Figure 20. Le modèle hiérarchique.

3.3.2. Modèles murins, anticorps monoclonaux et thérapie génique

Dans les années 1990, la question de l'identification des cellules souches hématopoïétiques est devenue plus pressante en raison de l'émergence d'un nouveau

« Stems and standards: social interaction in the search for blood stem cells ». *J Hist Biol* 43(1): 67-109.

²⁰⁹ Il est notable qu'en 1983, Ernest McCulloch précisait avec précaution : « The dependence of lineage diagrams on colony assays forces such diagrams into an appearance of order that almost certainly represents an oversimplification ». Cette précaution a depuis disparu à l'exception des contestataires du modèle établi.

champ de recherche médicale : la thérapie génique²¹⁰. La possibilité de transférer dans les cellules des gènes via des vecteurs rétroviraux a suscité l'espoir de guérir un certain nombre de maladies telles que la β -thalassémie et la drépanocytose²¹¹, mais également les leucémies. L'objectif à long terme des thérapies géniques alors développées était « la correction permanente de déficiences génétiques du système hématopoïétique »²¹². La « compétition intense pour être le premier groupe à montrer la transduction d'une cellule souche hématopoïétique »²¹³ a joué un rôle majeur dans le développement des recherches sur les cellules souches hématopoïétiques. En effet, pour atteindre l'objectif d'une « correction permanente », « les gènes doivent être introduits dans les cellules souches pluripotentes car seules ces cellules peuvent initier une reconstitution totale du système hématopoïétique »²¹⁴. Autrement dit, le développement des thérapies géniques repose sur la découverte des cellules souches hématopoïétiques. Or, comme indiqué précédemment, les essais clonogéniques *in vivo* et *in vitro* disponibles dans les années 80 achoppaient et les cellules souches hématopoïétiques leur échappaient toujours. D'autre part, le protocole *in vivo* de transplantation dans les souris n'était pas adapté au passage à la clinique dans la mesure où les souris répondaient fortement, en dépit de leur irradiation, aux xénogreffes²¹⁵. Les

²¹⁰ Le premier essai clinique a eu lieu en 1991, voir : Blaese RM, Culver KW, Miller AD, Carter CS, Fleisher T, Clerici M, Shearer G, Chang L, Chiang Y, Tolstoshev P, Greenblatt JJ, Rosenberg SA, Klein H, Berger M, Mullen CA, Ramsey WJ, Muul L, Morgan RA and Anderson WF (1995) « T lymphocyte-directed gene therapy for ADA- SCID: initial trial results after 4 years ». *Science* 270(5235): 475-480. Voir aussi : Friedmann T and Roblin R (1972) « Gene therapy for human genetic disease? » *Science* 175(4025): 949-955.

²¹¹ Larochelle A, Vormoor J, Lapidot T, Sher G, Furukawa T, Li Q, Shultz L, Olivieri NF, Stamatoyannopoulos G, Dick JE (1995) « Engraftment of immune-deficient mice with primitive hematopoietic cells from α -thalassemia and sickle cell anemia patients: implications for evaluating human gene therapy protocols » *Human Molecular Genetics* 4(2): 163-172.

²¹² « Permanent correction of genetic deficiencies of the hematopoietic system ». Larochelle A, Vormoor J, Lapidot T, Sher G, Furukawa T, Li Q, Shultz L, Olivieri NF, Stamatoyannopoulos G, Dick JE (1995) « Engraftment of immune-deficient mice with primitive hematopoietic cells from α -thalassemia and sickle cell anemia patients: implications for evaluating human gene therapy protocols » *Human Molecular Genetics* 4(2): 163-172.

²¹³ « My project was to develop the means to transduce the hematopoietic stem cell. [...] there was intense competition to be the first group to show hematopoietic stem cell transduction.... » Dick JE (2008) « Stem cell concepts renew cancer research » *Blood* 112(13): 4807.

²¹⁴ « Permanent correction of human disorders affecting the hematopoietic system requires that genes are introduced into pluripotent stem cells, because only these cells can initiate long-term reconstitution of the entire hematopoietic system ». Larochelle A, Vormoor J, Hanenberg H, Wang JC, Bhatia, M, Lapidot T, Moritz T, Murdoch B, Xiao XL, Kato I, Williams DA, Dick JE (1996) « Identification of primitive human hematopoietic cells capable of repopulating NOD/SCID mouse bone marrow: implications for gene therapy » *Nat Med* 2(12): 1329-1337 (ici p. 1329).

²¹⁵ Les xénogreffes (ou xénotransplantations) désignent des greffes entre espèces différentes : ici des greffes de cellules humaines dans des souris.

recherches en thérapie génique ont donc joué un rôle moteur dans la production de modèles murins immunodéficients.

Il existait déjà des modèles murins pour l'étude des cancers humains, notamment une lignée de souris mutantes sans thymus, dite *nude*²¹⁶, qui permettait de faire des xénotransplantations. Mais l'utilisation de ces souris était essentiellement efficace pour la transplantation des cancers solides et beaucoup moins pour les cancers liquides comme les leucémies, dont les cellules ne se propageaient pas dans le système hématopoïétique de l'hôte. De nouvelles souris immunodéficientes ont rapidement été élaborées, notamment les lignées de souris *bg/nu/xid*²¹⁷ et *SCID*²¹⁸, qui ont permis les premières transplantations de leucémies humaines²¹⁹. Ces lignées de souris étaient également développées et testées par les immunologistes travaillant sur le VIH et cherchant à développer des souris capables de produire, à long terme, des lymphocytes T humains²²⁰. Les souris SCID permettaient de faire des transplantations, mais celles-ci étaient soumises à un certain nombre de limites expérimentales. En particulier, les transplantations nécessitaient un grand nombre de cellules (plus de 10⁷ cellules) pour échapper au système immunitaire résiduel des souris hôtes. En raison de cette imperfection, beaucoup de croisements de souris présentant différentes mutations affectant leur système immunitaire ont été faits dans l'objectif de produire un meilleur modèle murin. On peut ainsi mentionner les souris KO pour Rag-2, Rag-2/ β -2 microglobuline et Rag-2/ ζ -chain. C'est finalement la souche de souris

²¹⁶ Les souris *nude* n'ont pas l'organe thymus qui est le siège de la production des lymphocytes T. Ces souris produisent des lymphocytes B mais très peu de lymphocytes T. On les appelle « *nude* » (« nues ») en raison de l'absence de poils, autre caractéristique de ces souris mutantes.

²¹⁷ La souris *bg/nu/xid* a été produite par la combinaison de trois mutations : la mutation *nu* (pour « *nude* ») empêche le développement du thymus donc des lymphocytes T, la mutation *bg* (pour « beige ») affecte les lymphocytes T et les cellules NK ; et la mutation du gène *xid* (pour « *X linked immunodeficiency* ») affecte l'activité des LAK (*Lymphokine Activated Killer*) ainsi que la réponse des lymphocytes B à certains antigènes.

²¹⁸ La souris SCID (pour *Severe Combined Immunodeficiency*) est caractérisée par l'absence ou l'inefficacité des lymphocytes B et T.

²¹⁹ Voir les travaux de l'équipe de John Dick à Toronto, en particulier : Kamel-Reid S, Letarte M, Sirard C, Doedens M, Grunberger T, Fulop G, Freedman MH, Phillips RA, Dick JE (1989) « A model of human acute lymphoblastic leukemia in immune-deficient SCID mice » *Science* 246(4937): 1597-1600 et Dick JE (1996) « Normal and leukemic human stem cells assayed in SCID mice ». *Semin Immunol* 8(4): 197-206.

²²⁰ Voir par exemple : Mosier DE, Gulizia RJ, Baird SM and Wilson DB (1988) « Transfer of a functional human immune system to mice with severe combined immunodeficiency ». *Nature* 335(6187): 256-259; McCune JM, Namikawa R, Kaneshima H, Shultz LD, Lieberman M and Weissman IL (1988) « The SCID-hu mouse: murine model for the analysis of human hematolymphoid differentiation and function ». *Science* 241(4873): 1632-1639 ou encore Fraser CC, Kaneshima H, Hanstee G, Kilpatrick M, Hoffman R and Chen BP (1995) « Human allogeneic stem cell maintenance and differentiation in a long-term multilineage SCID-hu graft ». *Blood* 86(5): 1680-1693.

NOD/SCID (*Non Obese Diabetic/Severe Combined Immunodeficiency*), qui présente de surcroît des déficiences importantes dans les cellules du système immunitaire inné (les cellules « *Natural Killer* », le complément et les macrophages)²²¹ « créée par rétrocroisement de la mutation SCID dans une souche de souris NOD/LtSz », qui s'est imposée dans le milieu des années 1990²²². Cette souche de souris était alors la seule à permettre les transplantations sériées, nécessaires pour démontrer la capacité d'auto-renouvellement à long terme des cellules souches²²³. En effet, la durée de vie d'une souris est trop courte pour étudier la capacité d'auto-renouvellement à long-terme des cellules souches. Les transplantations sériées consistent à répéter la transplantation d'une leucémie d'une souris à une autre. Ainsi, à partir d'un échantillon de leucémie humaine, une première transplantation est faite dans une souris NOD/SCID irradiées. Une fois que celle-ci a donné lieu à une greffe, dans la moelle osseuse de la souris, et a reproduit la leucémie d'origine, le greffon de la moelle osseuse peut être prélevé et à nouveau transplanté dans une autre souris NOD/SCID. Si les cellules sont à nouveau capables de greffer et de développer une leucémie semblable à celle d'origine, alors on peut en déduire qu'il y avait, dans l'échantillon de départ, des cellules souches multipotentes capables de s'auto-renouveler à long-terme. Si ce n'est pas le cas, la capacité d'auto-renouvellement des cellules transplantées s'épuise lors de la première greffe et ne permet par une nouvelle transplantation dans une souris secondaire. L'obtention de cette lignée de souris immunodéficientes a permis la première caractérisation phénotypique de cellules souches cancéreuses.

Pour expliquer cet événement, il faut d'abord mentionner la production des premiers FACS (« *Fluorescence-Activated Cell Sorting* »), dans les années 1970²²⁴, puis leur

²²¹ Pour plus de détails, voir : Shultz LD, Schweitzer PA, Christianson SW, Gott B, Schweitzer IB, Tennent B, McKenna S, Mobraaten L, Rajan TV, Greiner DL and et al. (1995) « Multiple defects in innate and adaptive immunologic function in NOD/LtSz-scid mice » *J Immunol* 154(1): 180-191.

²²² « The highest level of engraftment was seen in a novel mouse strain created by backcrossing the SCID mutation onto the NOD/LtSz strain of mice ». Dick JE (1996) « Normal and leukemic human stem cells assayed in SCID mice » *Seminars in Immunology* 8(4): 200.

Depuis, les modèles murins utilisés pour caractériser les CSC ont encore évolué et ont fait l'objet de critiques. Nous aurons l'occasion d'y revenir.

²²³ Une première transplantation est faite à partir d'un échantillon de leucémie d'un patient humain dans une souris NOD/SCID, dite primaire. Une fois que la transplantation a donné lieu à une greffe, c'est-à-dire a reproduit la leucémie d'origine dans la souris, des cellules de cette leucémie provenant de la moelle des souris sont transplantées selon le même protocole dans une nouvelle souris NOD/SCID, dite secondaire.

²²⁴ Le premier prototype a été développé à l'Université de Stanford où il a été mis à la disposition de groupes de chercheurs en 1974. Les travaux de Melinda Fagan montrent l'importance qu'a eu l'accès au tout premier FACS dans les succès scientifiques rencontrés

commercialisation dans les années 1980²²⁵, associée au développement des anticorps monoclonaux²²⁶, qui ont permis les premières caractérisations phénotypiques des cellules. L'association de ces deux techniques (FACS et anticorps monoclonaux) rendait possible le tri des cellules sur la base de l'expression membranaire de certaines macromolécules appelées marqueurs ou antigènes de surface²²⁷. Les antigènes présents à la surface des cellules sont très nombreux, varient en fonction des types cellulaires et peuvent leur être spécifiques. Par exemple, une cellule épidermique présente à sa surface des antigènes différents d'une cellule neuronale. Le système immunitaire produit des anticorps capables de reconnaître des antigènes « étrangers »²²⁸, il existe donc potentiellement des anticorps spécifiques pour tous les antigènes. Sur cette base, les biologistes ont mis au point un protocole de couplage des anticorps à des fluorochromes. Les anticorps sont capables de reconnaître et de lier les antigènes présents à la surface des cellules contre lesquels ils ont été fabriqués. Une fois la liaison antigène/anticorps faite, les cellules porteuses de l'antigène

par l'équipe de Weissman, localisé à Stanford. Voir Fagan M (2007) « The search for the hematopoietic stem cell: social interaction and epistemic success in immunology ». *Stud Hist Philos Biol Biomed Sci* 38(1): 217-237, en particulier pp. 225-226.

²²⁵ L'histoire de l'invention du FACS est tout à fait passionnante. Cette technologie ingénieuse, inventée sur le modèle des imprimantes à jet d'encre, couplée à un appareil capable de produire des gouttelettes et de les compter, fut notamment développée dans le contexte des recherches en exobiologie menées par la NASA nécessitant une automatisation des technologies (projet intitulé « Cytochemical Studies of Planetary Microorganisms, Explorations in Exobiology » amorcé en 1966 sous la direction de Elliott Levinthal et Joshua Lederberg). Pour un examen historique approfondi, voir Cambrosio A and Keating P (1992) « A Matter of FACS: Constituting Novel Entities in Immunology » *Medical Anthropology Quarterly*, New series, 6(4): 362-384 ; Keating P and Cambrosio A (1994) « 'Ours is an Engineering Approach': Flow Cytometry and the Constitution of Human T-Cell Subsets ». *Journal of the History of Biology* 27: 449-479; Fagan MB (2010) « Stems and standards: social interaction in the search for blood stem cells ». *J Hist Biol* 43(1): 67-109 et Keating P and Cambrosio A (2003). *Biomedical Platforms: Realigning the Normal and the Pathological in Late-Twentieth-Century Medicine*. Cambridge: The MIT Press.

²²⁶ Egalement développée dans les années 70, par George Köhler and César Milstein au *Medical Research Council Laboratory of Molecular Biology* de l'Université de Cambridge, cette technique consiste à utiliser la capacité des lymphocytes B à produire des anticorps spécifiques aux antigènes pour cultiver les anticorps monoclonaux. Voir Cambrosio A and Keating P (1995). *Exquisite Specificity: The Monoclonal Antibody Revolution*. New York: Oxford University Press et, sur les hybridomes, Cambrosio A and Keating P (1992) « Between Fact and Technique: The Beginnings of Hybridoma Technology » *J. Hist. Biol.* 25: 175-230.

²²⁷ Notons que le FACS avait aussi été utilisé seul, dans la course à l'identification des cellules souches, notamment par l'équipe hollandaise dirigée par Jan Visser. Voir : Visser JW, Bol SJ and van den Engh G (1981) « Characterization and enrichment of murine hemopoietic stem cells by fluorescence activated cell sorting ». *Exp Hematol* 9(6): 644-655 et Visser JW, Bauman JG, Mulder AH, Eliason JF and de Leeuw AM (1984) « Isolation of murine pluripotent hemopoietic stem cells ». *J Exp Med* 159(6): 1576-1590.

²²⁸ Pour une interrogation fine de la notion d'antigène « étranger », voir Pradeu T (2009) *Les limites du soi : immunologie et identité biologique*. Montréal : Presses Universitaires de Montréal & Paris : Vrin.

deviennent également porteuses d'anticorps fluorescents. Le FACS permet ensuite (1) de détecter la fluorescence émise par les fluorochromes liés aux anticorps et (2) de trier les cellules en fonction du marquage par le couple antigène/anticorps fluorescent. La Figure 21 illustre ce protocole.

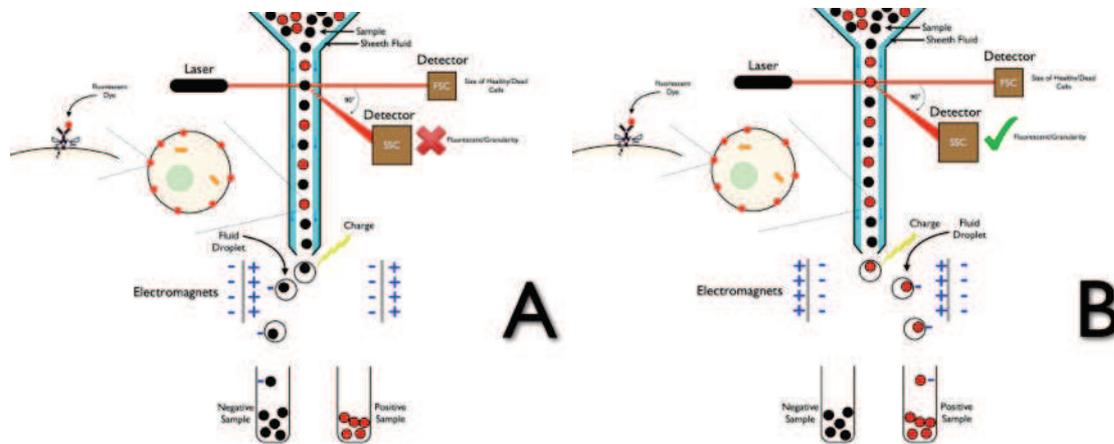


Figure 21. Représentation schématique du tri cellulaire par FACS, par Sabban (2011)²²⁹. Légende originale : « Diagramme expliquant le FACS : cette figure montre une représentation du cytomètre en fluide en haut de chaque diagramme, mais elle montre aussi comment un équipement additionnel peut être utilisé. A. L'échantillon contenant les cellules est injecté à l'intérieur d'un fluide et canalisé pour donner une seule ligne de cellules se succédant les unes-aux-autres. Les cellules passent devant un faisceau laser qui mesure la diffraction (FSC) et la taille (SSC). En général, cette cytométrie en fluide est suffisante pour les méthodes d'analyse, mais pour la méthode de tri des cellules (FACS), les cellules passent à travers une buse qui vibre et produit ainsi des gouttes séparées contenant chacune une cellule en moyenne. La goutte est ensuite chargée électriquement [...], cela dévie leur trajectoire de sorte qu'elles tombent dans la fiole appropriée. Les fioles accumulent alors les cellules triées. Dans le cas présent, le faisceau ne détecte pas de fluorescence et envoie donc la goutte dans la fiole d'échantillon négatif. Dans B. le faisceau laser détecte la fluorescence appropriée et envoie donc la goutte, chargée d'une cellule, dans la fiole d'échantillon positif. »

L'association anticorps-FACS est utilisée pour la recherche des cellules souches hématopoïétiques depuis la fin des années 1970²³⁰. Sa combinaison avec des analyses

²²⁹ Sabban S (2011) *Development of an in vitro model system for studying the interaction of Equus caballus IgE with its high-affinity FcεRI receptor*. PhD thesis, University of Sheffield (ici, Figure 13, pp. 97-98). « Figure 13: Diagram explaining Fluorescence-Activated Cell Sorting (FACS): This figure is showing a representation of flow cytometry at the top of each diagram, but also shows how additional equipment can enable it to be used for FACS. A. the sample containing cells is injected in the middle of a fluid sheath and funneled to give an single line of ordered cells. The cells are passed through a laser beam that measures the forward scatter (FSC) and side scatter (SSC). Usually this flow cytometry result is sufficient for analytical methods, but for a preparatory cell sorting method (FACS) the cells passed though a nozzle that vibrates and results in cell droplets with approximately one cell per drop, this drop is then electrically charged to give a negative charge on it. The machine computer calculates (since the distance between the laser and the electromagnets is known) when the cell reaches the area between the electromagnets, it will switch them on to divert the cell path so it lands on the correct vial, and thus accumulate the sorted cells. In this case the beam detects no fluorescence and therefore sends the droplet of cell into the negative sample vial. In B. the laser beam detects the correct fluorescence and therefore send the charged cell droplet into the correct positive sample vial ».

²³⁰ Melinda Fagan a finement étudié l'histoire de la recherche des cellules souches hématopoïétiques et le rôle qu'ont joué les anticorps monoclonaux et le FACS dans le succès qu'a rencontré l'équipe d'Irving Weissman. Voir Fagan MB (2007) « The search for the

comparatives de transplantation dans des souris immunodéficientes a permis aux hématologues²³¹ et immunologues²³² de caractériser les cellules de la hiérarchie du système hématopoïétique mises en évidence par les techniques de culture exposées à la section 3.3.1. En particulier, ce protocole permet de mettre en évidence les capacités d'auto-renouvellement et de différenciation de populations phénotypiquement spécifiées de cellules.

Parallèlement (avec un délai de quelques mois), le même protocole (tri cellulaire par FACS en fonction d'antigènes d'intérêts, puis transplantations dans des souris immunodéficientes) a été appliqué aux leucémies, notamment par l'équipe de John Dick à Toronto²³³. Cette équipe a utilisé les mêmes marqueurs de surface que ceux qui avaient été mis en évidence dans les cellules souches hématopoïétiques, à savoir la présence de l'antigène CD34 (noté CD34⁺)²³⁴ et l'absence de l'antigène CD38 (noté CD38⁻)²³⁵, pour trier

hematopoietic stem cell: social interaction and epistemic success in immunology ». *Stud Hist Philos Biol Biomed Sci* 38(1): 217-237, en particulier pp. 226-227.

²³¹ Notamment l'équipe de John Dick à Toronto. Voir : Larochelle A, Vormoor J, Hanenberg H, Wang JC, Bhatia M, Lapidot T, Moritz T, Murdoch B, Xiao XL, Kato I, Williams DA and Dick JE (1996) « Identification of primitive human hematopoietic cells capable of repopulating NOD/SCID mouse bone marrow: implications for gene therapy ». *Nat Med* 2(12): 1329-1337. Il est notable que l'isolement des cellules souches hématopoïétiques par l'équipe de John Dick est passée par l'utilisation de techniques de transferts de gènes empruntées à la thérapie génique. Techniques qui, elles-mêmes, répondent à la même logique que celle qui avaient permis de mettre en évidence l'origine clonale des leucémies et des lignées hématopoïétiques dès le milieu du XX^e siècle.

²³² Notamment l'équipe d'Irving Weissman à Stanford. Voir : Weissman IL, Heimfeld S and Spangrude G (1989) « Haemopoietic stem cell purification ». *Immunol Today* 10(6): 184-185. Contrairement à l'équipe de John Dick, l'équipe de Weissman s'était orientée sur la production de souris humanisées. Leurs travaux étaient plus influencés par les questions propres aux VIH qu'à celles de la thérapie génique.

²³³ Lapidot T, Sirard C, Vormoor J, Murdoch B, Hoang T, Caceres-Cortes J, Minden M, Paterson B, Caligiuri MA and Dick JE (1994) « A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice ». *Nature* 367(6464): 645-648 et Bonnet D and Dick JE (1997) « Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell ». *Nat Med* 3(7): 730-737.

²³⁴ L'antigène CD34, codé par le gène du même nom est reconnu depuis 1984 comme marqueur de populations enrichies en cellules immatures du système hématopoïétique. Il a été adopté au niveau clinique comme marqueur pour l'enrichissement en cellules souches hématopoïétiques. Civin C, Strauss LC, Brovall C, Fackler MJ, Schwartz JF, Shaper JH (1984) « Antigenic analysis of hematopoiesis. III. A hematopoietic progenitor cell surface antigen defined by a monoclonal antibody raised against KG-1a cells, » *J Immunol* 133(1): 157-165.

²³⁵ L'antigène CD38, à l'opposé de CD34, est présent à la surface de certaines cellules différenciées du système hématopoïétique, et en particulier des globules blancs dont l'accumulation est caractéristique des LAM. Son absence permet donc d'éliminer un certain nombre de cellules différenciées et néanmoins porteuses de l'antigène CD34. Terstappen LW, Safford M, Unterhalt M, Konemann S, Zurlutter K, Piechotka K, Drescher M, Aul C, Buchner T, Hiddemann W et al. (1992) « Flow cytometric characterization of acute myeloid leukemia:

les cellules d'échantillons de leucémies aiguës myéloïdes de patients humains. Les résultats des transplantations des cellules leucémiques triées, illustrés par la Figure 22, montrent une hétérogénéité phénotypique et fonctionnelle des cellules leucémiques. Il est important pour la suite (voir chapitre 5) de bien distinguer les deux résultats de ces expériences :

- 1) Seule une petite fraction des cellules de leucémie aiguë myéloïde (LAM) est capable de produire des leucémies une fois transplantée dans des souris immunodéficientes irradiées.
- 2) Cette capacité ou non à initier de nouvelles LAM (on parle de tumorigénicité) est phénotypiquement prédictible. En effet, seules les cellules $CD34^+CD38^-$ ont donné lieu à une greffe dans ces expériences (en vert, dans la Figure 22).

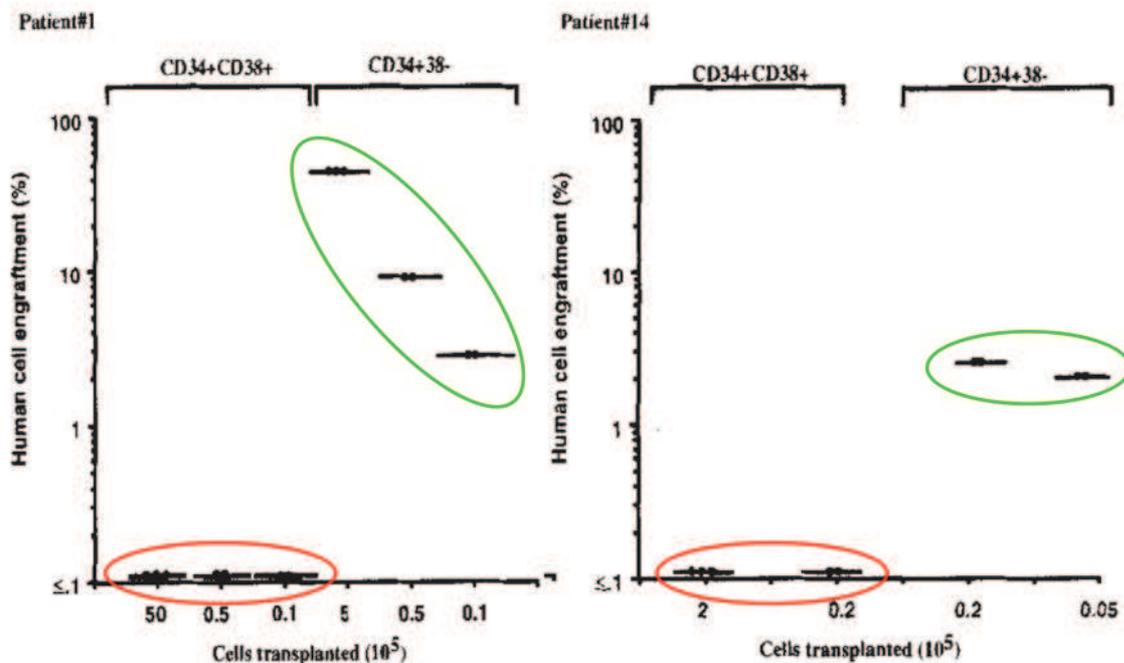


Figure 22. Différence de potentiel tumorigène entre des sous-populations de cellules cancéreuses. Modifié depuis Bonnet & Dick (1997)²³⁶. Les graphiques indiquent la capacité des cellules cancéreuses à produire des leucémies lorsqu'elles sont réinjectées dans des souris immunodéficientes préalablement irradiées. L'axe des abscisses indique la quantité de cellules injectées (le phénotype des cellules injectées se trouve en haut).

IV. Comparison to the differentiation pathway of normal hematopoietic progenitor cells ». *Leukemia* 6(10): 993-1000.

²³⁶ Bonnet D and Dick JE (1997) « Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell » *Nat Med* 3(7): 730-737(ici, il s'agit d'une partie de la figure 3, p. 733). Légende d'origine : « Engraftment of NOD/SCID mice with AML cells fractionated according to CD34 and CD38 expression. Mice were transplanted with the indicated number of purified $CD34^-$, $CD34^+$, $CD34^{++}CD38^-$ or $CD34^+CD38^+$ cells. Cells from seven different AML patients have been studied (nos. 1, 8, 10, 12, 13, 14 and 18). Human cell engraftment was estimated by Southern blot 4 to 6 weeks after transplant. The different concentrations of sorted cells and the patient identification are indicated. Each dot represents a mouse and the horizontal line indicates the mean level of human cells engrafted in the murine bone marrow. »

L'axe des ordonnées indique le pourcentage de cellules ayant greffées, c'est-à-dire ayant abouti à la production d'une leucémie dans la souris. Chaque point représente une souris. Chaque graphique représente les résultats obtenus à partir du tri et de la greffe des cellules d'un patient dans plusieurs souris. Les cellules ayant initiés des cancers une fois greffées dans une souris sont entourées en vert et les cellules n'ayant pas produit de nouvelles leucémies sont encerclées en rouge.

Ces expériences sont considérées comme les premières preuves de l'existence des CSC et du modèle hiérarchique de l'organisation et du développement des cancers. Le protocole a été ensuite adapté à l'étude des cancers solides et a permis, neuf ans plus tard, l'identification de cellules souches cancéreuses dans les cancers du sein²³⁷ et du cerveau²³⁸. Le concept de cellules souches cancéreuses a ensuite connu une diffusion rapide au sein de la communauté des cancérologues et des CSC ont été identifiées dans de nombreux cancers²³⁹.

²³⁷ Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, Morrison SJ and Clarke MF (2003) « Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells ». *Proc Natl Acad Sci U S A* 100(7): 3983-3988 et Dontu G, Al-Hajj M, Abdallah WM, Clarke MF and Wicha MS (2003) « Stem cells in normal breast development and breast cancer ». *Cell Prolif* 36(Suppl 1): 59-72.

²³⁸ Singh SK, Clarke ID, Terasaki M, Bonn VE, Hawkins C, Squire J and Dirks PB (2003) « Identification of a cancer stem cell in human brain tumors ». *Cancer Res* 63(18): 5821-5828 ; Singh SK, Hawkins C, Clarke ID, Squire JA, Bayani J, Hide T, Henkelman RM, Cusimano MD and Dirks PB (2004) « Identification of human brain tumour initiating cells ». *Nature* 432(7015): 396-401 et Hemmati HD, Nakano I, Lazareff JA, Masterman-Smith M, Geschwind DH, Bronner-Fraser M and Kornblum HI (2003) « Cancerous stem cells can arise from pediatric brain tumors ». *Proc Natl Acad Sci U S A* 100(25): 15178-15183.

²³⁹ Pour les sarcomes osseux, voir : Gibbs CP, Kukekov VG, Reith JD, Tchigrinova O, Suslov ON, Scott EW, Ghivizzani SC, Ignatova TN and Steindler DA (2005) « Stem-like cells in bone sarcomas: implications for tumorigenesis ». *Neoplasia* 7(11): 967-976.

Pour les cancers de la prostate, voir : Collins AT, Berry PA, Hyde C, Stower MJ and Maitland NJ (2005) « Prospective identification of tumorigenic prostate cancer stem cells ». *Cancer Res* 65(23): 10946-10951 et Lawson DA and Witte ON (2007) « Stem cells in prostate cancer initiation and progression ». *J Clin Invest* 117(8): 2044-2050.

Pour les cancers des ovaires, voir : Szotek PP, Pieretti-Vanmarcke R, Masiakos PT, Dinulescu DM, Connolly D, Foster R, Dombkowski D, Preffer F, Maclaughlin DT and Donahoe PK (2006) « Ovarian cancer side population defines cells with stem cell-like characteristics and Mullerian Inhibiting Substance responsiveness ». *Proc Natl Acad Sci U S A* 103(30): 11154-11159.

Pour les cancers du foie, voir : Suetsugu A, Nagaki M, Aoki H, Motohashi T, Kunisada T and Moriwaki H (2006) « Characterization of CD133+ hepatocellular carcinoma cells as cancer stem/progenitor cells ». *Biochem Biophys Res Commun* 351(4): 820-824 et Chiba T, Zheng YW, Kita K, Yokosuka O, Saisho H, Onodera M, Miyoshi H, Nakano M, Zen Y, Nakanuma Y, Nakauchi H, Iwama A and Taniguchi H (2007) « Enhanced self-renewal capability in hepatic stem/progenitor cells drives cancer initiation ». *Gastroenterology* 133(3): 937-950.

Pour les cancers de la sphère ORL, voir : Prince ME, Sivanandan R, Kaczorowski A, Wolf GT, Kaplan MJ, Dalerba P, Weissman IL, Clarke MF and Ailles LE (2007) « Identification of a subpopulation of cells with cancer stem cell properties in head and neck squamous cell carcinoma ». *Proc Natl Acad Sci U S A* 104(3): 973-978.

Pour les cancers du pancréas, voir : Li C, Heidt DG, Dalerba P, Burant CF, Zhang L, Adsay V, Wicha M, Clarke MF and Simeone DM (2007) « Identification of pancreatic cancer stem cells ». *Cancer Res* 67(3): 1030-1037.

Pour les cancers colorectaux, voir : Dalerba P, Dylla SJ, Park IK, Liu R, Wang X, Cho RW, Hoey T, Gurney A, Huang EH, Simeone DM, Shelton AA, Parmiani G, Castelli C and Clarke

Le protocole (tri cellulaire et transplantations) qui a conduit à cette cristallisation du concept de CSC soulève une interrogation concernant les CSC aussi bien que les cellules souches. Le concept de cellule souche (cancéreuse ou non) désigne les cellules de manière individuelle. Or les expériences de mise en évidence de ces cellules se situent toujours au niveau populationnel. Les transplantations nécessitent l'injection d'un grand nombre de cellules (en raison notamment des doses d'irradiation qu'ont reçues les souris) et le tri-cellulaire nécessite également un grand nombre de cellules, ne serait-ce que pour calibrer la machine. La question qui se pose alors est la suivante :

Les données obtenues à partir de populations de cellules
peuvent-elles soutenir des hypothèses sur les cellules
individuelles ?²⁴⁰

La structure de l'inférence actuellement faite est représentée sur la Figure 23, tirée du livre de Melinda Fagan²⁴¹ : le processus expérimental M [FACS et transplantation] isole une population P de cellules, à partir d'un échantillon de cellules provenant d'un organisme OS [proposition P1]. M permet de mesurer un caractère G [propriété souche] dans P, produisant ainsi des données e_g [les cellules CD34⁺CD38⁻ sont les seules capables de transplantations sériées et donc d'auto-renouvellement et différenciation à long-terme, voir Figure 22][proposition P2]. e_g soutient l'hypothèse H_p à propos de la population P [les cellules dans la population P ont la propriété souche][proposition P3]. De ces trois propositions, il est inféré que H_s est vrai, c'est-à-dire que les cellules S de la population P ont la propriété souche [conclusion C].

Melinda Fagan a montré que la conclusion C, selon laquelle les caractères observés pouvaient être attribués aux cellules des sous-populations isolées, repose en fait sur une quatrième prémisse [P4], selon laquelle si H_p est vrai alors toutes les cellules dans P ont

MF (2007) « Phenotypic characterization of human colorectal cancer stem cells ». *Proc Natl Acad Sci U S A* 104(24): 10158-10163 et O'Brien CA, Pollett A, Gallinger S and Dick JE (2007) « A human colon cancer cell capable of initiating tumour growth in immunodeficient mice ». *Nature* 445(7123): 106-110.

Pour les cancers du poumon, voir : Eramo A, Lotti F, Sette G, Pilozzi E, Biffoni M, Di Virgilio A, Conticello C, Ruco L, Peschle C and De Maria R (2008) « Identification and expansion of the tumorigenic lung cancer stem cell population ». *Cell Death Differ* 15(3): 504-514.

Il est à noter qu'il a été soutenu que cette diffusion du système hématopoïétique vers les autres tissus de l'organisme s'appliquait aussi au concept de cellule souche hématopoïétique, c'est-à-dire au concept plus général de cellule souche « somatique » ou « adulte ». Voir, par exemple : Nguyen LV, Vanner R, Dirks P and Eaves CJ (2012) « Cancer stem cells: an evolving concept ». *Nat Rev Cancer* 12(2): 133-143, en particulier p. 134.

²⁴⁰ « Can data obtained from cell populations support hypotheses about single cells? ». Fagan M (2013) *Philosophy of Stem Cell Biology. Knowledge in Flesh and Blood*. London: Palgrave-Macmillan, ici p. 54.

²⁴¹ Fagan M (2013) *Philosophy of Stem Cell Biology. Knowledge in Flesh and Blood*. London: Palgrave-Macmillan.

(probablement) la propriété g_1 [la capacité à s'auto-renouveler et se différencier à long-terme]. Autrement dit, l'inférence repose sur le postulat d'une homogénéité dans la population cellulaire étudiée vis-à-vis du caractère étudié [la propriété souche] (P4, Figure 24). Or, il y a de nombreuses raisons d'en douter²⁴².

<p>P1 Stem cell experiment M isolates cell population P from organismal source OS.</p> <p>P2 M reliably measures character G in P, yielding data e_g.</p> <p>P3 e_g strongly supports H_p (Some cells in P have g_1).</p> <hr/> <p>C H_s is true (cell S has g_1).</p>
--

Figure 23. Des données sur les populations de cellules aux caractérisations cellulaires, Fagan (2013)²⁴³. e : preuve (evidence) ; e_g : données obtenues par l'expérience mesurant G ; g_1 : une valeur du caractère G ; P : population de cellules identifiée par les expériences propres à la recherche sur les cellules souches (« stem cell experiment ») ; S : un membre de P ; H_p : les cellules dans la population P ont g_1 ; H_s : la cellule S a g_1 .

<p>P1 Stem cell experiment M isolates cell population P from organismal source OS.</p> <p>P2 M reliably measures character G in P, yielding data e_g.</p> <p>P3 e_g strongly supports H_p (Some cells in P have g_1).</p> <p>P4 If H_p is true, then (probably) all cells in P have g_1.</p> <hr/> <p>C H_s is true (cell S has g_1).</p>

Figure 24. Homogénéité de la population étudiée, une prémisse oubliée, Fagan (2013)²⁴⁴. e : preuve (evidence) ; e_g : données obtenues par l'expérience mesurant G ; g_1 : une valeur du caractère G ; P : population de cellules identifiée par les expériences propres à la recherche sur les cellules souches (« stem cell experiment ») ; S : un membre de P ; H_p : les cellules dans la population P ont g_1 ; H_s : la cellule S a g_1 .

3.4. Conclusion

Ce chapitre a éclairé l'émergence et la constitution du modèle hiérarchique du développement des cancers au cours du XX^e siècle. Il a montré que l'idée que les cancers seraient initiés par des cellules de type souche a été proposée dans trois contextes distincts pour le système hématopoïétique et les leucémies. D'une part, les recherches sur l'origine clonale ou multicellulaire des cancers ont démontré l'origine commune des différentes lignées de cellules cancéreuses, menant conjointement les chercheurs à induire l'existence

²⁴² Melinda Fagan mentionne la variabilité de l'expression des gènes, de la quantité de protéines, de la morphologie des cellules et de leurs caractéristiques fonctionnelles. Elle mentionne également les interactions cellule-cellule qui sont une source de diversité importante entre les cellules d'une même population. Voir Fagan M (2013) *Philosophy of Stem Cell Biology. Knowledge in Flesh and Blood*. London: Palgrave-Macmillan, p. 58.

²⁴³ Fagan MB (2013) *Philosophy of Stem Cell Biology. Knowledge in Flesh and Blood*. London: Palgrave-Macmillan (ici p. 55).

²⁴⁴ Fagan MB (2013) *Philosophy of Stem Cell Biology. Knowledge in Flesh and Blood*. London: Palgrave-Macmillan (ici p. 57).

d'une cellule souche hématopoïétique et d'une cellule souche leucémique. D'autre part, l'observation d'un taux de division des cellules cancéreuses plus faible qu'attendu a conduit à une première formulation de l'opposition entre le modèle stochastique et le modèle hiérarchique du développement des cancers. Plus exactement, suite à cette observation, une partie des cancérologues ont émis l'idée que les cellules cancéreuses se divisaient peu, mais étaient toutes capables de reprendre leur cycle cellulaire (hypothèse dite du « système auto-entretenu »), tandis que d'autres ont avancé l'idée qu'il devait exister un réservoir de cellules souches capables d'alimenter le cancer en nouvelles cellules (hypothèse dite des « cellules souches »). Enfin, dans le cadre des recherches sur les transplantations de moelle osseuse, originellement destinées à trouver un remède contre les effets secondaires des irradiations, ont été mis en place des protocoles expérimentaux permettant de tester les capacités clonales des cellules hématopoïétiques (différenciation et auto-renouvellement). Ces derniers ont ancré dans les représentations des biologistes un modèle hiérarchique du développement du système hématopoïétique et des cancers qui l'affectent. La production des anticorps monoclonaux, la commercialisation des FACS et la mise au point de souches de souris immunodéficientes ont enfin permis aux biologistes, dans les années 1990, de distinguer phénotypiquement les populations enrichies en cellules souches hématopoïétiques et leucémiques et de tester leurs capacités fonctionnelles d'auto-renouvellement ou de différenciation. Ainsi se sont institués et stabilisés les concepts de « cellule souche leucémique » et de « cellule souche hématopoïétique ». Le premier a ensuite été étendu à l'ensemble des cancers pour donner naissance au concept plus général de « cellule souche cancéreuse », dont le succès a été décrit au chapitre 1. Il est notable que, dans ces trajectoires distinctes, l'identification des cellules souches leucémiques est inséparable de celle des cellules souches hématopoïétiques. Le modèle hiérarchique s'est institué en même temps pour le système hématopoïétique et les leucémies. La conséquence est une indistinction théorique entre les cellules souches hématopoïétiques et leucémiques, particulièrement bien illustrée par la Figure 25, tirée d'un article, fondateur pour les CSC, de Dominique Bonnet et John Dick : les cellules hématopoïétiques et leucémiques ont la même origine. Le chapitre 5 reviendra sur ce point.

Ces trajectoires ont soulevé plusieurs questions concernant la notion de cellule souche (elles seront examinées en détail dans la partie III) :

- A quelles cellules fait-il référence ?
- Toute cellule capable de s'auto-renouveler et de se (multi-) différencier est-elle nécessairement une cellule souche ?

- Les propriétés des cellules souches sont-elles individuelles (propriétés d'une seule cellule) ou collectives (propriétés d'une population de cellules ou de cellules individuelles au sein de populations) ?

Pour finir, cette analyse historique montre que le modèle hiérarchique est né avec l'hypothèse d'une origine des cancers dans les cellules souches normales. En effet, le concept de cellule souche leucémique désigne une cellule de type souche devenue cancéreuse. Ceci était encore vrai en 1997, lorsque l'équipe de John Dick apporta ce qui est aujourd'hui considéré comme les premières preuves de l'existence des CSC (voir Figure 25). Cette position a, par la suite, fait l'objet d'une forte controverse qui sera analysée au chapitre 5. Le chapitre 8 montrera que la question de l'origine des CSC dans des cellules souches ou non-souches est d'une importance fondamentale pour le développement des stratégies thérapeutiques, en dépit de ce que prétendent souvent les partisans de la théorie des CSC.

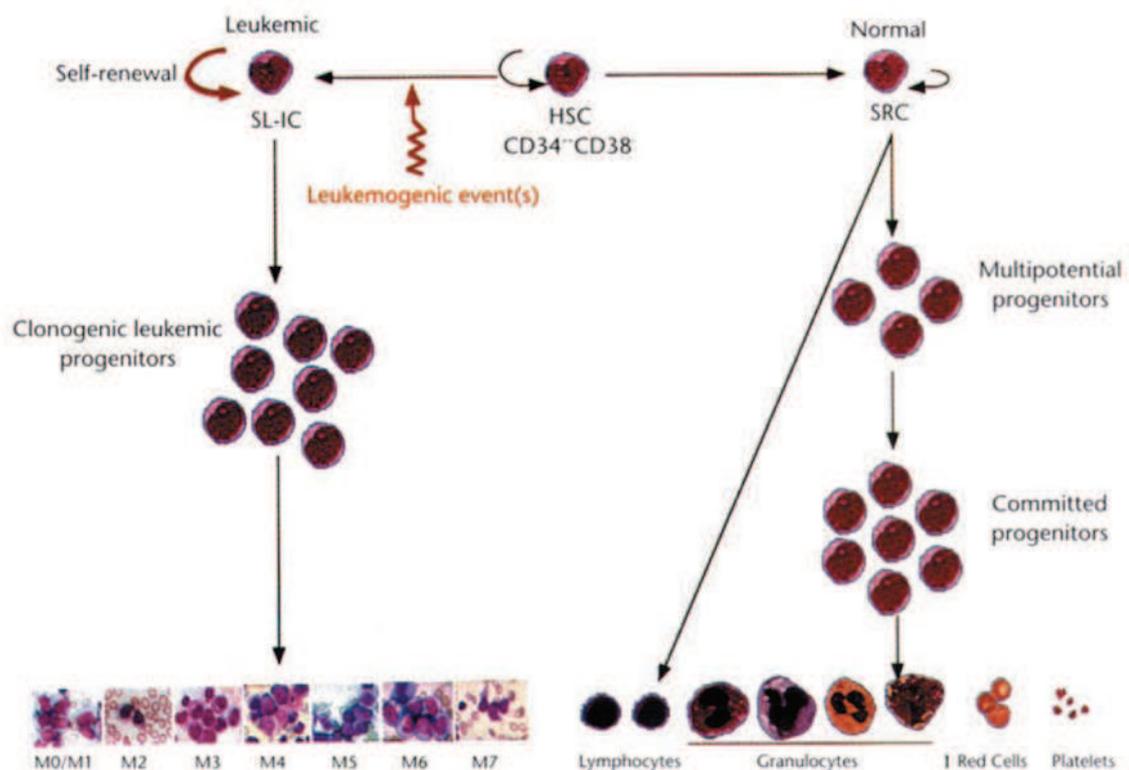


Figure 25. Modèle de cancérogenèse proposé par l'équipe de John Dick en 1997²⁴⁵. Légende d'origine : « Un modèle comparant l'organisation du système hématopoïétique normal et de la LAM humaine. Ce

²⁴⁵ Bonnet D and Dick JE (1997) « Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell » *Nat Med* 3(7): 730-737 (ici, Figure 6, p. 735). Légende d'origine : « A model comparing the organization of the normal and AML human hematopoietic system. This model postulates that the SRC [SCID-repopulating cells] assay detects a primitive human stem cell on the basis of repopulation of NOD/SCID mice. Although some overlaps undoubtedly exist, the SRCs are more immature than most multipotential progenitors (...) and committed clonogenic progenitors. The committed

modèle postule que le teste des SRC [*SCID-repopulating cells*] détecte une cellule souche primitive humaine sur la base de la repopulation d'une souris NOD/SCID. Bien qu'il y ait sans aucun doute des chevauchements, les SRC sont plus immatures que la plupart des progéniteurs multipotents et des progéniteurs clonogéniques engagés. Le groupe des progéniteurs engagés produit toutes les cellules matures myélo-érythroïdes que l'on trouve dans le sang périphérique. Sur la base des données présentées ici, ce modèle postule qu'un événement leucémogène se produit dans la cellule souche primitive. En conséquence, la cellule a une capacité accrue à s'auto-renouveler et des altérations du programme développemental normal, si bien que le lignage normal ne peut pas se développer. Cette cellule souche leucémique est détectée dans les essais de SL-IC [*SCID leukemia-initiating cells*] sur la base de l'initiation d'une AML après transplantation dans des souris NOD/SCID. Les SL-IC produisent des progéniteurs clonogéniques leucémiques (AML-CFU) qui, à leur tour, produisent les cellules du blaste leucémique. La nature de(s) l'événement(s) leucémogène(s), et non l'engagement de la cellule initiateurice de leucémie vers un lignage, détermine le programme de différenciation des blastes leucémiques. Par conséquence, ce modèle suggère que le clone AML est organisé comme une hiérarchie qui a de nombreuses similarités avec le système normal. »

progenitor pool produces all the mature myelo-erythroid cells found in the peripheral blood. On the basis of the data presented here, this model postulates that a leukemogenic event occurs in a primitive stem cell. As a consequence, the cell has increased self-renewal and some impairment of the normal developmental program, so normal lineages cannot develop. This leukemic stem cell is detected in the SL-IC [*SCID leukemia-initiating cells*] assay on the basis of the initiation of AML after transplantation into NOD-SCID mice. The SL-ICs produce clonogenic leukemic progenitors (AML-CFU), which in turn produce leukemic blasts. The nature of the leukemogenic event(s), and not the lineage commitment of the leukemia-initiating cell, determines the differentiation program of the leukemic blasts. Hence, this model suggests that the AML clone is organized as a hierarchy with many similarities to the normal system. »

3.5. *English summary*

The central model of the CSC theory is the hierarchical model. In this model, cancers are initiated and maintained by cancer stem cells exclusively, with cancer stem cells being stem cells (see chapter 2). This idea is far from new. The hypothesis has emerged several times, in different contexts, as a solution to diverse problems. My analysis will concomitantly focus on the unity, that is, on the persistence of the general hypothesis of the origin of cancer in and from stem cells, and on the heterogeneity of the particular forms that this hypothesis has endorsed. This chapter focuses on the history of hematopoietic and leukemic stem cells. It describes three research trajectories in which the hypothesis of the origin of cancers in and by stem cells was present:

- 1) The stem cell hypothesis in the context of the debate on the clonal or multicellular origin of cancers (section 3.1)
- 2) The stem cell hypothesis in the context of the studies on cancer cells divisions (section 3.2).
- 3) The stem cell hypothesis in the context of the development of bone marrow transplantation (section 3.3).

Each of the trajectories raises specific questions about the notion of stem cell.

For blood cancers, the hypothesis of their origin in and by stem cells first emerged from the debate on the clonal or multicellular origin of cancers (i.e. origin from a single cell or from numerous cells). In the 1950s, observations of the chromosomes in cancer cells disclosed an intratumoral variation in chromosome number. Such an observation raises the question of the origin of this heterogeneity: is it the outcome of some kind of evolutionary process? Or do these differences reflect differences between the cells of origin of the cancer? Different techniques were developed to answer this question. They were all following the same method: identifying a marker in order to follow a cell lineage (a “clonal population”). They led to the conclusion that most cancers (in particular blood cancers) originate from one single cell. This conclusion raised a new question: how to explain the intratumoral cellular heterogeneity? Two main hypotheses were developed: the genetic instability hypothesis and the stem cell hypothesis. The first one explains the heterogeneity by accumulation of mutation and selection. The second one explains it by the intrinsic ability of the cell of origin, that is a stem cell, to produce heterogeneous kind of cells. The same answer was provided to explain the presence of different kind of cells in the hematopoietic system (blood and immune cells).

In these studies, the concept of “stem cell” is rather fuzzy, with no definite reference. Sometimes, the word refers to the multipotent cell with a capacity to generate all the blood cells. Sometimes, it is used to refer to cells already engaged in differentiation that generate only one kind of blood cells (e.g. myeloid cells). To avoid this confusion, several distinctions were proposed and debated. The distinction between “stem cells” and “progenitors” has finally been adopted by the scientific community. All distinctions try to specify the reference of the concept of “stem cell”. Only the distinction between “stem cells” and “progenitors” introduced a restrictive use of the notion of “stem cells”, instead of the identification of kinds of stem cells. Two features characterized the debate surrounding the emergence of the concept of stem cell:

- 1) The genealogical position of the stem cell is very important: a stem cell refers primarily to a cell from which other cells originate.
- 2) The emerging notion of stem cell was prone to host some heterogeneity.

In the course of the 1970s debate, the concept of stem cell was used in many different ways, especially in the domain of cancer research. Sometimes, “leukemic stem cell” referred to a cell generating the two main lineages of hematopoietic cells (i.e. myeloid and lymphoid cells, see Fialkow for example). Sometimes, the notion designated the cell of origin of leukemias, which could be restricted to some kind of blood cells. Thus, the coming into being of the concept of “leukemic stem cell” is entangled with the two major characteristics of stem cells highlighted above.

Parallel studies also led to the hypothesis that leukemias originate from stem cells. In the 1950s, studies of cell division in leukemias challenged the established view that leukemic cells divide more than hematopoietic cells. Two conflicting hypothesis were put forward to account for this result. The “self-maintained system” hypothesis held that in general the cancer cells divide rarely but most of them retain a high proliferative capacity. This hypothesis is similar to the stochastic model examined in chapter 2. By contrast, the “stem cell” hypothesis claimed that most cancer cells are inert and have a very low potential for cell division whereas a restricted subpopulation of cancer cells are rapidly cycling, producing numerous new cancer cells. Thus there would be a reservoir of cells feeding the entire cancer cell population. These cells are called “tumor stem cells”. This hypothesis is very similar to the cancer stem cell theory. The fuzziness of the notion of stem cell depicted above also affected this debate. Indeed, some proponents of the “self-maintained system” hypothesis consider the blastic cells (i.e. immature cancer cells) as stem

cells. Today they are considered as heterogeneous populations of cells containing stem cells and progenitors of various kinds. But, due to the lack of a clear distinction between stem cells and progenitors in the 1960s-70s, blastic cells were sometimes considered as stem cells. In these cases, the “self-maintained system” hypothesis becomes a rival hypothesis of origin of cancer from stem cells.

The third trajectory of the hypothesis of the origin of cancer from and by stem cells has emerged from researches on bone marrow transplantation. It was an unexpected outcome given that this research was rather focused on the isolation of some kind of acellular substance. They eventually led to isolating enriched hematopoietic stem cells populations. This research pathway initiated to assess the impact of the massive irradiation induced by nuclear bombs was aimed at the identification of a protective agent against irradiation. The transplantation of bone marrow cells proved to rescue the hematopoietic system of lethally irradiated mice. James Till and Ernest McCulloch devised an experimental system to study the *in vivo* proliferation and differentiation capacities of the transplanted cells. They demonstrated that some bone marrow hematopoietic cells were able to generate different kind of hematopoietic cells *in vivo* (erythrocytes, granulocytes, megakaryocytes). These cells were labeled CFU (Colony Forming Unit). This protocol and additional *in vitro* protocols allowed the first characterization of the hematopoietic cell hierarchy (see Figure 19, for an example). When adapted to the case of leukemias, these protocols led to similar results: leukemic cells are heterogeneous. Only some leukemic cells can be transplanted and grow clones, that is self-renew and differentiate. These were called leukemia-CFU. In both cases (hematopoietic cells and leukemic cells), the CFU were suspected, and often claimed, to be stem cells. But it was later demonstrated that the cell population contained not just stem cells but also many non-stem cells.

In the 1990s, with the development of gene therapy, the identification of hematopoietic stem cells became a major research target. « Permanent correction of human disorders affecting the hematopoietic system requires that genes are introduced into pluripotent stem cells, because only these cells can initiate long-term reconstitution of the entire hematopoietic system » (see note 214). Furthermore, transition to clinic needed better *in vivo* model because the mice immune system was strongly reacting to transplantations. In addition, the researches conducted on cancers and HIV required more and more immunodeficient mice. Thus new strains of immunodeficient mice were gradually developed, such as the NOD/SCID strain of mice, with minimal requisite for

serial transplantations. Simultaneously, cell-sorting technologies were developed, such as the Fluorescence-Activated Cell Sorting (FACS) technology, based on presence or absence of specific cell surface proteins. The combination of FACS and transplantation in NOD/SCID mice initiated a process of gradual phenotypic characterization of the sub-population of cells with different capacities for self-renewal and differentiation. Cells are sorted according their phenotypic characteristic before being transplanted in NOD/SCID mice. If a given subpopulation allows serial transplantation, then this subpopulation is enriched in hematopoietic stem cells. The ultimate goal of this process is to obtain and characterize a pure population of multipotent hematopoietic stem cells. Although this goal remains out of reach, the process improved the characterization of the different sub-populations of the hematopoietic and leukemic hierarchies. In particular, John Dick's team in Toronto characterized a sub-population of leukemic cells enriched in leukemic stem cells. As hematopoietic stem cells, they can be sorted from non-stem cells through the following cell surface markers: $CD34^+CD38^-$ (i.e., presence of CD34 and absence of CD38 cell surface proteins). $CD34^+CD38^-$ populations of leukemic cells give rise to new leukemias in serial transplantations, whether $CD34^+CD38^+$, $CD34^-CD38^-$ and $CD34^-CD38^+$ populations of leukemic cells do not (see Figure 22). This is considered by the scientific community as the first proof of existence of cancer stem cells and the basis of the hierarchical model of cancer development. The protocol was subsequently adapted to solid cancers and lead to the identification of CSC in various cancers.

This protocol, now considered as the gold standard for the identification of stem cells and cancer stem cells, nevertheless raises a central question about the concept of “stem cell” (whether cancerous or not). While the concept of stem cell refers to individual cells, the protocols for cell-sorting and transplantation evaluate stemness at a population level. Cell sorting and transplantation both necessitate cell populations. Melinda Fagan formulated the question as: “Can data obtained from cell populations support hypotheses about single cells?” (see note 240).

Several questions about the very notion of stem cell emerged from this first historical survey:

- What is the referential of “stem cell”?
- Are all the cells capable of self-renewing and differentiating necessarily stem cells?
- Is stemness a cell property or a population level-property?

CHAPITRE 4. Permissivité synchronique de l'hypothèse de l'origine des cancers dans et par des cellules souches : un siècle et demi d'hypothèses adverses

L'objectif de cette partie est de mettre en valeur l'hétérogénéité des formes que l'hypothèse de l'origine des cancers dans et par des cellules souches a prise avant que la théorie des CSC ne les fasse se rencontrer, de manière à mettre en lumière ses ambiguïtés cachées. Le chapitre 3 a montré que cette hypothèse avait été suggérée pour les cancers du sang dans des contextes hétérogènes avec une certaine ambiguïté sur la notion de cellule souche. Le chapitre 4 montrera qu'elle a également été suggérée pour les cancers solides sous des formes plus hétérogènes encore, marquées en particulier par des oppositions synchroniques et pas seulement diachroniques.

Les partisans de la théorie des CSC font régulièrement remonter l'hypothèse de l'origine des cancers dans et par des cellules souches jusqu'à la théorie cellulaire, au XIX^e siècle. En particulier, l'expression de « restes embryonnaires » suggérait que les cancers proviendraient de cellules embryonnaires toujours présentes dans l'organisme adulte, d'où le nom de « restes ». Les biologistes actuels y voient une filiation théorique parce que ces cellules embryonnaires, qu'ils conçoivent rétrospectivement comme des cellules souches, sont caractérisées par un potentiel développemental spécifique (la capacité de produire différents tissus). Plutôt que de mettre en valeur les différences entre l'hypothèse de l'origine des cancers dans des cellules embryonnaires et la théorie des CSC, je souhaite attirer l'attention sur la diversité des formes que cette hypothèse a simultanément prise. La filiation ne remonte pas à une hypothèse unique, mais à plusieurs, en compétition (section 4.1). Je montrerai que cette compétition entre hypothèses sur l'origine des cancers dans et par des cellules souches a persévéré jusqu'à l'émergence de la théorie des CSC, notamment à l'égard de deux types de cancers : les adamantinomes (annexe 2) et les tératocarcinomes (section 4.2). Cette analyse des différents parcours de l'hypothèse générale de l'origine des cancers dans et par des cellules souches éclaire sa flexibilité et lui confère une certaine permissivité. Celle-ci soulève une question fondamentale : à quoi fait référence le concept de cellule souche ? Le chapitre 5 montrera que cette question mérite d'être déployée au sein de la théorie des CSC.

4.1. La théorie cellulaire et ses hypothèses concernant l'origine des cancers

On trouve régulièrement, dans les introductions des articles sur les CSC, des références à la « théorie des restes embryonnaires », attribuée à Robert Remak (1815-1865), Rudolf Virchow (1821-1902) et Julius Cohnheim (1839-1884), selon laquelle les cancers émergeraient de cellules embryonnaires surnuméraires restées indifférenciées dans l'organisme adulte. Cette paternité rencontre évidemment des limites majeures en terme de comparabilité, les contextes, les connaissances et les représentations étant si divers que l'on pourrait plaider leur incommensurabilité. Cependant, les différences qui séparent la théorie des restes embryonnaires de celle des CSC ne devraient pas masquer la persistance d'une même logique, tout au long de l'histoire de la biologie cellulaire. En effet, dans la théorie des restes embryonnaires, comme dans la théorie des CSC, un objectif analogue est présent : expliquer des caractéristiques cellulaires. Une hypothèse similaire est développée pour fournir les explications nécessaires : l'hypothèse d'une origine des cancers concernés dans et par des cellules d'un type particulier (souche/embryonnaire) définies par des capacités développementales (différenciation) importantes. Ainsi, ma critique portera sur l'indistinction générale entre Robert Remak, Rudolf Virchow et Julius Cohnheim. Ces trois chercheurs ont, en fait, soutenu autant d'hypothèses distinctes. Etablir cette diversité permet de mettre en évidence le fait que l'hypothèse générale de l'origine des cancers dans et par des cellules souches est capable de contenir, à une même époque, des hypothèses très diverses : ce que j'appelle sa « permissivité synchronique ». Je soutiens que pour comprendre les ambiguïtés de la théorie des CSC, l'analyse historique doit d'abord s'intéresser aux hétérogénéités synchroniques avant de s'intéresser aux ruptures diachroniques.

4.1.1. Emergence de la théorie cellulaire

La théorie cellulaire est composée de deux principes majeurs bien distincts, développés successivement, par différents chercheurs. Le premier principe présente la cellule comme particule élémentaire ou unité de base du vivant. Le second, souvent résumé par la phrase latine *omnis cellula e cellula* ou *omnis cellula a cellula*, énonce que toute cellule naît d'une autre cellule. On tient le premier principe de Theodor Schwann (1810-1882)²⁴⁶. Il a

²⁴⁶ Schwann T (1839) *Mikroskopische Untersuchungen über die Übereinstimmung in der Struktur und dem Wachstum der Thiere und Pflanzen*. Berlin: Sander'schen Buchhandlung.

généralisé au vivant un principe qui avait déjà été établi pour les plantes par le botaniste Matthias Schleiden (1804-1881)²⁴⁷. Telle qu'elle est énoncée par Theodor Schwann, l'hypothèse de la formation des cellules, fondée sur une analogie cristalline, implique que le cytotlaste (nom donné par Matthias Schleiden au noyau) se forme par cristallisation à partir du cytotlastème (un liquide sans structure, composé de sucre et de mucus, qui se trouverait entre les cellules) avant de donner naissance à la cellule. Le second principe de la théorie cellulaire est issu de critiques adressées en particulier par Robert Remak puis Rudolf Virchow à cette hypothèse de la formation des cellules. Parmi les trois auteurs dont il est question, deux sont donc directement impliqués dans l'élaboration de la théorie cellulaire.

Robert Remak, qui travaille sur des œufs de grenouille fécondés, un matériel particulièrement propice à l'observation de la division cellulaire du fait de sa taille et de sa transparence, critique l'implication du cytotlastème dans la formation cellulaire dès le début des années 1840, tout de suite après la publication du livre de Theodor Schwann. Ses observations le mènent petit à petit²⁴⁸ à proposer l'hypothèse de la formation cellulaire par division, faisant l'économie de l'intervention formatrice du cytotlastème²⁴⁹ : « tout se passe comme s'il se produisait au milieu de la cellule une ligature qui coupe la cellule en deux »²⁵⁰. Pour des raisons complexes, Robert Remak n'a eu que peu d'échos²⁵¹. De ce fait, bien qu'il ait été le premier à formuler une hypothèse de la formation cellulaire par division de cellules préexistantes, c'est la critique de Rudolf Virchow qui porta ses fruits et aboutit à la formation du second principe de la théorie cellulaire.

Rudolf Virchow était médecin de formation. Contrairement à Theodor Schwann et à Robert Remak, il s'intéresse avant tout aux pathologies. Son intérêt pour la physiologie lui vient du fait qu'il considère les maladies, non comme des entités spécifiques, mais comme les effets d'altérations des processus physiologiques normaux. Ses travaux le menèrent, dès

²⁴⁷ Schleiden MJ (1838) « Beiträge zur Phytogenesis » *Archiv für Anatomie, Physiologie und wissenschaftliche Medizin*: 137-176.

Voir l'analyse de François Duchesneau : Duchesneau F (1987) *Genèse de la théorie cellulaire*. Paris : Vrin.

²⁴⁸ Remak R (1841) « Ueber die Entstehung der Blutkörperchen », *Medizinische Zeitung*, 10: 127 ; Remak R (1845) « Ueber die Entwicklung der Muskelprimitivbündel », *Froriep's Notizen*, 35: 305-308 ; Remak R (1852) « Ueber extracellulare Entstehung thierischer Zellen » *Arch. Anat. Phys. Wiss. Med.*: 47-57. Voir aussi Rather LJ (1978) *The genesis of cancer. A Study in the History of Ideas*. Baltimore: Johns Hopkins University Press, pp. 120-122.

²⁴⁹ Remak R (1854) « Ein Beitrag zur Entwicklungsgeschichte der krebshaften Geschwulste ». *Deutsche Klinik*: 170-174.

²⁵⁰ Traduction issue de Vignais P (2001) *La biologie, des origines à nos jours : une histoire des idées et des hommes*. EDP Sciences : Grenoble, p. 119. Voir Remak R (1855) *Untersuchungen über die Entwicklung der Wilbelthiere*. Berlin: R. Reimer, dernier chapitre.

²⁵¹ Voir Duchesneau F (1987) *Genèse de la théorie cellulaire*. Paris : Vrin, en particulier p. 256, 257.

sa thèse de doctorat sur l'inflammation, au rejet de la théorie humorale. Son ambition de fonder une physiologie pathologique en opposition aux théories humorales mena également Rudolf Virchow à critiquer la théorie de l'émergence des cellules à partir d'un blastème amorphe²⁵². C'est ainsi qu'il en vint à énoncer, en 1855, le second principe de la théorie cellulaire : *omnis cellula a cellula*, un principe qui vaut donc pour les tissus normaux comme pour les néoplasies²⁵³.

La cellule présuppose l'existence d'une cellule (*omnis cellula a cellula*), de même que la plante ne peut provenir que d'une plante et l'animal d'un autre animal.²⁵⁴

4.1.2. Théorie cellulaire et cancers

L'émergence de la théorie cellulaire s'est immédiatement accompagnée de travaux sur les cancers, avec une proximité importante entre les chercheurs : d'une part, Julius Cohnheim a été l'élève de Rudolf Virchow, d'autre part, Rudolf Virchow et Robert Remak ont tous les deux été élèves de Johannes Müller, qui a également eu Theodor Schwann pour assistant.

Johannes Müller (1801-1858) est connu pour avoir véritablement introduit l'usage du microscope dans l'étude et la classification des tumeurs. L'étude des néoplasies est très largement dominée, au XIX^{ème} siècle, par la recherche d'une classification empirique rigoureuse. Bien au courant des travaux menés par son assistant, Theodor Schwann, Johannes Müller entend fonder cette classification sur l'observation des cellules composant les tumeurs²⁵⁵. Sa théorie de la formation des néoplasies est humorale et schwannienne dans la mesure où elle implique une formation cellulaire par condensation cytoblastémique à partir d'un *seminum morbi*.

En formulant le second principe de la théorie cellulaire, Rudolf Virchow intervient à la fois contre Theodor Schwann et contre Johannes Müller ; contre la formation cytoblastémique des cellules et contre la perspective humorale. Selon lui, les tumeurs

²⁵² Pour plus de détails, voir Duchesneau F (1987) *Genèse de la théorie cellulaire*. Paris : Vrin, en particulier p. 295.

²⁵³ Virchow R (1855) « Cellular-Pathologie ». *Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie und für klinische Medizin*, 8: 1-33. Voir aussi son livre : Virchow R (1858) *Die Cellularpathologie in ihrer Begründung auf physiologische und pathologische Gewebelehre*. Berlin : August Hirschwald. Pour une traduction en français de la deuxième édition, voir : Virchow R (1859) *La pathologie cellulaire basée sur l'étude physiologique et pathologique des tissus*. Traduction de la 2^{ème} édition par Picard P. Paris : JB Baillière, 1861.

²⁵⁴ Virchow R (1859) *La pathologie cellulaire basée sur l'étude physiologique et pathologique des tissus*. Traduction de la 2^{ème} édition par Picard P. Paris : JB Baillière, 1861, p. 23.

²⁵⁵ Müller JP (1838). *Ueber den Feinern Bau der krankhaften Geschwulste*. Berlin: G. Reimer. Voir aussi Duchesneau F (1987). *Genèse de la théorie cellulaire*. Paris, Vrin, p. 217-218.

naissent de la transformation de cellules normales en cellules tumorales du fait d'une irritation ou d'une altération de la nutrition cellulaire.

L'irritabilité (*Erregbarkeit*) qui caractérise le pouvoir endogène d'assimilation, peut alors entraîner une séquence de transformations morphologiques et mettre un ensemble donné de cellules en état de dysfonction métabolique par rapport aux autres ensembles coordonnés²⁵⁶.

Robert Remak, Rudolf Virchow (à partir du milieu des années 1850) et Julius Cohnheim s'inscrivent dans la même lignée en ce qui concerne l'origine des tumeurs : elle se trouve toujours nécessairement dans la transformation de cellules. Néanmoins les cellules dans lesquelles ces transformations se font ne sont pas les mêmes pour les uns et pour les autres. Pour rendre sensibles les différences entre ces trois auteurs, il est utile de partir d'une controverse sur l'explication d'un cas de cancer. Cette controverse fut déclenchée par un diagnostic porté par Rudolf Virchow en 1850 sur un cancer du tibia²⁵⁷. Selon ce dernier (qui n'avait alors pas encore énoncé le second principe de la théorie cellulaire), il s'agirait d'une tumeur épithéliale primaire. Le problème d'un tel diagnostic est qu'il défie les principes de l'embryologie. En effet, selon la théorie des feuillet embryonnaires, au stade de la gastrulation, les cellules de l'embryon se différencient en trois feuillets, que Robert Remak appela « ectoderme » (feuillelet embryonnaire externe), « mésoderme » (feuillelet embryonnaire intermédiaire) et « endoderme » (feuillelet embryonnaire interne)²⁵⁸, spécifiant le destin des cellules (sur les feuillet embryonnaires, se reporter à la Figure 3). Le feuillet ectodermique est à l'origine de l'épiderme et du tissu nerveux, le feuillet mésodermique fournit le tissu conjonctif, les muscles et le squelette et le feuillet endodermique donne l'appareil digestif et l'appareil respiratoire au cours du développement. La théorie des feuillet embryonnaires établit qu'il est impossible que des cellules de l'ectoderme, telles que les cellules épithéliales décrites par Rudolf Virchow proviennent de la transformation de cellules osseuses puisque ces dernières proviennent d'un autre feuillet embryonnaire : le mésoderme. Plusieurs pathologistes avaient, à l'instar du danois Adolph Hannover²⁵⁹ (1814-1894), jugé l'interprétation de Rudolf Virchow

²⁵⁶ Duchesneau F (1987). *Genèse de la théorie cellulaire*. Paris, Vrin, p. 343.

²⁵⁷ Virchow R (1850) « Ueber Kankroide und Papillargeschwuelste ». *Verh. Phys. Med. Gesell. in Wuerzburg* 1: 106-111.

²⁵⁸ Voir Dupont J-C et Schmitt S (ed) (2004) *Du feuillet au gène. Une histoire de l'embryologie moderne (fin XVIIIe/XXe siècle)*. Paris : Edition rue d'Ulm. En particulier la première partie qui porte sur les feuillet embryonnaires et présente la traduction d'un article de Robert Remak.

²⁵⁹ Notons qu'Adolph Hannover a également travaillé avec Johannes Müller.

« impossible », « un tissu ne pouvant pas être transformé en un autre »²⁶⁰. Soit la tumeur n'était pas épithéliale, soit elle n'était pas primaire.

4.1.3. La théorie des restes embryonnaires délocalisés

Robert Remak s'accordait avec Rudolf Virchow sur le diagnostic : les cellules du cancer observé par ce dernier lui semblaient véritablement épithéliales et la moelle osseuse était bien le site primaire de développement de ces tumeurs. Ce diagnostic représente un défi important pour Robert Remak, qui a lui-même participé à l'élaboration de la théorie des feuilletts embryonnaires²⁶¹. Pour résoudre cette contradiction apparente, il suggéra que ces tumeurs seraient issues de cellules embryonnaires ectodermiques (le feuillet d'origine des cellules épithéliales) qui auraient été délocalisées durant le développement précoce de l'embryon :

Après que l'invasion d'épithéliomas dans les os a été observée à bien des égards, il est raisonnable d'inférer que les accumulations de cellules épidermiques survenant dans l'os dérivent de détachements similaires qui peuvent avoir eu lieu à un stade précoce du développement embryonnaire de l'homme.²⁶²

Cette explication correspond à ce que l'on appelle l'hypothèse des « restes embryonnaires », qu'il conviendrait d'appeler plus spécifiquement « hypothèse des restes embryonnaires délocalisés », dans le cas de Robert Remak. Elle entretient un rapport de similitude avec la théorie des CSC dans la mesure où :

²⁶⁰ Hannover A (1852) *Das Epithelioma, eine eigenthuemliche Geschwulst, die man im allgemeinen bisher als Krebs angesehen hat*. Leipzig. Voir en particulier p. 51 et p. 21.

²⁶¹ Remak R (1855) *Untersuchungen über die Entwicklung der Wilbelthiere*. Berlin: R. Reimer.

²⁶² « Ferner haben Schuh und Frerichs im Verlaufe des Epithelialkrebses der Haut alveolare Ansammlungen von Oberhautzellen in der Tiefe und unterhalb der Geschwulst beobachtet. Virchow (Verhandlungen der med.-phys. Gesellschaft in Würzburg Bd. 1. 1850. S. 108) will die Entstehung der Oberhautzellen in diesen Cancroid-Alveolen als ein Art von « Reproduction », von blosser « Wiederholung » jener oberflächlichen Wucherung betrachten. Er behauptet sogar, dass die Bildung von Oberhautzellen in Knochen beginnen und nach der Oberfläche fortschreiten könne. Hannover (a. a. O. S. 51) hat schon histologische Bedenken gegen diese Deutungen geäußert : er führt die Alveolen auf das Zusammenfließen der in der grauen Substanz des Epithelioma sichtbaren weissen Körner und Cylinder zurück (a. a. O. S. 14. 15), von denen ich nachgewiesen, dass sie zum Theil abgeschnürte Talgdrüsen sind. Ebensowohl mögen sich in anderen Fällen die Alveolen durch Wucherung der von den Schweissgängen abgeschnürten Follikel bilden. Nachdem das Eindringen des Epithelioma in Knochen so vielfach beobachtet ist, liegt es nahe, die in den Knochen vorkommenden Ansammlungen von Oberhautzellen aus ähnlichen Abschnürungen herzuleiten, die vielleicht schon auf einer frühen embryonischen Entwicklungsstufe des Menschen stattgefunden haben. » Remak R (1854) « Ein Beitrag zur Entwicklungsgeschichte der krebhaften Geschwulste », *Deutsche Klinik*: 170-174 p. 172.

- 1) Les caractéristiques cellulaires des cancers sont expliquées par le potentiel de différenciation de la cellule d'origine.
- 2) La cellule d'origine est considérée comme appartenant à un *type* particulier de cellules (type que l'on désigne aujourd'hui par le nom de cellule souche).

Cependant, Robert Remak n'a jamais défendu cette hypothèse que pour les cas exceptionnellement rares de tumeurs contenant des cellules provenant d'un feuillet embryonnaire distinct de celui dont dérive le tissu dans lequel s'est développée la tumeur. Autrement dit, contrairement à la théorie des CSC ainsi qu'à celle de Julius Cohnheim (section 4.1.5), ce n'est pour lui ni une théorie générale du développement des cancers, ni de leur origine. D'autre part, les conditions qui le contraignent à cette hypothèse (contradictions apparentes avec la théorie des feuilletts embryonnaires) n'opèrent pas dans la théorie des CSC.

4.1.4. La théorie du tissu conjonctif

Contrairement à ce que laisse entendre un grand nombre de références faites à Rudolf Virchow dans la littérature sur les CSC²⁶³, la vision du développement des cancers adoptée par ce dernier est radicalement différente. Elle se comprend à la lueur de sa biographie. Alors que Robert Remak a très rapidement contesté la formation cytoblastémique des cellules pour revendiquer le second principe de la théorie cellulaire (les cellules proviennent de cellules), ce n'est pas le cas de Rudolf Virchow. Jusqu'à la fin des années 1840, « il adhère fermement à la doctrine cytoblastémique de Schwann : toute formation de cellule, comme toute assimilation nutritive par une cellule existante, se produit dans un blastème au sein duquel s'opère telle ou telle différenciation structurale et

²⁶³ Huntly BJ and Gilliland DG (2005) « Leukaemia stem cells and the evolution of cancer-stem-cell research » *Nat Rev Cancer* 5(4): 311-321; Hendrix MJ, SefTOR EA, SefTOR RE, Kasemeier-Kulesa J, Kulesa PM and Postovit LM (2007) « Reprogramming metastatic tumour cells with embryonic microenvironments » *Nat Rev Cancer* 7(4): 246-255; Lichtenstein AV (2008) « Cancer: shift of the paradigm » *Med Hypotheses* 71(6): 839-850; Cabanillas R and Llorente JL (2009) « The Stem Cell Network model: clinical implications in cancer » *Eur Arch Otorhinolaryngol* 266(2): 161-170; Alkatout I & Kalthoff H (2008) « Tumor Stem Cells: How to Define Them and How to Find Them ? » chap 10 pp. 165-185. In Bosch TCG (Ed) *Stem Cells. From Hydra to Man*. Springer; Azmi AS, Mohammad RM, Banerjee S, Wang Z, Bao B and Sarkar FH (2011) « Systems and Network Understanding of Cancer Stem Cells », chapter 7 pp. 135-146. In Shostak S (Ed) *Cancer Stem Cells. Cutting Edge*. Croatie: InTech ; Qin H-Y, Fu L-A and Han H (2011) « Regulation of Glioma Stem Cells by the Notch Signaling Pathway: Mechanisms and Therapeutic Implications » chap 15 pp. 291-310. In Shostak S (Ed) *Cancer Stem Cells. Cutting Edge*. Croatie: InTech.

métabolique.»²⁶⁴ C'est seulement progressivement, à partir des années 1854-1855, que Rudolf Virchow formula l'idée que les cellules proviennent de cellules et non d'un blastème acellulaire²⁶⁵. Or, l'observation de la composition cellulaire des tissus conjonctifs (présents dans toutes les parties de l'organisme) joua un rôle décisif dans cette évolution de la pensée de Rudolf Virchow. Il l'expliquait clairement lors de la 18^{ème} des vingt leçons qu'il donna à l'Institut de Pathologie de Berlin entre février et avril 1858 :

Il paraissait impossible, d'un autre côté, de trouver partout, dans l'intérieur des tissus les précurseurs nécessaires des éléments. Ce fut seulement lorsque l'existence des éléments cellulaires du tissu conjonctif fut démontrée, qu'il fut possible d'expliquer par ce tissu riche en germes, et se trouvant dans tous les points de l'économie, comment des développements semblables pouvaient se faire dans les organes les plus divers. Maintenant nous savons que le tissu conjonctif ou ses équivalents existent dans le cerveau, dans le foie, dans les reins, dans les muscles, dans le cartilage, dans la peau, etc. ; il n'est donc plus difficile de comprendre que, dans ces organes si différents, on puisse voir se développer un produit pathologique de même nature. On n'a plus besoin du blastème spécifique déposé dans les parties, mais seulement d'une irritation analogue portant sur le tissu conjonctif des endroits les plus divers.²⁶⁶

Ceci poussa Rudolf Virchow à développer une théorie de l'origine et du développement des cancers (et des néoformations en générales) à partir des tissus conjonctifs, qu'il substitue dans ses explications « à la lymphe plastique, au blastème des uns, à l'exsudat des autres ». Selon lui, ce tissu contient les « germes qui rendaient compte du développement éventuel de nouveaux tissus. » Le tissu conjonctif est constitué de cellules qui ont une nature particulière et des capacités développementales qui leur sont propres :

*Vous pouvez le regarder comme le tissu germinatif par excellence du corps humain, et le considérer comme le point de départ régulier du développement des parties nouvellement formées.*²⁶⁷

Ainsi, pour Rudolf Virchow comme pour Robert Remak et comme pour la théorie des CSC, la nature des cellules d'origine joue un rôle central dans l'explication du développement des tumeurs. Pour tous, ce sont des cellules caractérisées par un potentiel de différenciation encore ouvert et une immaturité ou indifférenciation.

²⁶⁴ Duchesneau F (1987). *Genèse de la théorie cellulaire*. Paris : Vrin, pp. 296-297.

²⁶⁵ *Ibid.* p. 299. Sur l'évolution de la position de Rudolf Virchow, voir aussi Ackerknecht (1953) *Rudolf Virchow: Doctor, Statesman, Anthropologist*. Madison : University of Wisconsin Press.

²⁶⁶ Virchow R (1861) *La Pathologie Cellulaire Basée sur l'Etude Physiologique et Pathologique des Tissus*. Traduction de la seconde édition par Paul Picard. Paris : JB Baillière et Fils, p. 342.

²⁶⁷ *Ibid.* p. 334.

Les caractéristiques individuelles des différentes sortes de néoformations se sont révélées être, pour la plus grande partie, des conséquences de la différenciation relativement précoce de tissus germinaux originellement uniformes²⁶⁸.

S'il a d'abord formulé cette hypothèse de l'origine des cancers pour des cas particuliers – comme ce cancer épithélial du tibia qu'il avait diagnostiqué en 1850 ou les cas de cancers épithéliaux localisés dans les méninges, les ovaires ou encore les testicules²⁶⁹ – il l'a rapidement étendu à la quasi-totalité des tumeurs²⁷⁰. Une prétention qui la rapproche de la théorie des CSC.

Rudolf Virchow n'est pas le seul à soutenir cette théorie histologique des cancers²⁷¹. Elle a cependant été critiquée par les anatomo-pathologistes comme Carl Thiersch²⁷², Wilhelm His²⁷³, Ludwig Buhl²⁷⁴ ou encore Theodor Billroth²⁷⁵, qui soutenaient le maintien des lois de l'embryologie dans le développement de toute néoformation, normale ou pathologique et affirmaient « qu'une cellule du tissu conjonctif ne pouvait pas plus donner naissance à une cellule épithéliale qu'un chien ne peut donner naissance à une grenouille »²⁷⁶.

²⁶⁸ Traduction de Rather LJ (1978) *The genesis of cancer. A Study in the History of Ideas*. Baltimore: Johns Hopkins University Press, p. 129 : « The connective tissue, says Virchow, is « the most important germinal source of heteroplasic new-formations, and the individual features of the various kinds of new-formations are revealed to be, for the most part, consequences of the relatively early differentiation of originally uniform tissue-germs (Gewebekeime) » ». Pour l'original, voir Virchow R (1855) « Ueber Perlgeschwuelste (Cholesteatoma Joh. Mueller's) » *Arch path Anat Phys klin Med* 8: 415.

²⁶⁹ Virchow R (1855) « Ueber Perlgeschwuelste (Cholesteatoma Joh. Mueller's) » *Arch path Anat Phys klin Med* 8: 371-415.

²⁷⁰ Voir sa 18ème leçon donnée à l'Institut de Pathologie de Berlin, cité plus haut.

²⁷¹ August Förster soutient la même hypothèse concernant l'origine et le développement des cancers. Voir Förster A (1855) *Handbuch der pathologischen Anatomie (Vol 1) ; Allgemeine pathologischen Anatomie (vol 2)*. Leipzig, p. 84-85.

Voir aussi, à ce sujet, Rather LJ (1978) *The genesis of cancer. A Study in the History of Ideas*. Baltimore, Johns Hopkins University Press, p. 126.

²⁷² Thiersch C (1865) *Der Epithelkrebs, namentlich der Haut. Eine anatomisch-klinische Untersuchung*. Leipzig: Wilhelm Engelmann. Leland Rather décrit les expériences menées par Carl Thiersch: Rather LJ (1978) *The genesis of cancer. A Study in the History of Ideas*, Baltimore, Johns Hopkins University Press, pp. 139-141.

²⁷³ His W (1865) « Beobachtungen ueber den Bau des Saeugethier-Eierstockes » *Arch. mikr. Anat.* 1: 151-202.

²⁷⁴ Buhl L (1865) « Wahre recidivirendes Myom (Rhabdomyom Zenker's) » *Z. Biol.* 1: 263-272.

²⁷⁵ Billroth T (1866) « Kritische und erlauternde Bemerkungen zu dem Werke von Professor C. Thiersch in Erlangen » *Arch. klin. Chirur.* 7: 848-859. Pour plus de détails sur Theodor Billroth voir Rather LJ (1978) *The genesis of cancer. A Study in the History of Ideas*, Baltimore, Johns Hopkins University Press, en particulier pp. 141, 142.

²⁷⁶ Rather LJ (1978) *The genesis of cancer. A Study in the History of Ideas*, Baltimore, Johns Hopkins University Press, p. 142.

Notons que cette position se prêtait également à la controverse, d'une part, parce que la persistance des lois de l'embryologie dans les contextes pathologiques n'allait pas de soi et,

La théorie de Rudolf Virchow tomba en désuétude, faute de preuve, mais également à cause du succès rencontré par un opposant, Wilhelm Waldeyer, selon l'analyse de l'historien Leland Rafter²⁷⁷. Il s'agit néanmoins d'une forme d'hypothèse de l'origine des cancers dans et par des cellules souches, une forme très différente (et adverse) de celle des restes embryonnaires déplacés défendue par Robert Remak.

4.1.5. La théorie des restes embryonnaires surnuméraires

Julius Cohnheim adopte l'hypothèse des restes embryonnaires délocalisés formulée par Robert Remak. Mais il ne voit pas de raison de limiter son application aux cas de délocalisations ou « détachements » embryonnaires²⁷⁸. Il soutient une interprétation de cette hypothèse généralisée à tous les cancers, marquée par une différence dans sa conception des « restes embryonnaires ». Pour Robert Remak, la persistance de « restes embryonnaires » était due à des détachements ayant eu lieu au cours du développement. Pour Julius Cohnheim, les « restes embryonnaires » peuvent également être dus à l'existence de cellules surnuméraires relativement aux besoins de l'organisme pour se construire. Il conviendrait donc d'appeler cette version de l'hypothèse des restes embryonnaire : « hypothèse des restes embryonnaires surnuméraires ». Si ces cellules embryonnaires ne sont pas utilisées au cours du développement ce n'est pas parce qu'elles

d'autre part, parce que la théorie des feuillettes embryonnaires elle-même était très discutée. Voir, par exemple, Klebs E (1867) « Bemerkungen ueber Larynx-Geschwuelste » Arch. path. Anat. Phys. klin. Med. 38: 202-220 (en particulier p. 217) ; Langhans T (1867) « Ueber Krebs und Cancroid der Lunge, nebst einem Anhang ueber Corpora amylacea in der Lunge » Arch. path. Anat. Phys. klin. Med. 38: 497-543 ; Weber CO (1867) « Ueber die Betheiligung der Muskelkoerperchen und der quergestreiften Muskeln an den Neubildungen nebst Bemerkungen ueber die Lehre von der Specificitaet der Gewebselements » Arch. path. Anat. Phys. klin. Med. 39 : 254-269 et Weber CO (1867) « Ueber die Neubildung quergestreiften Muskelfasern, insbesondere die regenerative Neubildung derselben nach Verletzungen » Arch. path. Anat. Phys. klin. Med. 39 : 216-239.

²⁷⁷ Succès dont il prend pour preuve le fait que la théorie de Wilhelm Waldeyer soit enseignée et citée tout au long du XX^e siècle. Voir Rafter LJ (1978) *The genesis of cancer. A Study in the History of Ideas*, Baltimore, Johns Hopkins University Press, p. 154.

²⁷⁸ Nous souhaitons également corriger une erreur de référence récurrente à l'égard de Julius Cohnheim : Les articles « Ueber Entzuendung und Eiterung » publié en 1867 et « Congenitales, quergestreiftes Muskelsarkom der Nieren » publié en 1875 sont souvent cités comme références pour la théorie de Julius Cohnheim, or le premier de ces deux articles, que l'on pourrait traduire « Sur l'inflammation et la suppuration », ne porte pas sur la théorie des restes embryonnaires. Seul le second, donc, peut être cité comme référence pour la thèse des restes embryonnaires. Voir : Cohnheim J (1867) « Ueber entzuendung und eiterung ». *Path Anat Physiol Klin Med* 40: 1 79 et Cohnheim J (1875) « Congenitales, quergestreiftes Muskelsarkom der Nieren » *Virchows Arch* 65: 64-69.

ne sont pas à leur place mais parce qu'elles ne sont pas nécessaires. Ceci lui permet d'expliquer toutes les croissances tumorales.

L'hypothèse la plus simple [de la formation des tumeurs] me semble indubitablement être qu'à un stade précoce du développement embryonnaire, sont produites plus de cellules qu'il n'est nécessaire pour la construction des parties concernées, si bien qu'il reste une certaine quantité de cellules sans appropriation – elles peuvent être très peu nombreuses – qui, du fait de leur caractère embryonnaire, sont dotées d'une forte capacité de prolifération.²⁷⁹

Il faut préciser que Julius Cohnheim ne semble pas tenir tant à la description des « restes embryonnaires » comme cellules surnuméraires ou délocalisées qu'à l'explication de la croissance des tumeurs par ce qu'il appelle une « disposition inhérente » portée par ces cellules embryonnaires.

Le nouveau né apporte avec lui dans le monde, non pas la tumeur, mais seulement le matériel cellulaire surabondant et, à partir de ce dernier, si les conditions sont favorables, une tumeur peut croître, plus tard. Je tiens cependant une fois de plus à mettre en garde contre une adhésion trop proche à l'expression « matériel cellulaire surabondant » ; il serait peut-être plus correct de parler d'un matériel possédant un potentiel inhérent pour le développement ultérieur d'une tumeur. Le développement de la tumeur *dépend* de ce pouvoir, qui pour le reste est simplement la qualité si communément manifestée dans les cas particuliers de descendance et de développement [par exemple quand un fils hérite du long nez de son père mais que la croissance disproportionnelle du nez ne se fait pas avant ses 8 ans].²⁸⁰

²⁷⁹ « The simplest view appears to me undoubtedly to be that in an early stage of embryonic development more cells are produced than are required for building up the part concerned, so that there remains unappropriated a quantity of cells – it may be very few in number – which, *owing to their embryonic character*, are endowed with a marked capacity for proliferation. » Cohnheim J (1889) *General Pathology. A handbook for practitioners and students*. Translation of the second German edition by McKee, Alexander. Section II “The pathology of nutrition”. London: The New Sydenham Society, p. 760.

²⁸⁰ « The new-born infant brings with it into the world, not the tumour, but merely the superabundant cell-material, and from the latter, if circumstances be favourable, a tumour may grow later on. I wish once more, however, to warn you against adhering too closely to the expression, “superabundant cell-material”; it would perhaps be more correct to speak of a material having an inherent potentiality for subsequent tumour development. For the development of the tumour *depends* on this power, which for the rest is simply the quality so very commonly manifested in individual instances of inheritance and development. » Cohnheim J (1889) *General Pathology. A handbook for practitioners and students*. Translation of the second German edition by McKee, Alexander. Section II « The pathology of nutrition ». London: The New Sydenham Society, p. 764-765, voir aussi p. 761.

Pour l'exemple du nez, voir p. 765: « When in the son of a long-nosed father, the nose remains till the eighth or tenth year, or even later, quite proportional and in no way remarkable, and then grows disproportionately longer and larger, no one doubts that the potentiality for growth existed in the nose from the first, although the most careful and

4.1.6. Conclusion : trois hypothèses de l'origine des cancers dans et par des cellules souches

L'historien fera remarquer, avec raison, à quel point les hypothèses décrites sont différentes de la théorie des CSC. Ni Robert Remak, ni Rudolf Virchow, ni Julius Cohnheim, ne font usage du mot cellule souche. D'autre part, si ces cellules pourraient être rétrospectivement dites « souches », elles n'en seraient pas plus proches de celles de la théorie des cellules souches. En effet, les cellules souches auxquelles Robert Remak, Rudolf Virchow et Julius Cohnheim feraient référence seraient des cellules souches de type embryonnaire alors que la théorie des CSC fait (en général) référence à des cellules souches adultes.

Une fois ces distinctions faites, il reste néanmoins justifié et intéressant de considérer, avec les spécialistes des CSC, que les hypothèses défendues par Robert Remak, Rudolf Virchow et Julius Cohnheim sont des hypothèses (différentes) de l'origine des cancers dans et par des cellules souches. Dans les trois cas décrits comme dans le cas de la théorie des CSC, les hypothèses désignent une catégorie de cellules, déterminées par des propriétés fonctionnelles spécifiques, comme origine des cancers. La description fonctionnelle de ces cellules est similaire dans tous ces cas : il s'agit d'un potentiel de différenciation important. Notons également que ces cellules occupent une position développementale analogique : le sommet de la hiérarchie différenciative. Ce sont les cellules qui donnent naissance aux autres cellules.

Cette lecture permet de voir que l'hypothèse de l'origine des cancers dans et par des cellules souches est permissive au moins concernant les deux questions suivantes :

- 1) A quoi font référence ces cellules souches ? Plusieurs entités distinctes peuvent incarner cette cellule d'origine, notamment des cellules souches embryonnaires et des cellules souches adultes.
- 2) Quel est son domaine d'extension ? L'hypothèse peut s'appliquer à un, plusieurs ou tous les cancers. Pour Robert Remak, elle s'applique exclusivement aux cas de cancers présentant des types cellulaires contradictoires à leur localisation, alors que pour Rudolf Virchow, Julius Cohnheim et la théorie des CSC, elle concerne tous les cancers.

accurate microscopic examination of this same nose in the earliest years would fail to discover it. »

Le chapitre 5 montrera que ces questions peuvent être adressées à la théorie des CSC elle-même, sa version de l'hypothèse de l'origine des cancers n'étant pas aussi claire qu'il n'y paraît.

4.2. L'influence de la théorie des restes embryonnaires au cours du XX^e siècle : les tératomes et tératocarcinomes

La théorie des restes embryonnaires (délocalisés ou surnuméraires) a été souvent discutée durant la première moitié du XX^e siècle. Elle représentait une alternative aux théories des origines parasitiques et chimiques des cancers qui émergeaient alors et qui rencontraient un succès croissant²⁸¹. Cette théorie de l'origine des tumeurs et cancers a néanmoins disparu rapidement à l'exception de deux cas notables de cancers : les adamantinomes et les tératocarcinomes (section 4.2.1). L'examen de ces cancers permet de lier la théorie des restes embryonnaires à celle des cellules souches cancéreuses, notamment à travers la caractérisation des cellules d'origine comme des cellules de type souche, qui fut faite par Leroy Stevens (section 4.2.2) et Gordon Barry Pierce (section 4.2.3).

Le cas des adamantinomes²⁸² représente un prolongement passionnant du problème rencontré à partir de 1850 pour expliquer des cancers hétéroplastiques contredisant la théorie des feuilletts embryonnaires. Ce problème et la solution proposée par Robert Remak et Julius Cohnheim ont véritablement traversé le XX^e siècle et sont toujours d'actualité. Cette persistance s'est toutefois faite en parfaite indépendance par rapport à l'émergence de

²⁸¹ Le philosophe et historien des sciences Andreas-Holger Maehle a publié un article riche sur le sujet et auxquels je dois une grande partie des références datant de la première moitié du XX^e siècle. Voir : Maehle AH (2011) « Ambiguous cells: the emergence of the stem cell concept in the nineteenth and twentieth centuries » *Notes Rec R Soc Lond* 65(4): 359-378.

Sur les discussions autour de la théorie de Cohnheim à cette période, il donne les références suivantes : Ribbert H (1897) *Ueber Rueckbildung an Zellen und Geweben und ueber die Entstehung der Geschwuelste*. Stuttgart: Erwin Nägele, pp. 41-42; Ribbert H (1906) *Beitraege zur Entstehung der Geschwuelste*. Bonn: Friedrich Cohen, pp. 6-13; Borst M (1902) *Die Lehre von den Geschwuelsten* (2 volumes). Wiesbaden: J. F. Bergmann, vol. 1, p. 39a; vol. 2, pp. 817-818; Schwalbe E (1906) *Allgemeine Missbildungslehre (Teratologie). Eine Einfuehrung in das Studium der Abnormen Entwicklung*. Jena: Gustav Fischer, pp. 155-158; Aschoff L, Küster E and Schmidt WJ (1938) *Hundert Jahre Zellforschung*. Berlin: Gebrüder Borntraeger, pp. 250-258.

²⁸² Les adamantinomes sont des cancers composés de cellules de type épithélial qui ressemblent à celles de l'organe de l'émail présent chez le fœtus humain d'environ quatre mois. Ils affectent essentiellement la mâchoire mais peuvent aussi être observés dans d'autres parties du corps, en particulier dans l'hypophyse (adamantinome hypophysaire) et dans les os, notamment dans le tibia (adamantinome du tibia). Il est probable que la tumeur observé par Rudolf Virchow (section 4.1.2) soit un cas d'adamantinome du tibia.

la théorie des CSC²⁸³. Pour cette raison, son analyse est proposée en annexe (voir Annexe 2). Le cas des tératomes et tératocarcinomes a, pour sa part, tenu une place importante tant dans l'histoire du concept de cellule souche embryonnaire que dans celle du concept de cellule souche cancéreuse.

4.2.1. Première moitié du XX^e siècle : la théorie des blastomères contre la théorie trophoblastique.

Les tératomes et tératocarcinomes sont des cancers caractérisés par une grande hétérogénéité dans les cellules qui les composent. En effet, on y trouve des cellules différenciées issues des trois feuillets embryonnaires (des épithéliums respiratoires ou digestifs, du muscle lisse ou strié, du cartilage, de l'os, du tissu nerveux, etc...) ainsi que, pour les tératocarcinomes, des cellules indifférenciées qui ressemblent aux cellules de l'embryon précoce (voir Figure 26). Ils se développent le plus souvent dans les testicules et les ovaires. La distinction entre tératome et tératocarcinome est récente. Dans la littérature utilisée dans ce chapitre, les noms tératomes et tératocarcinomes sont utilisés de manière fluctuante pour désigner le même référent²⁸⁴. Ainsi, pour éviter les confusions que peuvent provoquer ces synonymies et homonymies à la lecture, ils seront systématiquement nommés 'tératomes/tératocarcinomes'.

²⁸³ Notons que cela confirme le diagnostic historique de différence entre les hypothèses de Robert Remak, Rudolf Virchow et Julius Cohnheim et celle de la théorie des CSC. L'hypothèse de l'origine des cancers dans et par des cellules souches de la théorie des CSC n'est pas une hypothèse de l'origine des cancers dans et par des cellules embryonnaires.

²⁸⁴ La terminologie a été relativement mobile au sujet de ces cancers. D'une part, ils étaient appelés « embryomes » au XX^{ème} siècle, d'autre part une distinction précise entre tératome et tératocarcinome fut longue à s'imposer. Aujourd'hui, on distingue les tératocarcinomes (malins) qui présentent des cellules différenciées et des cellules indifférenciées et les tératomes (bénins) qui ne présentent pas de cellules indifférenciées. Voir par exemple l'article historique de Michel Morange (2006) « What history tells us VII. Twenty-five years ago: the production of mouse embryonic stem cells » *J Biosci* 31(5): 537-541. « A distinction has later been made between different types of tumours: teratomas designate benign tumours, uniquely formed of variously differentiated cells and tissues; the more malignant teratocarcinomas contain both differentiated cells and small undifferentiated ones; and aggressive embryonal carcinomas only contain rapidly proliferating undifferentiated (EC) cells » (p. 537).

Voir aussi les manuels de biologie du développement de Scott Gilbert. Par exemple : Gilbert SF (2003) *Developmental Biology*. Seventh edition. Sinauer, Sunderland, p. 621.

Sur la terminologie, voir aussi: Damjanov I and Andrews PW (2007) « The terminology of teratocarcinomas and teratomas » *Nat Biotechnol* 25(11): 1212.

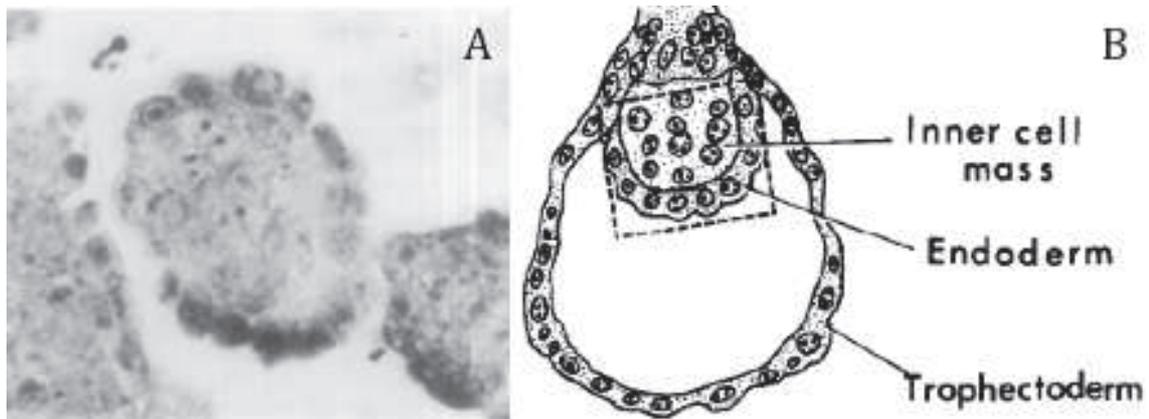


Figure 26. Ressemblance entre les tératocarcinomes et l'embryon précoce, Martin (1975)²⁸⁵. A : section histologique d'un corps embryoid (« embryoid body ») de tératocarcinome. Les cellules externes sont endodermiques et les cellules internes sont appelées cellules de carcinome embryonnaire en raison de leur ressemblance aux cellules embryonnaires de la masse interne au stade blastocyste tardif. B : schéma d'un embryon de souris au stade blastocyste après la constitution d'une couche de cellule endodermiques autour de la masse cellulaire interne. Pour situer le stade blastocyste au cours du développement, voir Figure 3.

Dès la fin du XIX^e siècle et les premières descriptions histologiques des tératomes/tératocarcinomes par le professeur Max Wilms (1867-1918)²⁸⁶, alors appelés embryomes en raison de leur ressemblance aux embryons, une hypothèse semblable à celle des restes embryonnaires de Julius Cohnheim était convoquée pour expliquer les caractéristiques histologiques de ces tumeurs. Cette hypothèse, dite « théorie des blastomères » (*Blastomeren-theorie*), fut développée par Felix Marchand²⁸⁷ et Robert Bonnet²⁸⁸ à la fin du XIX^e siècle et consistait en une transposition de la théorie des restes embryonnaires surnuméraires aux tératocarcinomes, les « restes embryonnaires » étant plus précisément décrits comme des « blastomères ». Les embryomes proviendraient de blastomères ayant échappé au développement. Leur capacité développementale embryonnaire précède la formation des feuilletts embryonnaires ce qui permettait d'expliquer la présence de cellules issues de ces trois feuilletts et de cellules semblables à

²⁸⁵ Les deux figures correspondent respectivement aux figures 2 et 4C, p. 231 et 232, respectivement, de Martin GR (1975) « Teratocarcinomas as a model system for the study of embryogenesis and neoplasia » *Cell* 5(3): 229-243. Légendes d'origine : Figure 2. « Simple Embryoid Body Histological section (7 p) stained with hematoxylin and eosin. Outer cells are endoderm, surrounding an inner core of embryonal carcinoma cells. Magnification: x 520 ». Figure 4. « Schematic Representation of Various Stages of Mouse Embryogenesis : (C) Embryo at approximately 5 days of development. The endoderm has formed on the free surface of the inner cell mass, and the two-layered embryonic structure is growing down into the blastocoel ».

²⁸⁶ Le chirurgien Max Wilms met en évidence dans les années 1890 l'existence de tissus provenant des trois feuilletts embryonnaires ainsi que de cellules indifférenciées dans les « embryomes » des ovaires et des testicules. Voir : Wilms M (1895) « Ueber die Dermoideysten und Teratome etc » *Deutsch Arch. f. klin. Med.* 55: 1-108.

²⁸⁷ Marchand F (1898) *Die Missbildungen*, 3rd edition. Vienna: Gistel, pp. 75-79.

²⁸⁸ Bonnet R (1901) « Zur Aetiologie der Embryome ». *Monatsschr. Geburtshülfe Gynaekol.* 13: 149-176.

celles de l'embryon précoce. Cette hypothèse de l'origine des tératomes/tératocarcinomes s'est tout de suite vue concurrencée par une autre alternative : la possibilité que ces tumeurs se développent à partir des cellules germinales ou « d'œufs rudimentaires ou 'avortés' laissés par l'ovogenèse »²⁸⁹.

Il est notable que ces deux alternatives, qui sont restées les deux alternatives principales pour l'origine des tératomes/tératocarcinomes²⁹⁰, sont équivalentes du point de vue fonctionnel. Dans les deux cas, l'explication des caractéristiques cellulaires de ces tumeurs repose sur le potentiel développemental des cellules immatures dans lesquelles elles prennent leur origine. Autrement dit, il s'agit, une fois encore, d'une alternative entre deux hypothèses de l'origine des cancers dans et par des cellules souches.

La généralisation de la théorie des restes embryonnaires par Julius Cohnheim a eu des échos importants dans la communauté scientifique allemande et internationale. Plusieurs chercheurs ont très vite tenté de la tester expérimentalement, en transplantant des tissus embryonnaires dans des animaux adultes pour observer la capacité des cellules embryonnaires à produire des tumeurs²⁹¹. Ces expériences, bien qu'elles aient pu être

²⁸⁹ « The rudimentary or 'abortive' eggs left over from oogenesis ». Maehle AH (2011) « Ambiguous cells: the emergence of the stem cell concept in the nineteenth and twentieth centuries » *Notes Rec R Soc Lond* 65(4): 359-378, ici p. 10 de la version électronique (en libre accès sur PubMed).

Felix Marchand avait lui-même soutenu cette hypothèse avant de proposer celle des blastomères. Voir Marchand F (1898). *Die Missbildungen*, 3rd edition. Gistel, Vienna, pp. 75-79. Max Wilms aurait également d'abord envisagé cette hypothèse avant de souscrire à celle de Felix Marchand et Robert Bonnet. Voir Maehle AH (2011) « Ambiguous cells: the emergence of the stem cell concept in the nineteenth and twentieth centuries » *Notes Rec R Soc Lond* 65(4): 359-378, p. 10 de la version électronique : « Wilms initially assumed that an embryoma developed from a germ cell in the ovary or testis, but later agreed with the blastomere theory of Marchand and Bonnet ».

²⁹⁰ Martin GR (1975) « Teratocarcinomas as a model system for the study of embryogenesis and neoplasia » *Cell* 5(3): 229-243.

²⁹¹ Zahn FW (1877) « Sur le sort des tissus implantés dans l'organisme » Congrès international des sciences médicales, Geneva, Septembre 9-15. *Compt. Rend. Mém* : 658-664 ; Leopold G (1881) « Experimentelle Untersuchungen ueber die Aetiologie der Geschwueslte » *Arch. path. Anat. Phys. klin. Med.* 85 : 283-324; Birch-Hirschfeld A and Garten S (1899) « Ueber das Verhalten implantirter embryonaler Zellen im erwachsenen Thierkörper », *Beitr. Pathol. Anat. Allg. Pathol.* 26: 132-172 ; Féré C et Lutier A (1900) « Nouvelles observations sur les tératomes expérimentaux », *Arch. Anat. Microsc.* 3: 337-368 ; Traina R (1902) « Ueber Transplantationen von Embryonalgeweben ins Ovarium und die Bildung von Ovarialcysten », *Centralblatt Allg. Pathol. Pathol. Anat.* 13: 49-56; Wilms M (1905) « Wachstum embryonaler Implantation und Geschwulstbildung », *Verh. Dt. Pathol. Ges.*, year 1904: 79-80 ; Rössle R (1906) « Ueber die Einverleibung von Embryonalzellen », *Münch. Med. WochSchr.* 53: 143-144 ; Borst M (1908) « Die Teratome und ihre Stellung zu anderen Geschwülsten », *Verh. Dt. Pathol. Ges.*, year 1907, 83-104. Voir aussi Maehle AH (2011) « Ambiguous cells: the emergence of the stem cell concept in the nineteenth and twentieth centuries » *Notes Rec R Soc Lond* 65(4): 359-378.

considérées comme des démonstrations de la théorie des restes embryonnaires²⁹², rencontraient des succès très relatifs car les transplantations aboutissaient généralement, après une période de croissance, à des résorptions. Le seul à avoir obtenu de véritables croissances de tumeurs, des tératomes/tératocarcinomes, lors de ces transplantations était le professeur de pathologie Max Askanazy (1865-1940)²⁹³.

Parallèlement, dans la littérature anglophone, la « théorie trophoblastique » des cancers développée par l'embryologiste John Beard (1858-1924), apportait un soutien à l'hypothèse concurrente, à savoir celle d'une origine des tératomes dans les cellules germinales. Selon cette hypothèse²⁹⁴, les cancers seraient des sortes de « trophoblastes irresponsables » (*irresponsible trophoblasts*) issus de « cellules germinales primitives persistantes », parfois « vagabondes » (pour les cancers non-localisés dans les ovaires ou les testicules)²⁹⁵. Le développement soudain de ces cellules germinales au cours de la vie extra-utérine produirait des néoplasmes similaires, dans leurs structures et dans leurs comportements, au trophoblaste (couche cellulaire périphérique du blastocyste impliqué dans la nidation de l'œuf et dont dérive le placenta, voir Figure 26 B). Cette théorie a,

²⁹² En 1877 Friedrich Wilhelm Zahn avait montré que les tissus embryonnaires étaient les seuls capables de se développer après transplantation et en avait conclu que ces tissus étaient « plus étroitement liés aux néoplasmes que les tissus adultes normaux ». Zahn FW (1877) « Sur le sort des tissus implantés dans l'organisme » Congrès international des sciences médicales, Geneva, Septembre 9-15. *Compt. Rend. Mém* : 658-664.

Son successeur, G Leopold, avait également montré une corrélation positive entre la jeunesse de l'embryon et la capacité de croissance des cellules après transplantation. Ses expériences avaient été interprétées par G Leopold et Julius Cohnheim lui-même comme de véritables démonstrations de la théorie des restes embryonnaires. Voir Leopold G (1881) « Experimentelle Untersuchungen ueber die Aetiologie der Geschwueslste » *Arch. path. Anat. Phys. klin. Med.* 85: 283-324 et l'analyse de Rather LJ (1978) *The genesis of cancer. A Study in the History of Ideas*. Baltimore, Johns Hopkins University Press.

²⁹³ Il présenta lui aussi ses expériences de transplantations comme « la plus 'belle' illustration de la théorie de Cohnheim ». Voir Askanazy M (1908) « Die Teratome nach ihrem Bau, ihrem Verlauf, ihrer Genese und im Vergleich zum experimentellen Teratoid », *Verh. Dt. Pathol. Ges.*, year 1907, 39 82, en particulier p. 47 pour la référence à Julius Cohnheim. Voir aussi l'analyse de Maehle AH (2011) « Ambiguous cells: the emergence of the stem cell concept in the nineteenth and twentieth centuries » *Notes Rec R Soc Lond* 65(4): 359-378, en particulier p. 9 de la version électronique

²⁹⁴ Le statut épistémologie de ces différentes « théories » étant incertain, je favorise le terme hypothèse.

²⁹⁵ « They always arise from persistent primary germcells. » Beard J (1900) « The morphological continuity of the Germ Cells in Raja batis » *Anat. Anzeiger* 18: 465-485, ici p. 478. Voir aussi Beard J (1902) « Embryological Aspects and etiology of carcinoma » *The Lancet* 159(4112): 1758-1761, en particulier p. 1759 ; Beard J (1905) « The Cancer Problem » *The Lancet* 165(4249): 281-283.

John Beard soutient fermement que les tumeurs font partie de l'embryologie et pas seulement de la pathologie. Voir par exemple : Beard J (1904) « Cancer Genesis ». *The Lancet* 164(4238): 1447-1448 : « The doctrine of the tumours, benign and malignant, is a chapter of this science [embryology or comparative embryology], not an integral portion of pathology ».

semble-t-il, rencontré un certain nombre de réticences, dont John Beard atteste lui-même²⁹⁶, et de critiques. Gilbert William de Poulton Nicholson, par exemple, a opposé à la théorie du trophoblaste, l'absence de caractéristiques fondamentales à l'embryon dans les tératomes, tels que les membranes, la segmentation, ou encore la possession d'un système vasculaire propre²⁹⁷. Le médecin et biologiste français Albert Peyron a cependant pris position contre Poulton Nicholson, en rapportant l'existence de structures telles qu'une « région hypophysaire avec les deux lobes de la glande et des vestiges du tractus pharyngo-hypophysaire » donnant, selon lui, « la preuve, dans l'embryome sacro coccygien, d'un axe embryonnaire médian correspondant à la chorde ou à la plaque préchordale », mais également d'une « véritable région lombaire avec sa structure de type fœtal » et, surtout, de la présence « des deux testicules »²⁹⁸. Albert Peyron considérait ces tumeurs comme de « véritables jumeaux » ayant suivi un développement pathologique (encore une nouvelle hypothèse de l'origine dans et par des cellules souches). Les arguments d'Albert Peyron contre Poulton Nicholson n'ont pas mis fin à la critique de l'hypothèse de l'origine des tératocarcinomes dans des cellules germinales déplacées, ou « vagabondes » (*vagrant*) sous la plume de John Beard, qui a ensuite rencontré la critique du spécialiste de la différenciation sexuelle, Emil Witschi en 1948²⁹⁹, puis celle de Duncan Chiquoine en 1954³⁰⁰. L'un comme l'autre ont critiqué l'hypothèse de l'existence de cellules germinales primordiales *déplacées*. Emil Witschi avait observé que les cellules germinales qui ne parvenaient pas au bout de leur migration régressaient jusqu'à résorption. Par ailleurs, ses propres travaux sur la différenciation sexuelle le rendaient sceptique à l'égard de la possibilité que les cellules germinales soient capables de se différencier en d'autres types cellulaires qu'en ovules ou spermatozoïdes³⁰¹. Duncan Chiquoine affirmait pour sa part qu'il n'y avait « aucune observation soutenant une telle distribution généralisée de cellules germinales égarées ». De plus, à la même époque, Elizabeth Fekete et Mary Ann Ferrigno, parvenant à des

²⁹⁶ Selon son propre témoignage, son hypothèse rencontre une forte opposition de la part des partisans de la théorie parasitic du cancer. Voir Beard J (1905) « The Cancer Problem and Cancer Research » *The Lancet* 165(4250): 385-386.

²⁹⁷ de Poulton Nicholson GW (1929) « The histogeny of teratomata ». *The Journal of Pathology and Bacteriology* 32(3): 365-386.

²⁹⁸ Peyron A (1939) « Faits nouveaux relatifs à l'origine et à l'histogénèse des embryomes ». *Bull. Cancer* 28 : 658 681, ici p. 660.

²⁹⁹ Witschi E (1948) « Migration of the Germ Cells of Human Embryos from the Yolk Sac to the Primitive Gonadal Folds » *Contr. Embryol. Carnegie Inst.* 32: 67-80.

³⁰⁰ Chiquoine AD (1954) « The identification, origin, and migration of the primordial germ cells in the mouse embryo » *Anat Rec* 118(2): 135-146.

³⁰¹ Voir Maehle AH (2011) « Ambiguous cells: the emergence of the stem cell concept in the nineteenth and twentieth centuries » *Notes Rec R Soc Lond* 65(4): 359-378, ici p. 11 et 12 de la version électronique (en libre accès sur PubMed).

transplantations sérielles à partir d'un cas de tératocarcinome murin survenu naturellement, soutenaient que l'analyse chromosomique des tumeurs rendait impossible l'hypothèse d'un développement parthénogénétique à partir de cellules germinales. La possibilité de la transplantation en série de ce cancer les avait mené à conclure, d'une part, que les tumeurs possédaient des cellules pluripotentes et, d'autre part, que « les éléments variés ne peuvent avoir été produits que par la croissance et la différenciation continue des cellules pluripotentes transférées »³⁰².

La biologiste Beatrice Mintz a mis un terme, en 1961, à la critique développée par Emil Witschi (dont elle fut l'étudiante) et Duncan Chiquoine en démontrant qu'un nombre « substantiel » de cellules germinales primordiales se perdaient et survivaient lors de leur migration depuis le sac vitellin jusqu'à la crête germinale, chez la souris et le poussin³⁰³. Sur cette base, la théorie de l'origine germinale des tératocarcinomes a pu à nouveau être soutenue³⁰⁴. Par ailleurs, la version trophoblastique de cette théorie, défendue par John Beard, semble avoir connu un second souffle à partir des années 1970³⁰⁵ et notamment en relation directe avec la théorie des CSC en 2008³⁰⁶.

Cette controverse de longue haleine contribue à montrer l'indétermination de l'hypothèse de l'origine des cancers dans et par des cellules souches et en particulier du référent attribuable aux cellules souches. L'hypothèse est si indéterminée qu'elle permet un siècle de conflits entre au moins deux sous-hypothèses adverses. La question reste de savoir si la théorie des CSC met fin à cette indétermination. Je montrerai que ce n'est pas le cas.

Passées les années 1950, la théorie des restes embryonnaires de Julius Cohnheim ou des blastomères de Felix Marchand et Robert Bonnet et la théorie des cellules germinales primitives de Max Wilms ou trophoblastiques de John Beard, ont eu une existence diffuse et timide. Deux chercheurs, cependant, méritent une attention particulière pour avoir participé activement à la fois au débat sur l'origine des tératocarcinomes et à l'émergence

³⁰² « The varied elements could be produced only by the continuous growth and differentiation of transferred pluripotent cells ». Fekete E and Ferrigno MA (1952) « Studies on a transplantable teratoma of the mouse » *Cancer Res* 12(6): 438-440, ici p. 440.

³⁰³ Mintz B (1961) « Formation and Early Development of Germ Cells » pp. 1-24 in Ranzi S (Ed) *Symposium on the Germ Cells and Earliest Stages of Development*. Fondazioni A Baselli. Milan : Istituto Lombardo.

³⁰⁴ Voir par exemple Simson LR, Lampe I and Abell MR (1968) « Suprasellar germinomas » *Cancer* 22(3): 533-544. Les auteurs citent Mintz à l'appui de l'hypothèse de l'origine des germinomes suprasellaires dans les cellules germinales.

³⁰⁵ Gurchot C (1975) « The trophoblast theory of cancer (John Beard, 1857-1924) revisited » *Oncology* 31(5-6): 310-333.

³⁰⁶ Burleigh AR (2008) « Of germ cells, trophoblasts, and cancer stem cells ». *Integr Cancer Ther* 7(4): 276-281. L'auteur soutient que la théorie trophoblastique est « remarquablement similaire » à celle des cellules souches cancéreuses.

des conceptions modernes des cellules souches embryonnaires, pour l'un, et de la théorie des cellules souches cancéreuses, pour l'autre. Il s'agit de Leroy Stevens et Gordon Barry Pierce, respectivement.

4.2.2. La contribution de Leroy Stevens

Indépendamment de toute référence à Max Wilms, John Beard, Julius Cohnheim, Felix Marchand et Robert Bonnet ou encore Max Askanazy, l'hypothèse de l'origine des tératomes/tératocarcinomes dans et par des cellules embryonnaires et celle de leur origine dans et par des cellules germinales ont été activement discutées suite à la découverte, au début des années 1950, d'une lignée de souris, la souche 129, dont les mâles étaient sujets à un taux anormalement élevé de tératomes/tératocarcinomes des testicules. La découverte a été faite dans le Laboratoire Jackson, à Bar Harbor, par Leroy Stevens, embryologiste de formation alors en post-doctorat sous la direction du généticien Clarence Cook Little³⁰⁷. Le laboratoire Jackson a été mis en place en 1929, avec l'objectif de développer des lignées de souris pour y étudier les cancers³⁰⁸. Leroy Stevens avait été embauché sur un financement de l'industrie du tabac, pour démontrer que ce qui était toxique dans la cigarette n'était pas le tabac, mais le papier³⁰⁹. L'étude routinière de dizaines de souris, pour ce projet, l'a mené à identifier une incidence anormalement élevée de tératomes/tératocarcinomes dans la lignée de souris 129. Les tératomes/tératocarcinomes sont extrêmement rares chez les souris, leur incidence est bien plus élevée chez les humains. La découverte d'une lignée de souris dont environ 1% des mâles développent ces tumeurs était donc précieuse. Elle offrait un modèle animal à partir duquel des études plus systématiques pouvaient être conduites. Leroy Stevens s'est rapidement engagé dans ces recherches, qui l'ont conduit à la question de l'origine des tératomes/tératocarcinomes. A ce sujet, Elizabeth Jackson et Austin Brues avaient conduit des expériences de transplantations d'un tératome/tératocarcinome apparu dans l'ovaire d'une souris de la souche C₃H. Après avoir séparé les populations de cellules en fonction de leurs caractéristiques histologiques, ils les avaient transplantées dans d'autres souris de cette souche. Leurs résultats, publiés en 1941, montraient, d'une part, que seules les populations de cellules indifférenciées, d'allure

³⁰⁷ Stevens LC and Little CC (1954) « Spontaneous Testicular Teratomas in an Inbred Strain of Mice » *Proc Natl Acad Sci U S A* 40(11): 1080-1087.

³⁰⁸ Pour plus de détails sur le laboratoire Jackson et ses souris, dont la lignée 129, voir Rader K (2004) *Making Mice. Standardizing Animals for American Biomedical Research, 1900-1955*. Princeton: Princeton University Press.

³⁰⁹ Voir Lewis RA (2001) *Discovery: windows on the life sciences*. Malden: Blackwell, chapitre 6.

embryonnaire, étaient capables de produire de nouveaux tératomes/tératocarcinomes et, d'autre part, que toute l'activité mitotique des tumeurs semblait se trouver dans ces cellules³¹⁰. Neuf ans plus tard, les transplantations d'un autre cas de tératome/tératocarcinome réalisées par Elizabeth Fekete et Mary Ann Ferrigno, au laboratoire Jackson, avaient confirmé ces observations et mené à l'hypothèse de la pluripotence de ces cellules indifférenciées, comme indiqué à la section précédente.

Prolongeant ces recherches, Leroy Stevens s'est intéressé à ces cellules indifférenciées et à la caractérisation des phases développementales des tératomes/tératocarcinomes. Les transplantations de ces tumeurs donnaient naissance à des corps embryoides semblables à des embryons au stade blastocyste³¹¹ (voir Figure 26). Ces corps embryoides pouvaient ensuite se renouveler et donner naissance à des cellules différenciées issues des trois feuilletts embryonnaires³¹² (voir Figure 27).

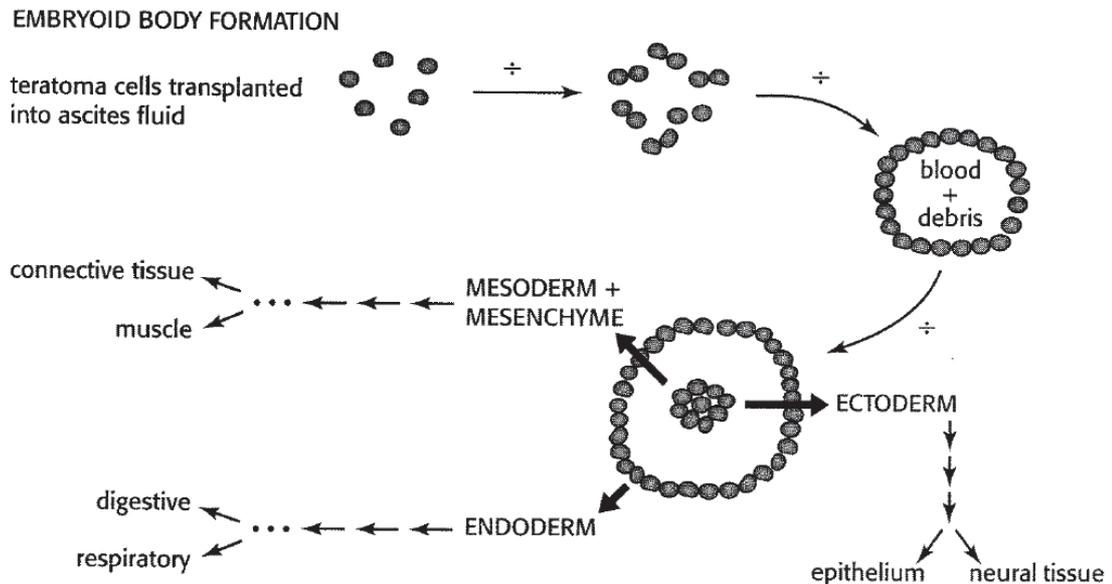


Figure 27. Caractérisation du développement des tératomes/tératocarcinomes par Leroy Stevens, Figure de Lewis (2001)³¹³. Légende d'origine : « Les cellules de tératocarcinomes transférées dans le ventre d'une souris répondent à des facteurs dans le liquide ascitique, se différencient et interagissent pour former des structures en couches appelées des corps embryoides. Ces corps sont un peu comme des embryons précoces à l'envers ».

³¹⁰ Jackson EB and Brues AM (1941) « Studies on transplantable embryoma of mouse » *Cancer Res* 1: 494-498.

³¹¹ Stevens LC (1959) « Embryology of testicular teratomas in strain 129 mice » *J Natl Cancer Inst* 23: 1249-1295.

³¹² Stevens LC (1960) « Embryonic potency of embryoid bodies derived from a transplantable testicular teratoma of the mouse » *Dev Biol* 2: 285-297.

³¹³ Figure issue de Lewis RA (2001) *Discovery: windows on the life sciences*. Blackwell, Malden, MA, (ici, Figure 6.4, p. 134). Légende d'origine : « Teratoma cells transferred to a mouse's belly respond to factors in the ascites fluid, differentiating and interacting to form layered structures called embryoid bodies. These bodies are a little like inside-out early embryos ».

C'est à la suite de cette caractérisation que Leroy Stevens s'est intéressé à la question de l'origine des tératomes/tératocarcinomes dans l'organisme. L'observation du développement des souris l'avait mené à la conclusion que ces tumeurs se développaient durant le développement embryonnaire, entre 12 et 17 jours après la fécondation, dans les testicules des embryons. Favorable à l'hypothèse de l'origine de ces tumeurs dans les cellules germinales, il a transplanté des crêtes génitales³¹⁴ d'embryons de souris de 12 jours dans les testicules de souris adultes. Plus précisément, il a conduit deux séries de transplantations : une à partir de crêtes génitales d'embryons de souris stériles (mutation du gène Steel), l'autre à partir de crêtes génitales d'embryons de souris fertiles. Ses résultats montraient que les transplantations issues de souris fertiles aboutissaient, dans des proportions élevées (75%), au développement de tératomes/tératocarcinomes. Au contraire, seules 2 des 75 transplantations effectuées à partir des souris stériles avaient abouti au développement de tumeurs. Les souris stériles ayant peu, ou pas, de cellules germinales, ces résultats suggéraient que les cellules germinales primordiales (et non les cellules de soutien constituant le reste des crêtes génitales) seraient les cellules d'origine des tératomes/tératocarcinomes³¹⁵.

Le désir d'étudier l'absence de tératomes/tératocarcinomes chez les souris femelles de la lignée 129 a ensuite mené Leroy Stevens à transplanter des œufs fécondés d'un jour (stade deux cellules)³¹⁶, puis de trois et six jours (six jours étant le stade blastocyste présenté à la Figure 26)³¹⁷. Ces transplantations pouvaient aboutir à une prolifération de cellules embryonnaires indifférenciées, ainsi qu'à des tératomes/tératocarcinomes, que Leroy Stevens pouvait maintenir et retransplanter efficacement. Ce résultat inattendu a eu deux conséquences importantes. Premièrement, il a conduit Leroy Stevens à réconcilier les deux hypothèses concurrentes de l'origine des tératomes/tératocarcinomes. Deuxièmement, il a ouvert un champ de recherche qui a conduit à la production des cellules ES (cellules embryonnaires pluripotentes en culture).

³¹⁴ Structure au sein de laquelle se développent les cellules germinales primordiales.

³¹⁵ Stevens LC (1967) « Origin of testicular teratomas from primordial germ cells in mice » *J Natl Cancer Inst* 38(4): 549-552 ; Stevens LC (1964) « Experimental Production of Testicular Teratomas in Mice » *Proc Natl Acad Sci USA* 52: 654-661.

Les crêtes génitales transplantées contiennent les cellules germinales primordiales et des cellules de soutien. L'absence de développement de tératomes/tératocarcinomes à partir de crêtes génitales de souris stériles permet d'indiquer que ces tumeurs proviennent des cellules germinales et non des cellules de soutien.

³¹⁶ Stevens LC (1968) « The development of teratomas from intratesticular grafts of tubal mouse eggs » *J Embryol Exp Morphol* 20(3): 329-341.

³¹⁷ Stevens LC (1970) « The development of transplantable teratocarcinomas from intratesticular grafts of pre- and postimplantation mouse embryos » *Dev Biol* 21(3): 364-382.

Réconciliation des hypothèses de l'origine des tératomes/tératocarcinomes dans des cellules embryonnaires et dans des cellules germinales.

La production de tératomes/tératocarcinomes à partir de cellules de la crête génitale montrait que ces tumeurs pouvaient prendre leur origine dans des cellules germinales primordiales. La production de tératomes/tératocarcinomes à partir d'œufs à un stade développemental antérieur au blastocyste (inclus) montrait qu'elles pouvaient également prendre leur origine dans des cellules souches embryonnaires. Leroy Stevens en a donc conclu que ces deux hypothèses n'étaient pas contradictoires.

L'importance du rôle fonctionnel accordé aux cellules à partir desquelles les cancers se développent, ainsi que l'étroite relation entre ce rôle et les propriétés intrinsèques de ces cellules, sont très claires dans les travaux de Leroy Stevens. Ces cellules sont des cellules « indifférenciées », « pluripotentes » (c'est-à-dire capables de donner naissance à des cellules des trois feuillets embryonnaires) et capables de se reproduire sans différenciation (c'est-à-dire de s'auto-renouveler). Elles sont les seules cellules tumorigènes, les cellules dont proviennent toutes les autres cellules présentes dans les tératomes/tératocarcinomes. Il soutient donc un modèle de développement des cancers très proche de celui de la théorie des CSC, dans ses caractéristiques principales. La conséquence de la réconciliation qu'il effectue entre les hypothèses de l'origine embryonnaire ou germinale est donc instructive. Elle montre que les propriétés fonctionnelles par lesquelles sont définies les cellules souches (auto-renouvellement et différenciation), ne suffisent pas à déterminer un référent stricte et déterminé. Plusieurs types de cellules peuvent répondre à cette caractérisation. Ce problème sera examiné en détail au chapitre 5.

Par ailleurs, l'usage de la notion de « cellule souche » par Leroy Stevens est pour le moins ambiguë (et tardive, il n'en fait pas mention dans les premiers articles). Tantôt, il utilise le concept de cellule souche au sens technique qu'on lui donne aujourd'hui. Tantôt, il l'utilise au sens métaphorique de « *souche de* », notamment lorsqu'il fait référence aux « cellules souches de tératomes/tératocarcinomes »³¹⁸. Cela concorde avec l'analyse historique présentée au chapitre précédent. Selon l'analyse de Christina Brandt, l'usage de la

³¹⁸ Voir par exemple : Stevens LC (1970) « The development of transplantable teratocarcinomas from intratesticular grafts of pre- and postimplantation mouse embryos ». *Dev Biol* 21(3): 364-382, en particulier p. 380 : « When 3- and 6-day mouse embryos are grafted into the testes of adults they become disorganized and develop into growths composed of many kinds of tissues. In some grafts, some of the cells remain undifferentiated for remarkably long periods of time. These cells are pluripotent and they may continue to proliferate indefinitely and serve as stem cells of teratomas ».

notion de cellule souche à l'égard des cellules embryonnaires était peu commune jusqu'à ce que Gail Martin introduise le concept de cellules souches embryonnaires (cellules ES), en 1981. L'application du concept de cellule souche, tel qu'il était utilisé pour les tissus adultes, en particulier pour le système hématopoïétique, au cas des cellules embryonnaires était sujette à discussion³¹⁹.

De l'étude des tératocarcinomes à l'isolement des cellules ES

La production de tératomes/tératocarcinomes suite à la transplantation d'embryons précoces a eu un destin heureux, dans l'histoire des cellules souches embryonnaires, qui ne saurait être ignoré. Leroy Stevens avait mis au point un système qui permettait de cultiver les cellules indifférenciées des tératomes/tératocarcinomes, appelées cellules de « carcinomes embryonnaires » (EC pour *embryonal carcinoma*). Ce système permettait d'étudier ces cellules et avait été complété par la mise en place de protocoles de culture *in vitro*³²⁰. Ces techniques ont permis aux études qui ont suivi de révéler une grande similitude entre les cellules EC et les cellules de la masse interne de l'embryon au stade blastocyste³²¹. Plusieurs équipes ont alors fait des expériences de transplantations de cellules EC dans des embryons au stade blastocyste³²². Parmi eux, Beatrice Mintz et Karl Illmensee ont ainsi obtenu le développement de souris chimériques, contenant des tissus normaux développés à partir de cellules EC issues des souris de Leroy Stevens³²³. L'étude de la similarité entre les cellules EC et les cellules de la masse interne du blastocyste motivait les tentatives d'isolement de ces cellules normales. Plusieurs tentatives avaient cependant échoué, depuis

³¹⁹ Voir Brandt C (2012) « Stem Cells, Reversibility and Reprogramming: Historical Perspectives ». Chapter 4, pp. 55-91. In Mazzolini RG and Rheinberger H-J (eds) *Differing Routes to Stem Cell Research: Germany and Italy*. Bologna: Il mulino, and Berlin: Duncker & Humblot, p. 77 ; Papaïannou VE, Rossant J and Gardner R (1978) « Stem Cells in Early Mammalian Development », pp. 49-69. In Lord BI, Potten CS and Cole RJ (eds). *Stem Cells and Tissue Homeostasis*. Cambridge : Cambridge University Press. Voir en particulier p. 49, 50.

³²⁰ Finch BW and Ephrussi B (1967) « Retention of multiple developmental potentialities by cells of a mouse testicular teratocarcinoma during prolonged culture in vitro and their extinction upon hybridisation with cells of permanent lines ». *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 57: 615-621.

³²¹ Jacob F (1977) « Mouse teratocarcinoma and embryonic antigens » *Immunol. Rev.* 33: 3-32; Martin GR (1975) « Teratocarcinomas as a model system for the study of embryogenesis and neoplasia » *Cell* 5(3): 229-243.

³²² Brinster RL (1974) « The effect of cells transferred into the mouse blastocyst on subsequent development » *J. Exp. Med.* 140: 1049-1056; Papaïannou VE, McBurney MW, Gardner RL and Evans MJ (1975) « Fate of teratocarcinoma cells injected into early mouse embryos » *Nature* 258: 70-73.

³²³ Mintz B and Illmensee K (1975) « Normal genetically mosaic mice produced from malignant teratocarcinoma cells » *Proc Natl Acad Sci U S A* 72(9): 3585-3589.

les années 1960, à cultiver les cellules du blastocyste ou à en démontrer la pluripotence³²⁴. Finalement, en 1981, l'équipe de Martin Evans et celle de Gail Martin sont parvenues à mettre directement en culture les cellules de la masse interne de l'embryon de souris au stade blastocyste. Ces cellules de cultures sont appelées les cellules « souches embryonnaires » (ES cells pour « *Embryonic Stem cells* »). Il est notable que la transplantation des cellules ES produisait les mêmes résultats que celle de cellules EC, à savoir le développement de tératocarcinomes, qui servait, dès lors, de preuve pour la pluripotence des cellules. Il a fallu presque deux décades de plus pour l'obtention de cultures de cellules ES humaines par l'équipe de Jamie Thomson en 1998. L'analyse historique proposée par Michel Morange montre que « la production des cellules ES humaines n'a pas été un prolongement naturel des expériences produites chez la souris »³²⁵.

Pendant une période au moins, les cellules EC sont devenues des outils permettant d'étudier à la fois l'embryogenèse et la cancérogenèse, des « systèmes modèles pour l'étude de la différenciation en cancérologie et en embryologie »³²⁶. Plus encore, la recherche des cellules ES, elle-même, s'est faite en prenant les cellules EC pour modèle³²⁷. Ainsi, la démonstration de l'obtention de lignées de cellules embryonnaires pluripotentes passait par la démonstration de capacités équivalentes à celles des cellules EC³²⁸.

³²⁴ Voir Sherman MI (1975) « Long Term Culture of Cells Derived from Mouse Blastocysts » *Differentiation* 3(1-3): 51-67 ; Sherman MI (1975) « The culture of cells derived from mouse blastocysts » *Cell* 5(4): 343-349.

³²⁵ Morange M (2006) « What history tells us VII. Twenty-five years ago: the production of mouse embryonic stem cells » *J Biosci* 31(5): 537-541, ici p. 537.

Sur cette histoire, voir aussi Brandt C (2012) « Stem Cells, Reversibility and Reprogramming: Historical Perspectives ». Chapter 4, pp. 55-91. In Mazzolini RG and Rheinberger H-J (eds) *Differing Routes to Stem Cell Research: Germany and Italy*. Bologna, Il mulino, and Berlin, Duncker & Humblot ; Solter D (2006) « From teratocarcinomas to embryonic stem cells and beyond: a history of embryonic stem cell research » *Nat Rev Genet* 7(4): 319-327 ; Andrews PW (2002) « From teratocarcinomas to embryonic stem cells » *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 357(1420): 405-417.

³²⁶ Sherman MI and Solter D (eds) (1975). *Teratomas and Differentiation*. London : Academic Press, p. XV.

Voir aussi Martin GR (1975) « Teratocarcinomas as a model system for the study of embryogenesis and neoplasia » *Cell* 5(3): 229-243; Martin GR (1980) « Teratocarcinomas and mammalian embryogenesis » *Science* 209(4458): 768-776.

³²⁷ Voir la section 6 du chapitre : Brandt C (2012) « Stem Cells, Reversibility and Reprogramming: Historical Perspectives ». Chapter 4, pp. 55-91. In Mazzolini RG and Rheinberger H-J (eds) *Differing Routes to Stem Cell Research: Germany and Italy*. Bologna, Il mulino, and Berlin, Duncker & Humblot.

³²⁸ A titre d'exemple, on peut prendre le cas de la publication de Gail Martin ayant isolé des lignées de cellules ES : « As demonstrated below, the cells derived from ICMs cultured in conditioned medium have all the essential features of teratocarcinoma stem cells ». Martin GR (1981) « Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium

4.2.3. La contribution de Gordon Barry Pierce

Barry Pierce a également fait partie de cette recherche sur les cellules embryonnaires de carcinomes. Il a travaillé avec Leroy Stevens à la caractérisation des cellules EC. Il a notamment apporté la démonstration de leur pluripotente au niveau unicellulaire. Mais il a surtout développé une conception très détaillée du développement non seulement des tératomes/tératocarcinomes, mais aussi des cancers en général.

Gordon Barry Pierce, médecin de formation, avait rejoint l'équipe de Frank Dixon à l'Université de Pittsburgh en 1955 pour y étudier les tératomes/tératocarcinomes³²⁹. Frank Dixon avait déjà publié plusieurs études sur les cancers du testicule, notamment avec son collègue Robert Moore de l'École de Médecine de l'Université de Washington³³⁰, qui l'avaient conduit à soutenir l'hypothèse de l'origine de ces cancers dans les cellules germinales sur les arguments suivant :

(1) « Ce groupe de tumeurs [...] présente une multipotence proche de celle de la cellule germinale elle-même ».

(2) « Il semble probable que les tumeurs présentant à la fois de la différenciation somatique et de la différenciation trophoblastique proviennent de la seule cellule ayant une telle potentialité ».

(3) « La prépondérance de l'occurrence des tumeurs germinales ou tératoïdes dans les gonades des deux sexes est un argument supplémentaire en faveur de l'origine germinale postulée »³³¹.

Leur classification de ces cancers associait d'ailleurs toutes les classes de tératomes/tératocarcinomes à une origine dans des cellules germinales (voir Figure 28).

conditioned by teratocarcinoma stem cells » *Proc Natl Acad Sci U S A* 78(12): 7634-7638, ici p. 7635.

³²⁹ Ce changement de parcours de la médecine vers la biologie, ainsi que le choix du laboratoire, firent suite au décès d'un patient âgé de trois ans atteint d'un cancer du testicule, lors de l'internat de Barry Pierce.

³³⁰ Ils avaient eu un contrat de l'Administration des Vétérans sous la recommandation du Comité sur les problèmes médicaux des vétérans du Conseil National de la Recherche, pour réexaminer les quelques 1030 tumeurs des testicules dont les échantillons et dossiers cliniques étaient préservés à l'Institut de Pathologie des Forces Armées.

³³¹ Dixon FJ and Moore RA (1953) « Testicular tumors; a clinicopathological study » *Cancer* 6(3): 427-454, ici p. 429.

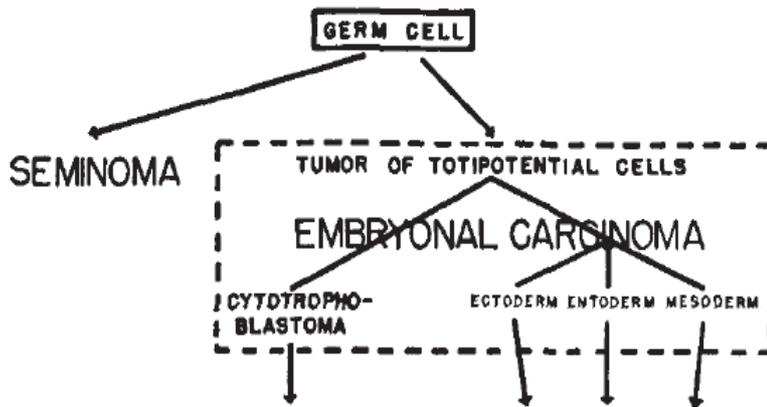


Figure 28. Classification des tumeurs germinales et origine dans une cellule germinale, Dixon & Moore (1953)³³².

Barry Pierce a donc débuté sa carrière de biologiste en se confrontant à l'hypothèse de l'origine de certains cancers (tératomes/tératocarcinomes) dans des cellules au potentiel développemental élevé (des cellules embryonnaires), une hypothèse qu'il a immédiatement adoptée³³³. Dès ses premiers articles, Barry Pierce se situait lui-même dans la continuité des travaux de Julius Cohnheim, dont il reprend explicitement l'hypothèse du développement des cancers à partir de cellules de type embryonnaire, de Max Askanazy (le premier à avoir obtenu une confirmation expérimentale de la capacité des cellules embryonnaires à produire des tumeurs, cf. section 4.2.1), de Max Budde (qui soutenait l'hypothèse des restes embryonnaires pour les tératomes/tératocarcinomes)³³⁴ ou encore, de Ruppert Allan Willis (auquel Leroy Stevens avait attribué l'hypothèse d'une origine des tératomes à partir de cellules embryonnaires totipotentes)³³⁵. Il s'est également appuyé sur les travaux d'Elizabeth Fekete et Mary Ann Ferrigno³³⁶ d'une part et d'autre part sur ceux d'Elizabeth Jackson et Austin Brues, qui avaient eux aussi procédé à des transplantations de tératocarcinomes dont ils avaient conclu que ces cancers « croissent à partir de foyers de cellules embryonnaires qui se divisent rapidement, se débarrassant de quelques cellules qui se

³³² Dixon FJ and Moore RA (1953) « Testicular tumors; a clinicopathological study » *Cancer* 6(3): 427-454, (ici, Figure 13, p. 437). Légende d'origine : « Tumors of germ-cell origin ».

³³³ Voir par exemple : Pierce GB and Dixon FJ, Jr. (1959) « Testicular Teratomas. I. Demonstration of Teratogenesis by Metamorphosis of Multipotential Cells. » *Cancer* 12(3): 573-83 et Pierce GB and Dixon FJ, Jr. (1959) « Testicular teratomas. II. Teratocarcinoma as an ascitic tumor ». *Cancer* 12(3): 584-589.

³³⁴ Budde M (1926) « Ueber die Genese der Fetalinklusionen ». *Beitraege zur pathologischen Anatomie und zur allgemeinen Pathologie*: 357-398.

³³⁵ Willis RA (1958) *The Borderland of Embryology and Pathology*. London: Butterworth. En particulier le chapitre 11: « The embryonic tumours and teratomas », pp. 442-444.

³³⁶ Fekete E and Ferrigno MA (1952) « Studies on a Transplantable Teratoma of the Mouse ». *Cancer Res* 12(6): 438-440.

différencient en divers tissus spécialisés, et d'autres [cellules embryonnaires] qui retiennent la capacité de croître indéfiniment »³³⁷.

Comme Leroy Stevens, Barry Pierce s'inscrivait donc dans cette tradition de recherche au sein de laquelle l'hypothèse de l'origine des cancers dans et par des cellules souches cancéreuses avait une place importante (sous des formes variées, comme l'ont montré les sections précédentes). Pourtant, Barry Pierce se distingue de toutes ces figures à bien des égards. Aucune analyse historique ne peut rendre compte de sa conception des cancers en faisant abstraction du contexte dans lequel il l'a développée. En effet, son adoption de l'hypothèse de l'origine des tératomes/tératocarcinomes dans et par des cellules souches est indissociable de sa lutte contre trois dogmes de l'époque :

- La théorie de la cancérogenèse par dédifférenciation, associée à l'idée que les cellules cancéreuses sont incapables de se différencier (les tératomes/tératocarcinomes étant l'exception qui confirme la règle)³³⁸. [Ce dogme ne fait pas partie du paysage de la théorie des CSC. Au contraire, celui qui a cours est bien plutôt celui de l'irréversibilité développementale des cellules souches selon lequel la différenciation cellulaire se ferait à sens unique].
- La théorie de la cancérogenèse par mutation génétique³³⁹. [La théorie des CSC se satisfait très bien de la théorie des mutations génétiques avec laquelle elle n'entre pas en contradiction].

³³⁷ « Our studies suggest that it is a true tumor, and that it grows from foci of embryonal cells which divide rapidly throwing off some cells which mature into diverse specialized tissues, and others which retain the ability to grow indefinitely. » Jackson EB and Brues AM (1941) « Studies on transplantable embryoma of mouse » *Cancer Res* 1: 494-498.

³³⁸ Le caractère indifférencié ou peu différencié des cellules cancéreuses, c'est-à-dire le fait que des caractéristiques phénotypiques spécifiques des cellules différenciées des tissus soient absentes dans les cellules des cancers qui se sont développés dans ces tissus, « a mené, écrit Pierce, la majorité des oncologistes à la conclusion erronée selon laquelle les cellules malignes ont perdu les caractéristiques de la différenciation ». Pierce GB (1974) « Neoplasms, Differentiations and Mutations. » *Am J Pathol* 77(1): 103-118, ici p. 104. Selon lui, « ce qui a été interprété comme de la dédifférenciation est en réalité une tentative avortée de différenciation par les cellules souches néoplasiques ». Pierce GB (1970) « Differentiation of Normal and Malignant Cells. » *Fed Proc* 29(3): 1248-1254, ici p. 1248.

³³⁹ Contre la théorie des mutations somatiques, selon laquelle les cancers sont produits par des mutations génétiques, il soutient que les cancers sont produits par des modifications épigénétiques. Il émet l'hypothèse que « les cellules différenciées [par opposition à embryonnaires] répondent aux carcinogènes d'une manière analogue aux cellules embryonnaires répondant aux inducteurs embryonnaires. En d'autre terme, la carcinogenèse peut être expliquée comme une réponse stable à un phénomène inductif agissant par l'intermédiaire d'un contrôle nucléaire cytoplasmique sur un génome initialement non altéré plutôt que comme un accident de codage génétique. » Pierce GB (1967) « Teratocarcinoma: model for a developmental concept of cancer ». *Curr Top Dev Biol* 2: 223-246. Voir aussi : Pierce GB (1970) « Differentiation of normal and malignant cells ». *Fed Proc* 29(3): 1248-1254;

- L'adage « cellule cancéreuse un jour, cellule cancéreuse toujours » (*once a cancer cell, always a cancer cell*)³⁴⁰. [La théorie des CSC est indifférente à la question de la réversibilité de la malignité. Notons cependant qu'il y a une ambiguïté importante dans la façon dont Barry Pierce définit cette réversibilité : entend-il par là, production de cellules fonctionnelles non-pathologiques ou simplement incapacité des cellules à être malignes, c'est-à-dire notamment à produire des cancers lors de transplantations ? Dans le second cas, l'hypothèse se rapproche alors fortement du modèle de cancérogenèse de la théorie des CSC selon lequel, seules les cellules souches cancéreuses seraient malignes.]

Or, ce contexte l'a mené à effectuer plusieurs glissements importants par rapport à ses prédécesseurs, des glissements qui l'ont rapproché de la théorie moderne des CSC (en dépit de la différence de contexte).

Premièrement, Barry Pierce est le premier à parler de cellules souches de tératomes/tératocarcinomes dans un sens équivalent à la notion moderne de cellule souche cancéreuse. Par ses travaux sur les tératomes/tératocarcinomes, Barry Pierce voulait démontrer la capacité de différenciation des cellules cancéreuses. Une idée qui n'avait pas cours, à l'époque, en cancérologie. Pour preuve, l'article qu'il a publié, avec Frank Dixon, en 1959, montrant que les cellules de carcinomes embryonnaires étaient multipotentes et

Pierce GB and Johnson LD (1971) « Differentiation and Cancer ». *In Vitro* 7(3): 140-145, en particulier p. 141, 142; Pierce GB and Speers WC (1988) « Tumors as caricatures of the process of tissue renewal: prospects for therapy by directing differentiation ». *Cancer Res* 48(8): 1996-2004.

Sur le débat sur l'origine génétique ou non des cancers dans les années 70-80, voir Brandt C (2012) « Stem Cells, Reversibility and Reprogramming: Historical Perspectives ». Chapter 4, pp. 55-91. *In* Mazzolini RG and Rheinberger H-J (eds) *Differing Routes to Stem Cell Research: Germany and Italy*. Bologna, Il mulino, and Berlin, Duncker & Humblot, p. 81.

Les travaux historiques de Michel Morange sur les oncogènes ont montré que ce qu'il appelle « le paradigme des oncogènes » s'est imposé sur la vision régulatrice entre les années 1975 et 1985. Voir Morange M (1993) « The Discovery of Cellular Oncogenes » *Hist. Phil. Life Sci.*, 15: 45-59 et Morange M (1997) « From the Regulatory Vision of Cancer to the Oncogene Paradigm, 1975-1985 » *Journal of the History of Biology* 30(1): 1-29.

³⁴⁰ Contre ce dogme, il soutient que la différenciation peut aboutir à la production de cellules bénignes. Voir par exemple : Pierce GB (1975) « Teratocarcinoma: Introduction and Perspectives », pp. 3-12. *In* Sherman M and Solter D (eds) *Teratomas and Differentiation*. London : Academic Press, p. 3.

La production par Beatrice Mintz et Karl Illmensee de souris mosaïques non-pathologiques à la suite de l'injection de cellules de tératocarcinomes dans un embryon de souris au stade blastocyste apporta une confirmation majeure pour l'argumentation de Barry Pierce. Mintz B and Illmensee K (1975) « Normal genetically mosaic mice produced from malignant teratocarcinoma cells ». *Proc Natl Acad Sci U S A* 72(9): 3585-3589.

Par ailleurs, Beatrix Mintz a défendu une origine somatique embryonnaire des tératocarcinomes. Voir : Mintz B, Cronmiller C and Custer RP (1978) « Somatic cell origin of teratocarcinomas ». *Proc Natl Acad Sci U S A* 75(6): 2834-2838.

pouvaient se différencier, a été retenu pendant six mois en révision après avoir pourtant été accepté. La raison était que « tout le monde sait que les cellules cancéreuses ne peuvent pas se différencier ». Barry Pierce a donc été contraint de remplacer le titre de l'article « *Teratogenesis by differentiation of multipotential cells* » par « *Teratogenesis by metamorphosis of multipotential cells* »³⁴¹. Or, en cherchant à établir la capacité de différenciation des cellules cancéreuses, il en est également venu à démontrer la multipotence des cellules des corps embryoides des tératocarcinomes³⁴². Leroy Stevens avait montré dès 1960 que les corps embryoides étaient multipotents³⁴³ (voir section 4.2.2). Barry Pierce apportait la preuve que les cellules composant ces corps embryoides étaient elles-mêmes pluripotentes³⁴⁴. Cela l'a mené à épouser une conception hiérarchique des tératomes/tératocarcinomes, selon laquelle ces cancers se développeraient à partir de cellules souches pluripotentes qui donneraient naissance aux « structures différenciées de la tumeur »³⁴⁵.

Les tumeurs semblent composées de deux compartiments. Un d'entre eux contient des cellules souches malignes, parmi lesquelles certaines prolifèrent et d'autres sont arrêtées en G-0. Bien que ces dernières ne soient pas en train d'exprimer le phénotype malin à ce moment là, il est présumé que quand l'environnement change, elles peuvent commencer à cycler. L'autre compartiment est le compartiment différencié. Les cellules du compartiment différencié, bien qu'elles soient dérivées par différenciation de cellules souches malignes, ne sont pas malignes et ne jouent plus aucun rôle dans le processus néoplasique³⁴⁶.

³⁴¹ Arechaga J (1993) « On the boundary between development and neoplasia. An interview with professor G. Barry Pierce ». *Int. J. Dev. Biol.* 37: 5-16. L'anecdote du titre est p. 10.

³⁴² Pierce GB, Jr., Dixon FJ, Jr. and Verney EL (1960) « Teratocarcinogenic and tissue-forming potentials of the cell types comprising neoplastic embryoid bodies ». *Lab Invest* 9: 583-602.

³⁴³ Stevens LC (1960) « Embryonic potency of embryoid bodies derived from a transplantable testicular teratoma of the mouse ». *Dev Biol* 2: 285-297.

³⁴⁴ Avec son étudiant, Lewis Kleinsmith, ils sont parvenus à dissocier les cellules de carcinomes embryonnaires et à obtenir des lignées clonales issues d'une seule cellule. Cela leur a permis de montrer que la multipotence n'était pas seulement populationnelle mais se retrouvait à l'échelle de la cellule individuelle. Kleinsmith LJ and Pierce GB, Jr. (1964) « Multipotentiality of Single Embryonal Carcinoma Cells » *Cancer Res* 24: 1544-1551.

³⁴⁵ Pierce GB and Verney EL (1961) « An in vitro and in vivo study of differentiation in teratocarcinomas ». *Cancer* 14: 1017-1029.

³⁴⁶ « Tumors appear to be composed of two compartments. One contains malignant stem cells, some proliferating and some arrested in G-0. Although the latter are not expressing the malignant phenotype at the particular time, it is presumed that when the environment changes, they can commence cycling. The other compartment is the differentiated compartment. The cells of the differentiated compartment, although derived by differentiation from malignant stem cells, are not malignant and play no further role in the neoplastic process. » Pierce GB (1977) « Neoplastic stem cells ». *Adv Pathobiol* 6: 141-152, ici p. 145.

Il avait exprimé cette idée dès les années 60 : « Perhaps all neoplasms consist of a heterogeneous population of cells, a small number of which are undifferentiated, highly

Deuxièmement, Barry Pierce s'est rapidement affranchi du cas des tératomes/tératocarcinomes pour chercher à développer un modèle général de développement des cancers³⁴⁷. Dans ce contexte, il a introduit le concept de « cellule souche néoplasique » (*neoplastic stem cell*)³⁴⁸, dont le référent est proche, si ce n'est identique, à celui de « cellule souche cancéreuse » de la théorie des CSC : une cellule souche capable de s'auto-renouveler et de se différencier. Ces cellules souches sont celles du tissu dans lequel le cancer se développe, ce sont donc des cellules souches embryonnaires ou germinales pour les tératomes/tératocarcinomes et des cellules souches adultes pour les cancers non-embryonnaires. À l'image de la théorie des CSC, la théorie de Barry Pierce repose sur une analogie forte avec le développement des tissus sains :

Le tissu malin, comme le tissu normal, se maintient par la prolifération et la différenciation de ses cellules souches³⁴⁹.

Pour finir, Barry Pierce soutient que « la cible de la carcinogénèse est la cellule souche normale d'un tissu particulier »³⁵⁰. Sa théorie du développement des cancers est donc très proche de celle de la théorie des CSC, en dépit des différences contextuelles qui séparent la constitution de ces théories.

malignant stem cells; the rest are less malignant and more differentiated » Kleinsmith LJ and Pierce GB, Jr. (1964) « Multipotentiality of Single Embryonal Carcinoma Cells ». *Cancer Res* 24: 1544-1551, ici p. 1548

³⁴⁷ Pierce GB (1967) « Teratocarcinoma: model for a developmental concept of cancer ». *Curr Top Dev Biol* 2: 223-246 ; Pierce GB, Nakane PK, Martinez-Hernandez A and Ward JM (1977) « Ultrastructural comparison of differentiation of stem cells of murine adenocarcinomas of colon and breast with their normal counterparts ». *J Natl Cancer Inst* 58(5): 1329-1345; Pierce GB (1974) « Neoplasms, differentiations and mutations ». *Am J Pathol* 77(1): 103-118; Pierce GB (1977) « Relationship between differentiation and carcinogenesis ». *J Toxicol Environ Health* 2(6): 1335-1342; Pierce GB, Shikes R and Fink LM (1978) *Cancer: A Problem of Developmental Biology*. Prentice Hall: Englewood Cliffs; Sell S and Pierce GB (1994) « Maturation arrest of stem cell differentiation is a common pathway for the cellular origin of teratocarcinomas and epithelial cancers ». *Lab Invest* 70(1): 6-22.

³⁴⁸ Pierce GB (1977) « Neoplastic stem cells ». *Adv Pathobiol* 6: 141-152.

³⁴⁹ « Malignant tissue, like normal tissue, maintains itself by proliferation and differentiation of its stem cells ». Pierce GB and Johnson LD (1971) « Differentiation and cancer ». *In Vitro* 7(3): 140-145, ici p. 140. Voir aussi Pierce GB (1974) « Neoplasms, differentiations and mutations ». *Am J Pathol* 77(1): 103-118.

³⁵⁰ Pierce GB (1970) « Differentiation of normal and malignant cells ». *Fed Proc* 29(3): 1248-1254, ici p. 1254.

Troisièmement, il fait très fréquemment référence aux travaux de Sajiro Makino, Theodore Hauschka et Albert Levan. Ces travaux ont déjà été brièvement évoqué à l'occasion de l'explication de l'hétérogénéité caryotypique des cellules cancéreuses (voir chapitre 3, section 3.1.1, note 143 et Figure 17). Ces chercheurs ont développé un modèle de cancérogenèse selon lequel une souche tumorale (*tumoral stem-line*) produirait de nouvelles lignées de cellules cancéreuses caractérisées par des changements dans leur caryotype pouvant les rendre plus malignes (par exemple par l'acquisition de capacités invasives ou de résistance aux médicaments) ou moins malignes. Ce modèle expliquait la progression de la tumeur par la variation des populations cellulaires, à partir d'une lignée souche, suite à des modifications affectant les chromosomes (illustré dans la Figure 30, rappel de la Figure 17). Le mot « souche » ne désignait pas une « cellule souche » au sens technique, d'ailleurs il s'appliquait à une population de cellules. Ce qui était souche, dans ces travaux, c'est une lignée cellulaire maligne. Néanmoins cette lignée cellulaire exerçait une fonction similaire à celle qu'exerçaient les cellules souches malignes de Barry Pierce : « la croissance de la tumeur est principalement due à la prolifération de ces cellules souches de tumeurs »³⁵³. La notion a d'ailleurs été confondue avec celle de cellule souche au sens actuel, par exemple, par Vikash Bhagwandin et Jerry Shay³⁵⁴.

³⁵³ Makino S (1952) « A cytological study of the Yoshida sarcoma, an ascites tumor of white rats. » *Chromosoma* 4(7): 649-674, ici p. 666.

Voir aussi Makino S and Kano K (1953) « Cytological studies of tumors. IX. Characteristic chromosome individuality in tumor strain-cells in ascites tumors of rats » *J Natl Cancer Inst* 13(5): 1213-1235, en particulier p. 1220; Makino S and Tanaka T (1953) « The cytological effect of chemicals on ascites sarcomas. I. Partial damage in tumor cells by podophyllin, followed by temporary regression and prolongation of life of tumor-bearing rats ». *J Natl Cancer Inst* 13(5): 1185-1199, en particulier p. 1188 ou encore Yosida TH (1954) « Tetraploid chromosome constitution characteristic of the tumor cells of the Takeda sarcoma ». *Gan* 45(1): 9-15, en particulier p. 11.

³⁵⁴ Bhagwandin VJ and Shay JW (2009) « Pancreatic cancer stem cells: fact or fiction? » *Biochim Biophys Acta* 1792(4): 248-259.

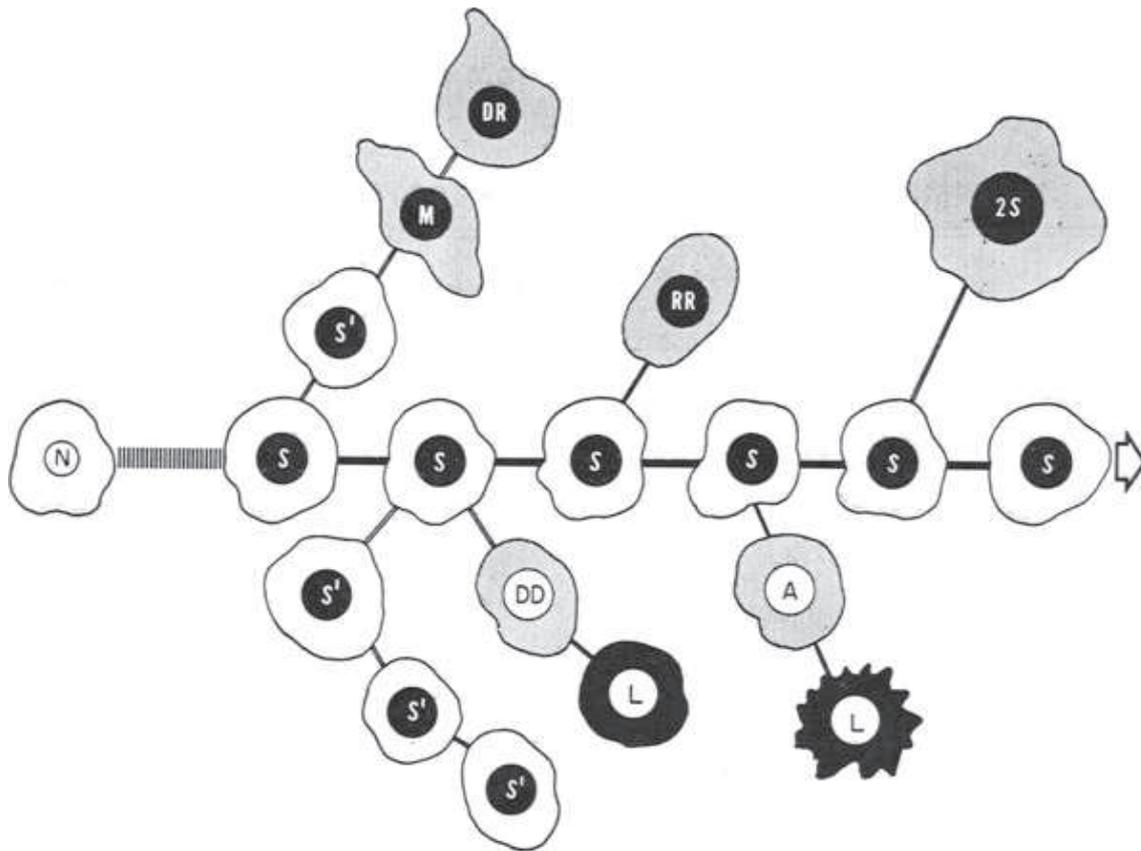


Figure 30. La notion de « cellule souche de tumeur » chez Theodore Hauschka (1961)³⁵⁵, pour rappel de la Figure 17. Légende d'origine : « Diagramme illustrant la progression tumorale par la variabilité de la lignée souche. Les symboles nucléaires représentent les types cellulaires suivant : *N* : cellule non-maligne ; *S* : lignée souche principale ; *S'* : lignées souches secondaires ; *2S* : variant de cellule-souche polyploïde ; *M* : cellule métastatique ; *DR* : mutant résistant aux médicaments ; *RR* : cellule avec résistance accrue aux radiations ; *DD* : mutant médicament-dépendant ; *A* : mutant exprimant un nouvel antigène ; *L* : mutations létales pour les cellules tumorales au niveau individuel ».

4.3. Conclusion

L'idée que les cancers prendraient leur origine dans des cellules souches ou embryonnaires est aussi vieille que la théorie cellulaire. Ce chapitre a cependant montré qu'elle s'est manifestée sous des formes très diverses. Bien entendu, les hypothèses des restes embryonnaires déplacés/surnuméraires (Robert Remak, Julius Cohnheim), du tissu conjonctif (Rudolf Virchow), des cellules germinales primitives (Max Wilms, John Beard, Leroy Stevens) ou encore des blastomères (Felix Marchand et Robert Bonnet, Max Askanazy) sont toutes très différentes de la théorie des CSC. Les différences de contexte

³⁵⁵ Hauschka TS (1961) « The chromosomes in ontogeny and oncogeny ». *Cancer Res* 21: 957-974 (ici, Chart 1, p. 964). «Diagram illustrating tumor progression through stem-line variability. The nuclear symbols represent the following cell types: *N*, nonmalignant cell; *S*, main stem-line; *S'*, secondary stem-lines; *2S*, polyploid stem-cell variant; *M*, metastatic cell; *DR*, drug-resistant mutant; *RR*, cell with increased radiation-resistance; *DD*, drug-dependent mutant; *A*, antigenic mutant; *L*, mutations lethal for individual tumor cells ».

sont non-négligeables. Cependant, ce sont toutes des hypothèses de l'origine des cancers dans et par des cellules souches au sens où toutes considèrent que les cancers se développent à partir d'une population de cellules bien particulières, caractérisées par un potentiel développemental élevé. De ce fait, ce que montre cette trajectoire historique, c'est la grande permissivité synchronique de l'hypothèse dans/par des cellules souches. La diversité des formes prises par l'hypothèse jusqu'à l'émergence de la théorie des CSC mène à s'interroger sur ce à quoi fait référence la notion de cellule souche dans cette théorie. Elle mène également à s'interroger sur son domaine d'extension : la théorie des CSC s'applique-t-elle à tous les cancers ? Plus précisément, s'applique-t-elle de la même manière à tous les cancers ? Ou bien le référent des cellules souches est-il différent d'un cancer à un autre ? La notion de cellule souche est également porteuse d'une autre ambiguïté car elle a été utilisée de manière ambivalente, tantôt pour décrire un type cellulaire particulier, tantôt pour décrire une position généalogique.

4.4. *English summary*

The stem cell hypothesis of the origin of cancer has also been suggested for solid cancers far before the emergence of the CSC theory. The CSC proponents regularly claim filiation back to the nineteenth century, when it was suggested that cancers would develop from embryonic cells. Despite the absence of any reference to the notion of stem cell, biologists see in it a filiation because embryonic cells, which they retrospectively conceive as stem cells, are characterized by a specific developmental potential (i.e. the ability to give rise to different kind of tissues). Rather than emphasizing the divergences between the hypothesis of embryonic origin of cancers and the CSC theory, I would like to draw attention to the diversity of forms that the hypothesis has simultaneously endorsed. The filiation does not ascend to one unified hypothesis but to several competing ones. I will show that this state of competition between hypotheses of the origin of cancer in and from stem/embryonic cells has persisted until the coming into being of the CSC theory.

The analysis of the historical pathways, traveled by the general hypothesis of the origin of cancer from and by stem cells, highlights its permissiveness. This permissiveness raises a fundamental question: to which cells the concept of stem cell is referring ? Chapter 5 will show that this question deserves to be asked to the CSC theory.

Articles on CSCs often refer to the “embryonic rest” hypothesis, which they mistakenly attribute to Robert Remak, Rudolf Virchow and Julius Cohnheim. They did, all, hypothesized that (some) cancers originate in and from cells with a particularly large developmental capacity. But they have suggested different hypotheses.

Robert Remak and Rudolf Virchow were directly involved in the construction of the cell theory. This theory established that organisms are constituted of cells and that cells always come from cells. From this it followed that cancers also originate from cells. The question of the nature of the cell of origin emerged from the observation, made by Rudolph Virchow in 1850, of an epithelial tumor located in a bone (the tibia). Development of epithelial tumors from bone cells contradicted the germ layer theory. According to this theory (partly built by Robert Remak), during the gastrulation, cells of the embryo differentiate in three germ layers, which specify cell fate (ectoderm, mesoderm and endoderm). After this specification, a cell from one layer will only be able to give rise to cell of its own layer. Bone cells come from the mesoderm layer, whereas the epithelial cells observed by Rudolf Virchow come from the ectoderm layer. Thus, according to this theory, an epithelial tumor cannot grow from bone cells.

To explain this apparent contradiction, Robert Remak suggested that the epithelial tumor originated in ectodermic embryonic cells that would have been delocalized during the early development of the embryo. This explanation fits the embryonic rest hypothesis. But it would be more accurate to name it the “hypothesis of the delocalized embryonic rests” because Robert Remak never claimed this hypothesis for other cases than those conflicting with the germ layer theory.

Julius Cohnheim agreed with this explanation but saw no reason to limit its application to cases of embryonic delocalizations. Thus he framed a more generalized hypothesis according to which cancers were all growing from supernumerary embryonic cells, that is cells that were spared from the process of development. Distinctly from Robert Remak, it is not a hypothesis of “delocalized embryonic rests” but of “spare/supernumerary embryonic rests”.

Rudolf Virchow defended a very different hypothesis. According to him, cancers and neoformations grow from cells of the connective tissue, which is present everywhere in the organism. He characterizes the cells of the connective tissue as “germ” cells, that is to say as cells able to give rise to any kind of cell of the organism.

For all of them, the very nature of the cell of origin plays a central part in the explanation of cancer development. For all of them, these cells are characterized by an open potential of differentiation and a state of undifferentiation. They are at the top of the developmental/differentiation hierarchy; they are the cells from which other cells originate (see chapter 3). In this point of view, the filiation suggested by the CSC proponents is correct. Robert Remak delocalized embryonic rests hypothesis, Julius Cohnheim supernumerary embryonic rests hypothesis and Rudolf Virchow connective tissue hypothesis are hypotheses of the origin of cancer in some kind of stem cells. On another hand, the differences between their hypotheses highlight the permissiveness of the hypothesis of the origin of cancer in and from stem cells, which raises the following questions:

- 1) What is the reference of “stem cell”? Which cells are the stem cells of origin of cancers? According to the depicted historical trajectories, several distinct entities might incarnate the cell of origin, such as adult stem cells or embryonic stem cells.
- 2) To what does the hypothesis apply? Depending on the historical trajectories, it can apparently apply to one, several or all cancers.

These are valuable questions to ask to the CSC theory, because this permissiveness, as I will show, lasted until the emergence of this theory.

Rudolf Virchow hypothesis rapidly felt in desuetude. But the embryonic rests hypotheses of Robert Remak and of Julius Cohnheim were rather fecund and often discussed in the early twentieth century. They eventually almost disappeared around 1940, except for discussions over the origin of two kinds of cancers: adamantinomas and teratocarcinomas. Adamantinomas are very rare cancers with epithelial cells that look like the enamel organ of the four months old embryo. They essentially grow in the jaw, but they can also grow in the pituitary gland or in bones, notably in tibias. The epithelial tumor observed by Rudolf Virchow might be a case of tibia adamantinoma. Discussions over the origin of adamantinomas, were, and still are, occasions to defend some versions of the cell rest hypothesis or other hypotheses of origin of cancers in and from stem cells. But it had never been connected to discussions on the CSC theory. For this reason, historical analysis of this trajectory of the hypothesis of origin of cancers in and from stem cells is presented in Annexe 2. Teratocarcinomas, on the contrary, played a major role in the history of the CSC theory and in the history of stem cells (more specifically, of embryonic stem cells). Teratocarcinomas are cancers characterized by a great cellular heterogeneity. They are composed of undifferentiated cells that look like the cells of the early embryo (see figure 22) and of differentiated cells of the tree germ layers. Most of the time, they develop in testes and ovaries. As soon as these cancers were describes, a particular interpretation of the embryonic rests hypothesis was suggested by Felix Marchand and Robert Bonnet, and was called the “blastomere theory” (*Blastomerentheorie*), according to which teratocarcinomas take there origin from blastomeres that escaped the influence of development. Since then, this hypothesis has always been in conflict with another set of hypotheses according to which teratocarcinomas would originate in and from germ cells. Both are hypotheses of the origin of cancers in and from stem cells.

In this debate, two biologists have played major historical roles in introducing more precise characterizations of the cell of origin: Leroy Stevens and Gordon Barry Pierce. Both of them participated in demonstrating that (1) the undifferentiated cells of the teratocarcinomas were the source of the other teratocarcinoma cells, and (2) these undifferentiated cells are pluripotent at the single cell level (i.e. one cell can give rise to cells of the three germ layers). So doing they were establishing a hierarchical model of teratocarcinogenesis very similar to the CSC model of carcinogenesis.

Leroy Stevens established, in the 50s, a strain of mouse frequently developing testicular teratocarcinomas (strain 129), which played a major role in the coming into being of two related concepts: “embryonal carcinoma (EC) cells” and “embryonic stem (ES) cells”. The first one designated cell lines of the pluripotent undifferentiated cells of the teratocarcinomas and the second one, the cell lines of their natural counterparts, the cells of the inner cell mass of the blastocyst. Strikingly, teratocarcinomas and EC cells were model systems for the isolation of ES cells.

I would like to stress that Leroy Stevens reconciled the germinal and the embryonic hypothesis of the origin of teratocarcinomas by demonstrating that these tumors could originate either from primordial germ cells or from embryonic pluripotent cells. This indicates that the general hypothesis of origin of cancers in and from stem cells has an open referential. The question of the type of stem cell at the origin of cancers can be cancer-dependent. In this case, it must be determined for each kind of cancer.

It is to be noted that Leroy Stevens’ use of the notion of stem cell is highly ambiguous. He seldom used it. But when he did, he sometimes used it in the current technical sense and sometimes in the metaphoric sense of being the *stem of something*. According to Christina Brandt analysis, using the notion of “stem cell” for the embryonic cells was very uncommon and problematic until the introduction of the concept of “embryonic stem cells” by Gail Martin in 1981.

Barry Pierce also actively participated in this field of research. He was the one to bring the demonstration of the pluripotentiality, at the single cell level, of the EC cells. But more interestingly, he developed a very detailed conception of the development of teratocarcinomas and, more generally, of carcinogenesis. He was fighting against three powerful dogmas in oncology:

- Carcinogenesis by dedifferentiation (to which teratocarcinomas were seen as an exception).
- Carcinogenesis by gene mutations.
- Adage “once a cancer cell, always a cancer cell”.

This context is very different from the one of the emergence of the CSC theory, which does not fight against these ideas. Nevertheless, it led Barry Pierce to make several important shift compared to its predecessors and these shift have participated in the elaboration of a conception of cancer development which is, in many ways, very similar to the CSC theory. First, he developed a general concept of “neoplastic stem cell” that is very

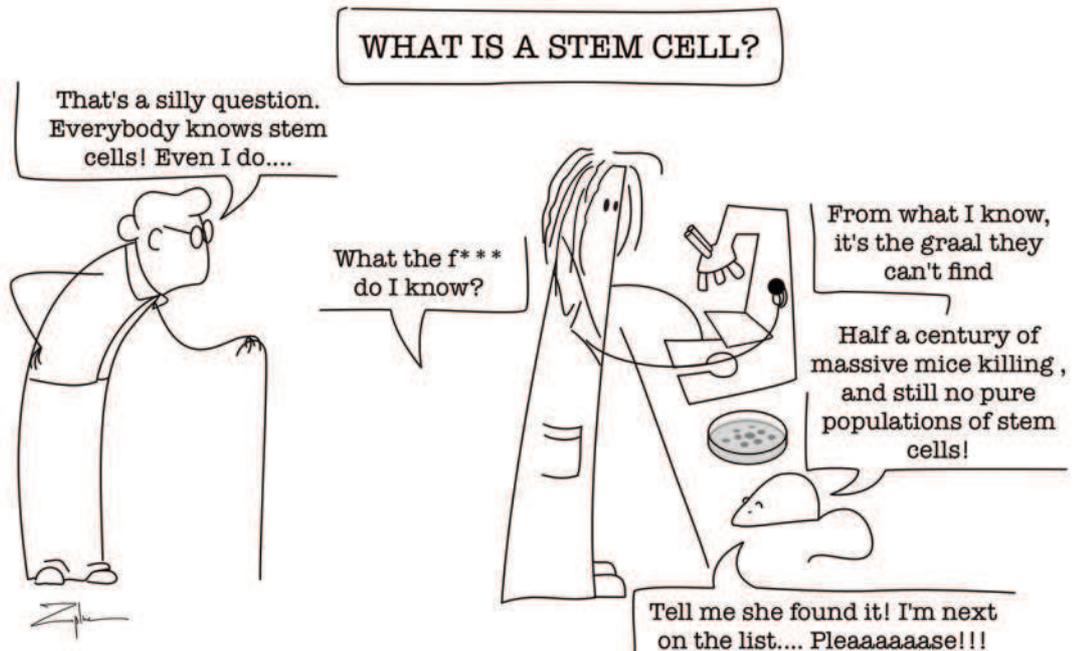
similar to the concept of CSC. The definition he suggested is exactly the same. Second, he generalized the theory of the origin of teratocarcinomas to every cancer, with the stem cell of origin being the stem cell of the tissue where the tumor grows.

However, as in the case of Leroy Stevens, the notion of “stem cell” is also used in two very different ways. Despite using it with the current technical definition, he repeatedly used it in its metaphorical sense, to refer to the cell of origin, whatever are their characteristics.

In conclusion, the idea that cancers would originate from embryonic/stem cells is as old as the cell theory. However, this chapter has demonstrated that this hypothesis manifested itself in very diverse, and sometimes adverse, forms. Of course, the delocalized embryonic rests hypothesis (Robert Remak), the spare/supernumerary embryonic rests hypothesis (Julius Cohnheim, the connective tissue hypothesis (Rudolf Virchow), the blastomere hypothesis (Felix Marchand and Robert Bonnet) and the germinal hypothesis (Leroy Stevens) are very distinct from the CSC theory. Nevertheless, they highlight the permissiveness of the general hypothesis of the origin of cancer in/from stem cells, which lead to some interrogations on the precise referential of the notion of stem cell in the CSC theory and on its domain of extension. There is another ambiguity over the notion of stem cell, which has been used in two different senses. In a technical sense, it has been used to refer to cells able to self-renew and to differentiate. In a metaphorical sense, it has been used to refer to cells occupying a genealogical particular place: cells from which other cells originated.

PARTIE III

Cellules souches cancéreuses et cellules souches : Quel référent ? Quelle définition ? Quelle ontologie ?



La partie II a analysé deux trajectoires historiques majeurs à l'émergence de la théorie des CSC, qui ont soulevé un certain nombre de questions à l'égard de cette théorie. La partie III montrera que, bien que la théorie des CSC ait fait rencontrer ses trajectoires, elle n'a pas dissolu leur hétérogénéité pour autant. Ainsi, le chapitre 5 montrera que la théorie des CSC est très ambiguë concernant les deux questions suivantes :

- 1) A quelles cellules fait référence le concept de CSC ? Cette ambiguïté est une conséquence directe de l'indistinction historique entre « origin dans » et « origine par » les cellules souches.
- 2) Les CSC sont-elles vraiment des cellules souches ? Cette question émerge à la fois de l'ambiguïté sur la notion d'origine et sur l'ambiguïté continue autour de la notion de cellule souche.

Cette diffraction de la notion supposément unifiée de CSC montrera que le concept de cellule souche, qui est central à la théorie des CSC, doit être examiné avec attention, ce qui sera fait au chapitre 6. L'examen de la notion de cellule souche dans la littérature scientifique montrera que la définition classique et la représentation hiérarchique des cellules souches ont rencontré une accumulation d'objections diverses de la part de biologistes. Ceci me mènera, dans la partie IV, à distinguer 4 conceptions contemporaines des cellules souches et à en évaluer les conséquences pour les stratégies thérapeutiques contre les cancers.

Part II, describing two major historical trajectories leading to the emergence of the CSC theory, raised a number of questions about this theory. Part III will show that even though these trajectories seem to converge in the CSC theory, their heterogeneity has not been reduced so far. Indeed, chapter 5 will show that the CSC theory retains ambiguities with respect to:

- 1) What is the reference of the CSC concept? This ambiguity is a direct consequence of the historical non-distinction between “origin in” and “origin by” stem cells.*
- 2) Are CSCs real stem cells? This question arguably arises from the ambiguity about both the origin of CSCs and the nature of stem cells.*

In thus diffracting the supposedly unified concept of CSC, I will argue that the stem cell concept, which, central to the CSC theory, needs to be carefully examined, which will be done in chapter 6. A close examination of the notion of stem cell in the scientific literature will show that the classical definition and hierarchical representation of stem cells have met accumulating objections from biologists. This will lead me to distinguish four notions of stem cells in contemporary literature and to assess their impacts on the prospected therapeutic strategies against cancers, in Part IV.

CHAPITRE 5. Origines, souches et cellules souches : le sens des mots

La partie II a montré que l'hypothèse de l'origine dans et par des cellules souches laissait ouvertes un certain nombre de questions autour de la notion de « cellule souche ».

- Quel est son référent³⁵⁶ ?
- Toute cellule capable de s'auto-renouveler et de se (multi-) différencier est-elle nécessairement une cellule souche ?
- Les propriétés des cellules souches sont-elles individuelles (propriétés d'une seule cellule) ou collectives (propriétés d'une population de cellules ou de cellules individuelles au sein de populations) ?

En prenant pour point de départ une analyse du vocabulaire, ce chapitre montrera que le référent du concept de CSC dans la théorie des CSC est hétérogène (section 5.1) et que le concept de cellule souche est ambigu (section 5.2)³⁵⁷.

L'analyse historique a montré que la notion de cellule dispose d'au moins deux sens distincts :

- (1) Elle peut faire référence à une cellule occupant une place particulière dans la généalogie d'une population cellulaire. La cellule souche est alors celle dont les autres sont issues. Il s'agit de la notion de « cellule souche au sens métaphorique ».
- (2) Elle peut désigner une catégorie de cellules possédant des propriétés fonctionnelles particulières. La cellule souche est une cellule capable de s'auto-renouveler à long-terme et de se différencier (plus précisément, de donner naissance à différents types cellulaires)³⁵⁸. Il s'agit de la notion de « cellule souche au sens technique ».

Participe à l'ambiguïté le fait que les cellules souches au sens technique répondent aussi au sens métaphorique. Les travaux historiques sur le concept de cellule souche tendent à représenter ces deux sens comme des successions historiques. D'abord le mot « souche » aurait été utilisé dans son sens métaphorique pour désigner les cellules d'origine

³⁵⁶ Pour rappel, en linguistique, un référent désigne ce à quoi un signe linguistique fait référence dans la réalité.

³⁵⁷ La question du niveau cellulaire ou populationnel de la notion de cellule souche sera traitée au chapitre 7.

³⁵⁸ Nous reviendrons longuement sur cette définition qui ne va pas sans poser problème.

(1), ensuite se serait constituée une définition technique désignant un « type » particulier de cellules (2), qui se serait imposée suite à une période de transition dans les années 1970.

Parce que les cellules souches étaient considérées comme des progéniteurs au sens large, le concept originel de cellule souche était un concept généalogique qui soulignait l'origine ou les traces du passé des cellules. Cependant, dans le courant du XX^e siècle, le focus se déplaça du concept généalogique vers un concept de cellule souche (comme il était utilisé en biologie cellulaire, en pathologie et plus tardivement en médecine) dont la référence principale n'était pas les traces passées (évolutionnaires ou embryonnaires) des cellules mais leurs possibilités futures, puisque l'état pluripotent de ces cellules, par rapport à la fonction du renouvellement tissulaire, devint la caractéristique principale³⁵⁹.

Je ne remettrai pas en cause cette évolution mais interrogerai la disparition du sens métaphorique. Ce chapitre montrera, au contraire, que cette ambiguïté est toujours présente dans le concept de cellule souche cancéreuse.

5.1. A quoi fait référence le concept de CSC

L'ambiguïté concernant la notion « d'origine » a été particulièrement bien analysée par Thierry Hoquet³⁶⁰. Utilisant les problèmes des traductions comme « prisme » pour diffracter la lumière blanche des concepts, il dévoile les interprétations multiples qu'il est possible d'en faire. Ainsi, le concept anglais « *origin* », translitéré en « origine » en français, révèle toute son ambiguïté lors de sa traduction en allemand, qui nécessite de choisir entre « *Ursprung* » et « *Entstehung* ».

Sur les manières de traduire l'anglais *origin*, la langue allemande peut nous servir de prisme pour diffracter la variété de couleurs que recèle la lumière blanche du titre

³⁵⁹ « Because stem cells were viewed as progenitors in broad sense, the concept of stem cell was a genealogical one that emphasized the origin or past traces of cells. However, in the course of the twentieth century this genealogical focus shifted towards a concept of stem cell (as it was used in cell biology, pathology, and, later, in medicine) that did not refer primarily to the (evolutionary or embryonic) past traces of cells but to their future possibilities, since the pluripotent status of these cells with respect to the function of tissue-renewal became the dominant aspect ». Brandt C (2012) « Stem Cells, Reversibility and Reprogramming: Historical Perspectives ». Chapter 4, pp. 55-91. In Mazzolini RG and Rheinberger H-J (eds) *Differing Routes to Stem Cell Research: Germany and Italy*. Bologna, Il mulino, and Berlin, Duncker & Humblot, ici pp. 76, 77.

Voir aussi Maehle A-H (2011) « Ambiguous cells: the emergence of the stem cell concept in the nineteenth and twentieth centuries » *Notes Rec. R. Soc.* 65: 359-378.

³⁶⁰ Hoquet T (2009). *Darwin contre Darwin*. Paris : Seuil. Pour une recension voir Laplane L (2009) « Thierry Hoquet, *Darwin contre Darwin* », *Sociétés* 3(105): 94-95.

Voir aussi Hoquet T (2010) « Why terms matter to biological theories: the term origin as used by Darwin ». *Bionomina* 1: 58-60.

Origin of Species : en effet, en allemand, il faut véritablement traduire le terme (c'est-à-dire lui donner un équivalent dans un autre système lexical), plutôt que se borner à la translittérer : les choix qui furent faits éclairent des déterminations fondamentales de l'origine.³⁶¹

L'origine en tant que *Ursprung* désigne le point source alors que l'origine interprétée comme *Entstehung* désigne le processus menant à l'émergence de quelque chose (par exemple une nouvelle espèce).

Concernant l'origine des cancers, la même diffraction est possible. On peut s'interroger sur l'origine au sens de *Ursprung* des cancers. Cela revient à se demander dans quelles cellules les transformations cancéreuses ont lieu. On peut également se poser la question du processus aboutissant à la production de la tumeur, c'est-à-dire son origine au sens de *Entstehung*. Les chapitres historiques 3 et 4 montrent sans ambiguïté que l'émergence de la théorie des CSC s'est faite sur une notion non-diffractée d'origine. En effet, ces chapitres présentaient deux histoires indépendantes, qui concernent des types de cancers différents (les cancers liquides d'un côté, les adamantinomes et les tératocarcinomes de l'autre), des cellules souches différentes (somatiques adultes d'un côté, embryologiques ou germinales de l'autre) et différentes communautés de chercheurs (les hématologues et immunologues d'une côté et les embryologistes, les biologistes du développement et quelques oncologues de l'autre). Pourtant, une similitude est frappante : dans les deux cas, la question de l'origine est abordée sous les deux sens que le terme peut prendre (*Ursprung* et *Entstehung*). Dans les deux cas aussi, une seule réponse est proposée pour répondre aux deux versants de la question : les « restes embryonnaires » pour Robert Remak et Julius Cohnheim, les « cellules du tissu conjonctif » pour Rudolf Virchow, les cellules « germinales » pour John Beard, les cellules « souches » pour Philip Fialkow, Barry Pierce ou encore John Dick. Ces cellules répondent sans ambiguïté à un sens technique de la notion de cellule souche : il s'agit d'une catégorie ou d'un type cellulaire défini par des propriétés développementales spécifiques³⁶². Les cellules souches (sens technique) sont la source et le moteur du développement des cancers depuis la théorie des restes embryonnaires (chapitre 4, section 4.1) jusqu'au modèle hiérarchique (chapitre 3, section 3.4 et 3.5) ou développemental (chapitre 4, section 4.2.5) en passant par la théorie de

³⁶¹ Hoquet T (2009). *Darwin contre Darwin*. Paris : Seuil, p. 65-66.

³⁶² L'assignation technique du sens, à savoir la possession de propriétés particulières définissant un « type cellulaire » est présente bien avant que le concept de « cellule souche » soit véritablement disponible pour désigner ces cellules. C'est le cas des restes embryonnaires, des cellules du tissu conjonctif et des cellules germinales.

l'origine clonale (chapitre 3, section 3.1 à 3.3) ou encore celle de l'origine germinale (chapitre 4, section 4.2) des cancers.

On ne manquera pas de remarquer que si les « cellules souches » (sens technique) sont à l'origine des cancers au sens d'*Ursprung* et d'*Entstehung*, il en découle qu'elles sont également nécessairement les cellules souches des cancers au sens métaphorique. Ainsi, l'ambiguïté autour du mot « souche », loin d'être résolue, est le terreau sur lequel s'est bâtie la théorie des CSC. Si bien que toute une déclinaison de questions s'est posée depuis : les cellules d'origine-*Ursprung* sont-elles des cellules souches ? Au sens métaphorique et/ou technique ? Les cellules d'origine-*Entstehung* sont-elles des cellules souches ? Au sens métaphorique et/ou technique ? Les cellules d'origine-*Ursprung* sont-elles les mêmes que les cellules d'origine-*Entstehung* ? Bref, que doit-on entendre par le concept de « cellule souche cancéreuse » et quel est son référent dans la théorie des CSC ?

5.1.1. Les cellules initiatrices

Dans la littérature anglaise, deux types d'expressions sont fréquemment préférés à *cancer stem cell*. L'un se décline autour de l'expression *initiating cell*³⁶³, ou encore *propagating cell*³⁶⁴, l'autre remplace le mot *stem* par *stem-like*³⁶⁵ ou encore *Stemloid*³⁶⁶. Les sections 5.1 et 5.2 seront respectivement amorcées par l'étude de ces conflits de vocabulaire.

³⁶³ Voir par exemple : Hill RP and Perris R (2007) « "Destemming" cancer stem cells » *J Natl Cancer Inst* 99(19): 1435-1440 ; Singh SK, Hawkins C, Clarke ID, Squire JA, Bayani J, Hide T, Henkelman RM, Cusimano MD and Dirks PB (2004) « Identification of human brain tumour initiating cells ». *Nature* 432(7015): 396-401 ou encore, également sous la direction de Peter Dirks: Zhou BB, Zhang H, Damelin M, Geles KG, Grindley JC and Dirks PB (2009) « Tumour-initiating cells: challenges and opportunities for anticancer drug discovery ». *Nat Rev Drug Discov* 8(10): 806-823.

L'équipe de John Dick n'a que tardivement utilisé l'expression *cancer stem cell*, ils désignaient ces cellules sous le nom de *SCID Leukemia-Initiating Cells* (abrégé SL-IC) en référence à leur capacité à initier des leucémies dans des souris SCID. Voir par exemple : Bonnet D and Dick JE (1997) « Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell ». *Nat Med* 3(7): 730-737.

³⁶⁴ Voir par exemple : Curtis SJ, Sinkevicius KW, Li D, Lau AN, Roach RR, Zamponi R, Woolfenden AE, Kirsch DG, Wong KK and Kim CF (2010) « Primary tumor genotype is an important determinant in identification of lung cancer propagating cells ». *Cell Stem Cell* 7(1): 127-133; Rehe K, Wilson K, Bomken S, Williamson D, Irving J, den Boer ML, Stanulla M, Schrappe M, Hall AG, Heidenreich O and Vormoor J (2012) « Acute B lymphoblastic leukaemia-propagating cells are present at high frequency in diverse lymphoblast populations ». *EMBO Mol Med* 5(1): 38-51.

³⁶⁵ Gibbs CP, Kukekov VG, Reith JD, Tchigrinova O, Suslov ON, Scott EW, Ghivizzani SC, Ignatova TN and Steindler DA (2005) « Stem-like cells in bone sarcomas: implications for tumorigenesis ». *Neoplasia* 7(11): 967-976; Al-Assar O, Muschel RJ, Mantoni TS, McKenna WG and Brunner TB (2009) « Radiation response of cancer stem-like cells from established human cell lines after sorting for surface markers ». *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 75(4): 1216-1225.

Le premier type d'expression (*initiating cell*) est traduit en français, au moyen d'une translittération, par l'expression « cellule initiatrice ». Les auteurs (tant anglophones que francophones) qui choisissent cette expression la justifient par le fait qu'elle permet d'évoquer la fonction plutôt que l'identité de ces cellules. L'expression « cellule initiatrice de cancer » exprimerait plus directement les données et observations obtenues en laboratoire tandis que l'expression CSC évoquerait un certain niveau d'abstraction qui demanderait à être interrogé³⁶⁷. Cela a deux effets sur le concept de CSC. Premièrement, la question « les CSC sont-elles des cellules souches au sens technique ? » est évacuée en même temps que le mot « souche ». Deuxièmement, les CSC sont clairement désignées comme des cellules souches au sens métaphorique. Selon cette expression, donc, le contenu conceptuel le plus important dans le concept de CSC serait le sens métaphorique de « cellule souche » et non le sens technique, contrairement à ce que l'on pourrait attendre.

Le terme « initiation », cependant, n'est pas plus transparent que ceux d'origine et de cellule souche. En particulier, il est critiqué pour ne pas permettre de distinction temporelle entre la première cellule qui aurait initié le cancer au temps T_1 dans des conditions C_1 et celles qui jouent ce rôle au temps T_n dans des conditions C_n ³⁶⁸. Comme le concept de CSC, celui de cellule initiatrice cache une inférence qui demande à être interrogée. En effet, les observations menées en laboratoire concernent des cellules cancéreuses temporellement situées. La cellule initiatrice de cancer expérimentalement mise en évidence, se situe au temps T_1 du cancer qu'elle initie dans des conditions expérimentales C_E . Mais elle se situe à un temps T_n relativement avancé du cancer dont elle est extirpée. Or, l'identité entre le T_1 du cancer d'origine et le T_1 du cancer initié en laboratoire est loin d'être évidente, en raison des fortes modifications entre les conditions développementales C_1 et les conditions expérimentales C_E . La cellule caractérisée en laboratoire comme « cellule initiatrice de cancer » est une cellule qui a été isolée, marquée, triée puis transplantée sans son microenvironnement dans un environnement biologique

³⁶⁶ Blagosklonny MV (2007) « Cancer stem cell and cancer stemoids: from biology to therapy ». *Cancer Biol Ther* 6(11): 1684-1690 ; Albin A, Cesana E and Noonan DM (2011) « Cancer stem cells and the tumor microenvironment: soloists or choral singers ». *Curr Pharm Biotechnol* 12(2): 171-181.

³⁶⁷ Voir par exemple Hill RP and Perris R (2007) « "Destemming" cancer stem cells » *J Natl Cancer Inst* 99(19): 1435-1440.

³⁶⁸ Voir par exemple Valent P, Bonnet D, De Maria R, Lapidot T, Copland M, Melo JV, Chomienne C, Ishikawa F, Schuringa JJ, Stassi G, Huntly B, Herrmann H, Soulier J, Roesch A, Schuurhuis GJ, Wöhrer S, Arock M, Zuber J, Cerny-Reiterer S, Johnsen HE, Andreeff M and Eaves C (2012) « Cancer stem cell definitions and terminology: the devil is in the details » *Nat Rev Cancer* 12(11): 767-775, p. 769 : « The term cancer initiating does not clearly distinguish between the original cells from which the malignancy first arose and the cells in a given suspension that are capable of producing malignant daughter cells in a given assay ».

très différent de celui dans lequel était la cellule qui avait initié le cancer originel (cf. chapitre 3, section 3.3.2). Plusieurs expériences ont révélé les impacts du système expérimental sur lequel repose l'identification des CSC.

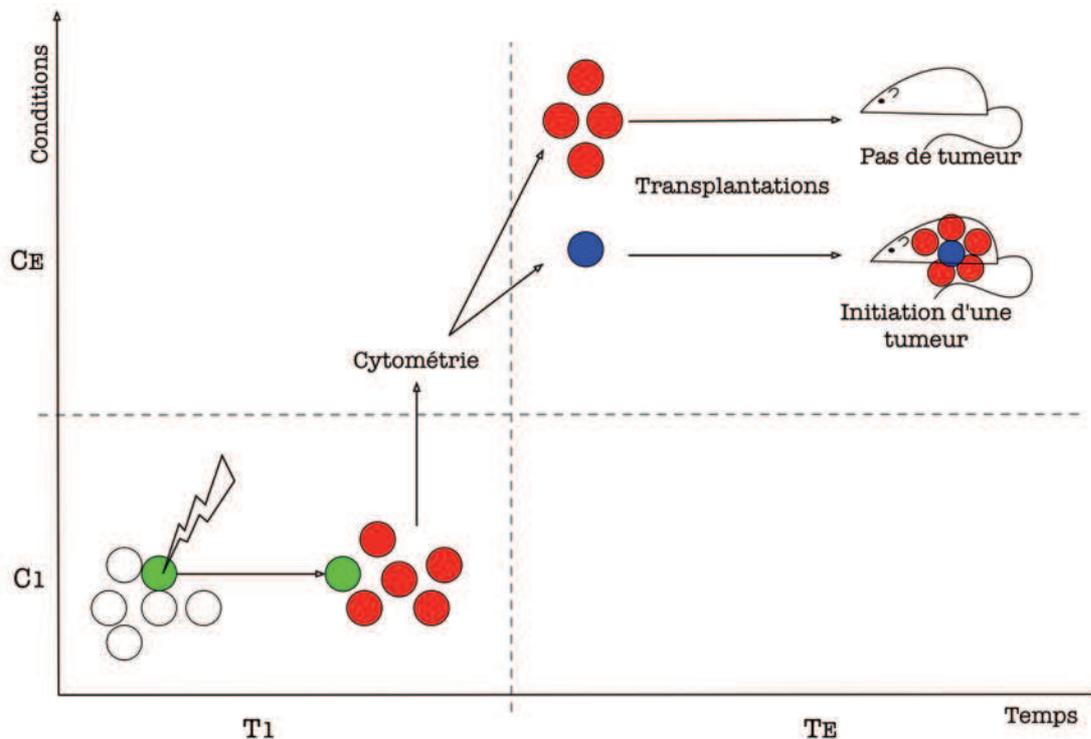


Figure 31. A quelles cellules fait référence le concept de CSC? Le concept de cellule initiatrice. C_E : conditions expérimentales. T_E : temps expérimental. Cellules blanches : cellules non-cancéreuses. Cellules rouges : cellules cancéreuses non-CSC. Cellules bleues : « cellules initiatrices de cancers » identifiée en laboratoire, CSC selon la théorie des CSC. Cellules vertes : CSC selon la théorie des CSC.

Premièrement, les organismes modèles jouent un rôle majeur. Si la souris NOD-SCID a permis les premières transplantations sériées (voir chapitre 3, section 3.3.2), l'utilisation d'autres lignées de souris peut donner des résultats étonnamment différents³⁶⁹.

³⁶⁹ Le résultat le plus surprenant fut celui obtenu par l'équipe de Sean Morrison avec des souris NOD-SCID $Il2rg^{-/-}$ (Interleukin-2 receptor gamma chain null). Il s'agit d'une souche de souris NOD-SCID porteuses d'une mutation de la chaîne gamma du récepteur 2 de l'interleukine. Cette mutation empêche la maturation des cellules NK. En utilisant ces souris, l'équipe de Sean Morrison a montré que les cellules tumorigéniques ou CSC pouvaient être communes dans certains cancers humains comme le mélanome, faisant passer les chiffres de 0,0001% dans la souris NOD-SCID à 25-27% dans la souris NOD-SCID $Il2rg^{-/-}$. Quintana E, Shackleton M, Sabel MS, Fullen DR, Johnson TM and Morrison SJ (2008) « Efficient tumour formation by single human melanoma cells » *Nature* 456(7222): 593-598. Voir aussi Shackleton M, Quintana E, Fearon ER and Morrison SJ (2009) « Heterogeneity in cancer: cancer stem cells versus clonal evolution » *Cell* 138(5): 822-829.

Des résultats similaires mais moins spectaculaires avaient déjà été obtenus pour les leucémies. Voir : Agliano A, Martin-Padura I, Mancuso P, Marighetti P, Rabascio C, Pruneri G, Shultz LD and Bertolini F (2008) « Human acute leukemia cells injected in NOD/LtSz-scid/IL-2Rgamma null mice generate a faster and more efficient disease compared to other NOD/scid-related strains ». *Int J Cancer* 123(9): 2222-2227 et Feuring-Buske M, Gerhard B, Cashman J, Humphries RK, Eaves CJ and Hogge DE (2003) « Improved engraftment of human acute

L'utilisation d'organismes modèles est chargée de problèmes d'inférences³⁷⁰. Dans le cas présent, deux exigences s'opposent : d'un côté la transplantation nécessite des lignées de souris les plus immunodéficientes possibles, de l'autre les interactions entre le système immunitaire et la tumeur sont supprimées des paramètres de modélisation alors que l'on sait qu'elles jouent un rôle important dans l'histoire naturelle des cancers³⁷¹.

Deuxièmement, l'équipe de Dominique Bonnet a mis en évidence en 2008 le fait que les anticorps fluorescents utilisés pour trier les cellules par FACS n'étaient pas toujours neutres³⁷² (sur la technologie du FACS voir le chapitre 3, Figure 21). En effet, cette équipe a montré que l'anticorps anti-CD38 avait un effet inhibiteur important sur les greffes de cellules leucémiques (et hématopoïétiques), dû à la provocation d'une réaction immunitaire des macrophages et des cellules NK des souris NOD-SCID transplantées aboutissant à l'élimination des cellules CD38⁺ porteuses de l'anticorps fluorescent. Une fois éliminé cet effet, les résultats de transplantation furent très différents. Alors que l'équipe de John Dick avait caractérisé les CSC comme exclusivement CD34⁺CD38⁻, les expériences menées par son ancienne post-doctorante révélèrent l'existence de CSC dans les populations CD34⁺CD38⁺ aussi. Deux ans plus tard l'équipe de Dominique Bonnet a montré que la variabilité phénotypique des CSC des leucémies aiguës myéloïdes pouvait être encore plus importante qu'on ne le soupçonnait. Dans la moitié des transplantations menées par l'équipe, les CSC se trouvaient exclusivement dans la population CD34⁻ et non, comme il était admis, CD34⁺. Dans l'autre moitié, les CSC présentaient des phénotypes variés

myeloid leukemia progenitor cells in beta 2-microglobulin-deficient NOD/SCID mice and in NOD/SCID mice transgenic for human growth factors ». *Leukemia* 17(4): 760-763.

³⁷⁰ Sur les organismes modèles en médecine, voir en particulier Gachelin G (ed) (2006) *Les organismes modèles dans la recherche médicale*. Paris : Puf.

³⁷¹ Voir par exemple Hill RP and Perris R (2007) « "Destemming" cancer stem cells ». *J Natl Cancer Inst* 99(19): 1435-1440. Notons que l'utilisation de cancers murins plutôt qu'humain pour éviter ce problème est lui aussi soumis à un problème d'inférence de l'organisme modèle vers l'humain dans la mesure où les caractéristiques des cancers murins sont sensiblement différentes des formes humaines. Voir, par exemple : Kennedy JA, Barabe F, Poepl AG, Wang JC and Dick JE (2007) « Comment on "Tumor growth need not be driven by rare cancer stem cells" » *Science* 318(5857): 1722; author reply 1722. Pour l'utilisation de modèles murins syngéniques voir : Kelly PN, Dakic A, Adams JM, Nutt SL and Strasser A (2007) « Tumor growth need not be driven by rare cancer stem cells ». *Science* 317(5836): 337; Somerville TC and Cleary ML (2006) « Identification and characterization of leukemia stem cells in murine MLL-AF9 acute myeloid leukemia ». *Cancer Cell* 10(4): 257-268; Krivtsov AV, Twomey D, Feng Z, Stubbs MC, Wang Y, Faber J, Levine JE, Wang J, Hahn WC, Gilliland DG, Golub TR and Armstrong SA (2006) « Transformation from committed progenitor to leukaemia stem cell initiated by MLL-AF9 » *Nature* 442(7104): 818-822.

³⁷² Taussig DC, Miraki-Moud F, Anjos-Afonso F, Pearce DJ, Allen K, Ridler C, Lillington D, Oakervee H, Cavenagh J, Agrawal SG, Lister TA, Gribben JG and Bonnet D (2008) « Anti-CD38 antibody-mediated clearance of human repopulating cells masks the heterogeneity of leukemia-initiating cells ». *Blood* 112(3): 568-575.

(CD34⁺CD38⁻, CD34⁺CD38⁺, CD34⁻CD38⁻ ou encore CD34⁻CD38⁺)³⁷³. Le processus de tri cellulaire, depuis le fractionnement des cellules jusqu'à l'intervention du FACS, en passant par la suspension cellulaire et l'enrichissement, n'est pas innocent³⁷⁴.

D'autres variations peuvent être observées dans les résultats en allongeant le temps de l'observation³⁷⁵ ou en modifiant le lieu de la transplantation³⁷⁶. Même le sexe des souris transplantées peut être un facteur de différences dans les résultats de transplantations. L'efficacité de la greffe pouvant être jusqu'à onze fois supérieure chez les souris NSG femelles par rapport aux mâles³⁷⁷.

Ces données montrent l'importance des conditions C_E du système expérimental dans les résultats obtenus. Tout changement dans les variables induit des modifications dans les résultats de l'expérience. Le système expérimental introduit une pression de sélection importante et surtout différente de celle que rencontrent les cellules au moment de leur transformation cancéreuse. Ainsi, la cellule initiatrice de tumeur mise en évidence par ce biais est aussi, voire avant tout, une cellule capable de supporter ces différentes phases expérimentales (les conditions C_E). La variation dans les résultats obtenus indique que toutes les cellules initiateuses de tumeurs ne sont pas capables de survivre à tous ces paramètres. Par conséquent, il n'est pas encore possible d'inférer des résultats obtenus que les cellules initiateuses de tumeurs dans ces conditions de laboratoires soient les mêmes que les cellules initiateuses originelles (voir Figure 31).

³⁷³ Taussig DC, Vargaftig J, Miraki-Moud F, Griessinger E, Sharrock K, Luke T, Lillington D, Oakervee H, Cavenagh J, Agrawal SG, Lister TA, Gribben JG and Bonnet D (2010) « Leukemia-initiating cells from some acute myeloid leukemia patients with mutated nucleophosmin reside in the CD34(-) fraction ». *Blood* 115(10): 1976-1984.

³⁷⁴ Voir par exemple Majumder S (ed) (2009) *Stem Cells and Cancer*. Dordrecht, Heidelberg, London, New York: Springer, en particulier p. 17.

³⁷⁵ Quintana E, Shackleton M, Sabel MS, Fullen DR, Johnson TM and Morrison SJ (2008) « Efficient tumour formation by single human melanoma cells » *Nature* 456(7222): 593-598.

³⁷⁶ McKenzie JL, Gan OI, Doedens M and Dick JE (2005) « Human short-term repopulating stem cells are efficiently detected following intrafemoral transplantation into NOD/SCID recipients depleted of CD122+ cells ». *Blood* 106(4): 1259-1261.

Voir aussi: Yahata T, Ando K, Sato T, Miyatake H, Nakamura Y, Muguruma Y, Kato S and Hotta T (2003) « A highly sensitive strategy for SCID-repopulating cell assay by direct injection of primitive human hematopoietic cells into NOD/SCID mice bone marrow » *Blood* 101(8): 2905-2913.

³⁷⁷ Notta F, Doulatov S and Dick JE (2010) « Engraftment of human hematopoietic stem cells is more efficient in female NOD/SCID/IL-2Rgc-null recipients ». *Blood* 115(18): 3704-3707.

Pour une review sur l'influence des différents paramètres expérimentaux, voir : Shackleton M, Quintana E, Fearon ER and Morrison SJ (2009) « Heterogeneity in cancer: cancer stem cells versus clonal evolution ». *Cell* 138(5): 822-829.

5.1.2. Les cellules propagatrices

L'implication des facteurs de temps et de conditions développementales est plus complexe que la simple distinction entre conditions environnementales initiales (C_1) et conditions expérimentales (C_E) représentée dans la Figure 31. Le temps et les conditions changent également indépendamment de l'intervention du système expérimental. Encore une fois, les propositions d'appellations sont éclairantes.

Le concept de « cellule initiatrice », comme je l'ai indiqué, a été critiqué pour son ambiguïté concernant la distinction entre la première cellule qui aurait initié le cancer au temps T_1 dans des conditions C_1 et celles qui jouent ce rôle au temps T_E dans des conditions C_E (distinction représentée dans la Figure 31). Pour éliminer cette ambiguïté, le concept de « cellule propagatrice de cancer » fut proposé à plusieurs reprises. Je montrerai que la distinction entre cellule initiatrice et cellule propagatrice n'a pas permis de résoudre l'ambiguïté portée par la notion de cellule initiatrice mais qu'elle révèle un niveau supérieur d'hétérogénéité dans les facteurs temps et conditions.

Si la notion de cellule propagatrice n'a pas permis de résoudre l'ambiguïté portée par la notion de cellule initiatrice c'est parce que plusieurs distinctions différentes ont été proposées entre ces deux notions. D'un côté, certaines équipes, comme celle de Priscilla Kelly par exemple, suggérèrent d'employer « cellules propagatrices de tumeur » (*tumor propagating cell*) pour désigner les cellules caractérisées par les chercheurs (les cellules bleues correspondant aux conditions C_E au temps T_E dans la Figure 31)³⁷⁸. La notion de cellule initiatrice pouvait alors s'appliquer à la cellule ayant initié le cancer originel au temps T_1 dans les conditions C_1 (cellule verte dans la Figure 31). D'autre part, la distinction entre cellule initiatrice et cellule propagatrice a également été faite pour désigner d'autres référents, par exemple par l'équipe de Tariq Enver et Mel Greaves. Ils avaient mis en évidence l'existence de mutations dans des cellules souches hématopoïétiques en amont de la transformation proprement cancéreuse. Selon eux, la confusion concernant le concept de cellule initiatrice porte sur le temps T_1 de l'initiation des cancers. Ce que j'ai désigné comme T_1 peut et doit être subdivisé parce qu'il contient en fait plusieurs événements : en T_0 aurait lieu une première mutation précancéreuse, puis en T_1 , l'accumulation des mutations

³⁷⁸ Kelly PN, Dakic A, Adams JM, Nutt SL and Strasser A (2007) « Tumor growth need not be driven by rare cancer stem cells ». *Science* 317(5836): 337. Voir aussi : Valent P, Bonnet D, De Maria R, Lapidot T, Copland M, Melo JV, Chomienne C, Ishikawa F, Schuringa JJ, Stassi G, Huntly B, Herrmann H, Soulier J, Roesch A, Schuurhuis GJ, Wohrer S, Arock M, Zuber J, Cerny-Reiterer S, Johnsen HE, Andreoff M and Eaves C (2012) « Cancer stem cell definitions and terminology: the devil is in the details » *Nat Rev Cancer* 12(11): 767-775, en particulier pp. 769-770.

aboutirait à l'émergence d'une première cellule véritablement cancéreuse à partir de laquelle se développerait un cancer (voir Figure 32). Ils proposèrent en conséquence de désigner les cellules mutées précancéreuses comme les « cellules initiatrices de tumeurs » (T_0 , cellules jaunes dans la Figure 32) et les cellules proprement cancéreuses comme les « cellules propagatrices de tumeur » (T_1 , cellules vertes dans la Figure 32)³⁷⁹.

Il est à noter que cette distinction correspond à un usage en fait courant du concept d'initiation en oncologie. En effet, le concept d'initiation existait déjà depuis les années 1940. Il était associé à celui de promotion. Les concepts d'initiation et la promotion permettaient de distinguer différents types de facteurs étiologiques et leurs rôles respectifs dans le développement des cancers. Les « initiateurs » désignent les facteurs (en général génétiques) susceptibles de provoquer une première transformation cellulaire irréversible mais insuffisante pour mener au développement d'un cancer (cela correspond aux mutations identifiées par l'équipe de Tariq Enver et Mel Greaves dans des cellules souches hématopoïétique précancéreuses). Les « promoteurs » désignent les facteurs qui, affectant les cellules déjà initiées, sont capables d'induire le développement d'un cancer³⁸⁰.

En recoupant ces deux suggestions, on se retrouve en présence de deux concepts (cellules initiatrices et cellules propagatrices) pour désigner trois populations potentielles (cellules jaunes, vertes et bleues, Figure 32). Maho Shibata et Michael Shen proposent, pour leur part, d'appeler la cellule mutée précancéreuse « cellules de mutation » (*cell of mutation*) par opposition à « cellules d'origine » (*cell of origin*)³⁸¹. Cette distinction est, toutefois, peu

³⁷⁹ Hong D, Gupta R, Ancliff P, Atzberger A, Brown J, Soneji S, Green J, Colman S, Piacibello W, Buckle V, Tsuzuki S, Greaves M and Enver T (2008) « Initiating and cancer-propagating cells in TEL-AML1-associated childhood leukemia » *Science* 319(5861): 336-339.

Une distinction similaire est proposée, en critique à la notion de cellule initiatrice de cancer, par : Clarke MF, Dick JE, Dirks PB, Eaves CJ, Jamieson CH, Jones DL, Visvader J, Weissman IL and Wahl GM (2006) « Cancer stem cells--perspectives on current status and future directions: AACR Workshop on cancer stem cells » *Cancer Res* 66(19): 9339-9344, voir en particulier p. 9340.

Jane Visvader soutient qu'il peut y avoir une différence entre la cellule d'origine, qu'elle appelle également cellule initiatrice et les CSC, qui ferait plutôt références aux cellules propagatrices. Voir Visvader JE (2011) « Cells of origin in cancer ». *Nature* 469(7330): 314-322.

³⁸⁰ Il est notable qu'originellement, la promotion était souvent associée à des facteurs non-génétiques tels que l'irritation, qui avait déjà ce rôle dans la théorie des restes embryonnaires. Pour les premières études voir : Friedewald WF and Rous P (1944) « The Initiating and Promoting Elements in Tumor Production : An Analysis of the Effects of Tar, Benzpyrene, and Methylcholanthrene on Rabbit Skin ». *J Exp Med* 80(2): 101-126 et Berenblum I (1941) « The Cocarcinogenic Action of Croton Resin ». *Cancer Research* 1(1): 44-48.

Pour une revue historique de la littérature, voir : Potter VR (1980) « Initiation and promotion in cancer formation: the importance of studies on intercellular communication ». *Yale J Biol Med* 53(5): 367-384.

³⁸¹ Shibata M and Shen MM (2013) « The roots of cancer: Stem cells and the basis for tumor heterogeneity ». *Bioessays* 35(3): 253-260.

éclairante, dans la mesure où la dite « cellule d'origine » est également produite par mutation et la dite « cellule de mutation » est également, en un sens, cellule d'origine.

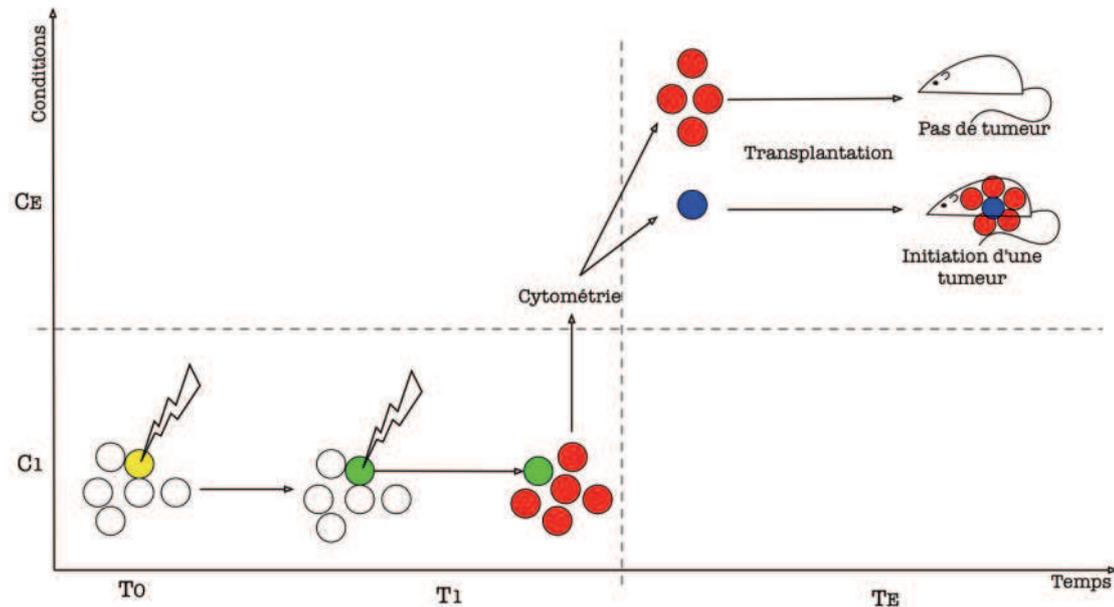


Figure 32. A quelles cellules fait référence le concept de cellule initiatrice? Le concept de cellule propagatrice. C_E: conditions expérimentales. T_E: temps expérimental. Cellules blanches: cellules non-cancéreuses. Cellules rouges: cellules cancéreuses non-CSC. Cellules bleues: « cellules propagatrices de cancer » identifiées en laboratoire, CSC selon la théorie des CSC. Cellules vertes: « cellules initiatrices de cancer » selon Kelly *et al* (2007), « cellules propagatrices » selon Hong *et al* (2008), « cellules d'origine » selon Shibata & Shen (2013), CSC selon la théorie des CSC. Cellule jaune: « cellule initiatrice » selon Hong *et al* (2008) et Visvader (2011), « cellule de mutation » selon Shibata & Shen (2013)³⁸².

5.1.3. Evolution et métastases

Une dernière série de distinctions peut être faite concernant les cellules désignées par le concept de CSC. Le facteur temporel et le facteur spatial peuvent induire des modifications dans la sous-population de CSC via une accumulation de mutations et des changements dans les pressions de sélection.

L'instabilité génétique et/ou chromosomique est une caractéristique ubiquitaire des cellules cancéreuses³⁸³. Ce taux important de variation avait mené à la théorie de l'évolution

³⁸² Kelly PN, Dakic A, Adams JM, Nutt SL and Strasser A (2007) « Tumor growth need not be driven by rare cancer stem cells ». *Science* 317(5836): 337.

Hong D, Gupta R, Ancliff P, Atzberger A, Brown J, Soneji S, Green J, Colman S, Piacibello W, Buckle V, Tsuzuki S, Greaves M and Enver T (2008) « Initiating and cancer-propagating cells in TEL-AML1-associated childhood leukemia » *Science* 319(5861): 336-339.

Shibata M and Shen MM (2013) « The roots of cancer: Stem cells and the basis for tumor heterogeneity ». *Bioessays* 35(3): 253-260.

Visvader JE (2011) « Cells of origin in cancer ». *Nature* 469(7330): 314-322.

³⁸³ L'instabilité génétique fait référence à une accumulation de mutations dans les gènes alors que l'instabilité chromosomique fait référence à la perte ou au gain de portions de chromosomes voir de chromosomes entiers.

clonale selon laquelle « l'instabilité génétique acquise permet une sélection progressive des lignées variantes et est à l'origine de la progression de la tumeur »³⁸⁴. La théorie des CSC a été formulée et interprétée en opposition au modèle stochastique et à la théorie de l'évolution clonale (voir Chapitre 2).

Quand le concept de CSC a été formulé pour la première fois, de nombreux chercheurs pensaient que le modèle standard de l'évolution clonale des cancers avait besoin d'une révision majeure et que les hypothèses des CSC pourraient même le remplacer comme l'un des grands principes de la physiopathologie du cancer³⁸⁵.

Voir Lengauer C, Kinzler KW and Vogelstein B (1998) « Genetic instabilities in human cancers » *Nature* 396(6712): 643-649 ; Stratton MR (2011) « Exploring the genomes of cancer cells: progress and promise » *Science* 331(6024): 1553-1558. Pour un exemple, voir : Stephens PJ, Greenman CD, Fu B, Yang F, Bignell GR, Mudie LJ, Pleasance ED, Lau KW, Beare D, Stebbings LA, McLaren S, Lin ML, McBride DJ, Varela I, Nik-Zainal S, Leroy C, Jia M, Menzies A, Butler AP, Teague JW, Quail MA, Burton J, Swerdlow H, Carter NP, Morsberger LA, Iacobuzio-Donahue C, Follows GA, Green AR, Flanagan AM, Stratton MR, Futreal PA and Campbell PJ (2011) « Massive genomic rearrangement acquired in a single catastrophic event during cancer development » *Cell* 144(1): 27-40.

Les cellules cancéreuses sont également susceptibles de subir des modifications épigénétiques pouvant affecter le niveau d'expression des gènes. Voir : Jones PA and Baylin SB (2007) « The epigenomics of cancer » *Cell* 128(4): 683-692.

Sur l'hypothèse du phénotype mutateur (certaines mutations cancéreuses augmenteraient l'instabilité génétique et rendraient les cellules plus susceptibles d'accumuler un nombre anormalement élevé de mutations), voir : Loeb LA (1991) « Mutator phenotype may be required for multistage carcinogenesis » *Cancer Res* 51(12): 3075-3079 ; Loeb KR, Loeb LA (2000) « Significance of multiple mutations in cancer » *Carcinogenesis* 21: 379-385 ; Beckman RA and Loeb LA (2006) « Efficiency of carcinogenesis with and without a mutator mutation » *Proc Natl Acad Sci U S A* 103(38): 14140-14145.

Pour une critique de la *fitness* évolutive comme *explanans* du phénotype mutateur et de l'hypothèse du phénotype mutateur comme *explanans* du développement des cancers, voir : Komarova N (2004) « Does cancer solve an optimization problem? » *Cell Cycle* 3(7): 840-844 ; Komarova NL and Wodarz D (2004) « The optimal rate of chromosome loss for the inactivation of tumor suppressor genes in cancer » *Proc Natl Acad Sci U S A* 101(18): 7017-7021.

³⁸⁴ Nowell PC (1976) « The clonal evolution of tumor cell populations ». *Science* 194(4260): 23-28, ici p. 23. Les modèles évolutionnistes et darwiniens des cancers sont nombreux. Voir aussi : Cairns J (1975) « Mutation selection and the natural history of cancer » *Nature* 255(5505): 197-200 ; Greaves M (2000) *Cancer. The Evolutionary Legacy*. Oxford: Oxford University Press ; Gatenby RA and Vincent TL (2003) « An evolutionary model of carcinogenesis » *Cancer Res* 63(19): 6212-6220 ; Merlo LM, Pepper JW, Reid BJ and Maley CC (2006) « Cancer as an evolutionary and ecological process » *Nat Rev Cancer* 6(12): 924-935 ; Vineis P and Berwick M (2006) « The population dynamics of cancer: a Darwinian perspective » *Int J Epidemiol* 35(5): 1151-1159 ; Frank SA (2007) *Dynamics of Cancer. Incidence, Inheritance, and Evolution*. Princeton and Oxford: Princeton University Press ; Vincent TL and Gatenby RA (2008) « An evolutionary model for initiation, promotion, and progression in carcinogenesis » *Int J Oncol* 32(4): 729-737.

³⁸⁵ « When the concept of CSCs was first formulated, many researchers thought that the standard model of CE of cancer needed major revision, and that CSC hypotheses could eventually even replace it as one of the main principles of cancer pathophysiology ». Pantic I (2011) « Cancer stem cell hypotheses: impact on modern molecular physiology and pharmacology research » *J Biosci* 36(5): 957-961, ici p. 959.

Pourtant cette opposition est fragile et très discutée. Plusieurs remarques peuvent être faites à ce sujet. Premièrement, l'opposition entre théorie des CSC et théorie de l'évolution clonale se joue en fait au niveau des explications et prédictions. Autrement dit, l'une et l'autre peuvent être considérées comme deux théories alternatives du développement des cancers³⁸⁶. La question est alors de savoir laquelle des deux fournit le meilleur ensemble d'explications et prédictions. Le chapitre 2 (l'annexe 1 également) a montré que la théorie des CSC permettait d'expliquer plus à partir d'un moins grand nombre d'hypothèses. Par ailleurs, la théorie de l'évolution clonale est sujette à de nombreuses interrogations qui tendent à remettre en question le statut adaptatif de l'évolution des cellules cancéreuses. Le philosophe Pierre-Luc Germain soutient que les cellules cancéreuses ne sont pas des « populations darwiniennes paradigmatiques »³⁸⁷. Il a montré que la *fitness* des cellules cancéreuses était en grande partie indépendante des caractéristiques intrinsèques aux cellules et que la sélection naturelle jouait un rôle secondaire dans l'explication de la persistance ou de l'extinction des lignées clonales de cellules cancéreuses. Les processus évolutifs auraient donc un moindre rôle dans l'explication du développement du cancer³⁸⁸.

Deuxièmement, l'évolution clonale et la théorie des CSC peuvent également être considérées comme des descriptions. Or, s'il est permis de s'interroger sur le rôle causal de l'évolution des cellules cancéreuses, l'évolution elle-même, c'est-à-dire l'apparition de nouvelles lignées de cellules cancéreuses présentant des caractéristiques différentes dans l'espace et/ou dans le temps, reste avérée. Sur le plan strictement descriptif, les deux modèles ne sont pas exclusifs³⁸⁹.

³⁸⁶ Notons que certains soutiennent que les deux théories sont valides mais s'appliquent à des cancers différents. Ainsi, la théorie des CSC offrirait de meilleures explications du développement des leucémies myéloïdes alors que la théorie de l'évolution clonale s'appliquerait mieux aux leucémies lymphoïdes, aux mélanomes ou encore à certains cancers du sein.

Adams JM and Strasser A (2008) « Is tumor growth sustained by rare cancer stem cells or dominant clones? » *Cancer Res* 68(11): 4018-4021; Shackleton M, Quintana E, Fearon ER and Morrison SJ (2009) « Heterogeneity in cancer: cancer stem cells versus clonal evolution » *Cell* 138(5): 822-829 ; Shipitsin M, Campbell LL, Argani P, Weremowicz S, Bloushtain-Qimron N, Yao J, Nikolskaya T, Serebryiskaya T, Beroukhim R, Hu M, Halushka MK, Sukumar S, Parker LM, Anderson KS, Harris LN, Garber JE, Richardson AL, Schnitt SJ, Nikolsky Y, Gelman RS and Polyak K (2007) « Molecular definition of breast tumor heterogeneity ». *Cancer Cell* 11(3): 259-273.

³⁸⁷ Une « population darwinienne » est une population susceptible d'évolution par sélection naturelle. Voir : Godfrey-Smith P (2009) *Darwinian Populations and Natural Selection*. New York: Oxford University Press.

³⁸⁸ Germain P-L (2012) « Cancer cells and adaptive explanations ». *Biology & Philosophy* 27(6): 785-810.

³⁸⁹ Polyak K (2007) « Breast cancer: origins and evolution » *J Clin Invest* 117(11): 3155-3163.

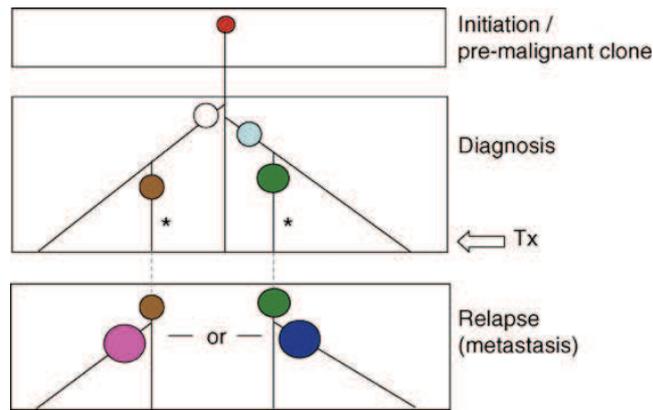


Figure 33. Evolution clonale des CSC selon Mel Greaves (2010)³⁹⁰. Les cercles représentent des populations de CSC. Les couleurs indiquent des différences phénotypiques, les tailles arbitraires indiquent une quantité de CSC. Tx : thérapie.

La question qui se pose alors, et ce sera ma troisième remarque, est la suivante : quel est l'impact de cette évolution sur les CSC ? Dans quelle mesure les populations de CSC sont-elles touchées par ces modifications ? Depuis quelques années, un nombre croissant de chercheurs propose d'intégrer l'évolution clonale à la théorie des CSC³⁹¹. Certaines données suggèrent que les CSC sont elles-mêmes sujettes à évolution³⁹² (représenté dans la Figure 33). L'équipe de Mel Greaves a ainsi observé la présence de CSC dans différents sous-clones d'une leucémie, indiquant une diversité génétique parmi les CSC d'un même cancer³⁹³. L'équipe de John Dick a également montré, à travers une analyse de la chaîne lourde de l'immunoglobuline, une évolution dans les CSC qui initie les leucémies aiguës lors de transplantations sériées³⁹⁴. L'équipe de Leda Dalprà et Angelo Luigi Vescovi, à Milan, a également mis en évidence l'existence de deux populations synchroniques de CSC présentant des différences fonctionnelles et phénotypiques dans des

³⁹⁰ Greaves M (2010) « Cancer stem cells: back to Darwin? » *Semin Cancer Biol* 20(2): 65-70 (ici, Figure 7, p. 68). Légende d'origine: « A 'back to Darwin' model: stem cell evolutionary diversification and selection in cancer. Genetically distinct, propagating or stem cells (spawning distinct sub-clones) with varying phenotypic properties (colours of the circle) and numbers (arbitrary size of the circle). *: Major or minor sub-clones and Tx: therapy ».

³⁹¹ Voir par exemple : Fabian A, Barok M, Vereb G and Szollosi J (2009) « Die hard: are cancer stem cells the Bruce Willises of tumor biology? » *Cytometry A* 75(1): 67-74.

³⁹² Notez qu'il a aussi été suggéré que le modèle de l'évolution clonale s'applique aux cellules souches adultes. Ingo Roeder, en particulier, a produit des modélisations mathématiques. Voir par exemple : Roeder I, Horn K, Sieburg HB, Cho R, Muller-Sieburg C and Loeffler M (2008) « Characterization and quantification of clonal heterogeneity among hematopoietic stem cells: a model-based approach » *Blood* 112(13): 4874-4883.

³⁹³ Anderson K, Lutz C, van Delft FW, Bateman CM, Guo Y, Colman SM, Kempinski H, Moorman AV, Titley I, Swansbury J, Kearney L, Enver T and Greaves M (2011) « Genetic variegation of clonal architecture and propagating cells in leukaemia ». *Nature* 469(7330): 356-361.

Voir aussi l'analyse de Mel Greaves dans Greaves M (2010) « Cancer stem cells: back to Darwin? » *Semin Cancer Biol* 20(2): 65-70, en particulier p. 68.

³⁹⁴ Barabe F, Kennedy JA, Hope KJ and Dick JE (2007) « Modeling the initiation and progression of human acute leukemia in mice ». *Science* 316(5824): 600-604.

glioblastomes³⁹⁵. Par ailleurs, les traitements pourraient également, en introduisant une pression de sélection importante, aboutir à l'émergence de populations de CSC distinctes en tailles, phénotypes et/ou propriétés fonctionnelles³⁹⁶.

Cette évolution des CSC pourrait notamment aboutir à l'apparition de populations de CSC dotées de propriétés fonctionnelles nouvelles, en particulier de la capacité à initier des cancers secondaires³⁹⁷. Selon cette hypothèse, « toutes les CSC ne seraient pas capables de métastases »³⁹⁸ et cette propriété fonctionnelle acquise rendrait nécessaire la distinction d'une population supplémentaire de CSC (les CSC métastatiques). Thomas Brabletz et ses collègues proposent de les appeler CSCm pour « CSC métastatiques ». Selon eux, les CSCm sont obtenues par additivité. Les CSCm possèdent les propriétés des CSC plus des capacités de mobilité³⁹⁹. Notons que selon les biologistes américains Gabriel Ghiaur, Jonathan Gerber et Richard Jones, le contexte expérimental de la mise en évidence des CSC fournirait un modèle plus proche des CSCm que des CSC précancéreuses et des CSC initiatrices du cancer primaire⁴⁰⁰.

Ainsi, le temps et les conditions environnementales pourraient introduire une diversification diachronique et synchronique dans les populations de CSC, du fait des mutations, des modifications dans les sélections dues à l'environnement (environnement sans tumeur en T_0 , cancéreux en $T_1 \rightarrow n$, sans tumeur mais dans un environnement différent en T_m suite à une métastase) et/ou aux thérapies (T_p , C_p , Figure 34)

³⁹⁵ Piccirillo SG, Combi R, Cajola L, Patrizi A, Redaelli S, Bentivegna A, Baronchelli S, Maira G, Pollo B, Mangiola A, DiMeco F, Dalpra L and Vescovi AL (2009) « Distinct pools of cancer stem-like cells coexist within human glioblastomas and display different tumorigenicity and independent genomic evolution » *Oncogene* 28(15): 1807-1811.

³⁹⁶ Lagasse E (2008) « Cancer stem cells with genetic instability: the best vehicle with the best engine for cancer » *Gene Ther* 15(2): 136-142 ; Greaves M (2010) « Cancer stem cells: back to Darwin? » *Semin Cancer Biol* 20(2): 65-70.

³⁹⁷ Bapat SA (2007) « Evolution of cancer stem cells » *Semin Cancer Biol* 17(3): 204-213.

³⁹⁸ Odoux C, Fohrer H, Hoppo T, Guzik L, Stolz DB, Lewis DW, Gollin SM, Gambelin TC, Geller DA and Lagasse E (2008) « A stochastic model for cancer stem cell origin in metastatic colon cancer » *Cancer Res* 68(17): 6932-6941.

³⁹⁹ Brabletz T, Jung A, Spaderna S, Hlubek F and Kirchner T (2005) « Opinion: migrating cancer stem cells - an integrated concept of malignant tumour progression » *Nat Rev Cancer* 5(9): 744-749. Voir aussi : Takebe N and Ivy SP (2010) « Controversies in cancer stem cells: targeting embryonic signaling pathways » *Clin Cancer Res* 16(12): 3106-3112.

⁴⁰⁰ Ghiaur G, Gerber J and Jones RJ (2012) « Concise review: Cancer stem cells and minimal residual disease » *Stem Cells* 30(1): 89-93, en particulier p. 91.

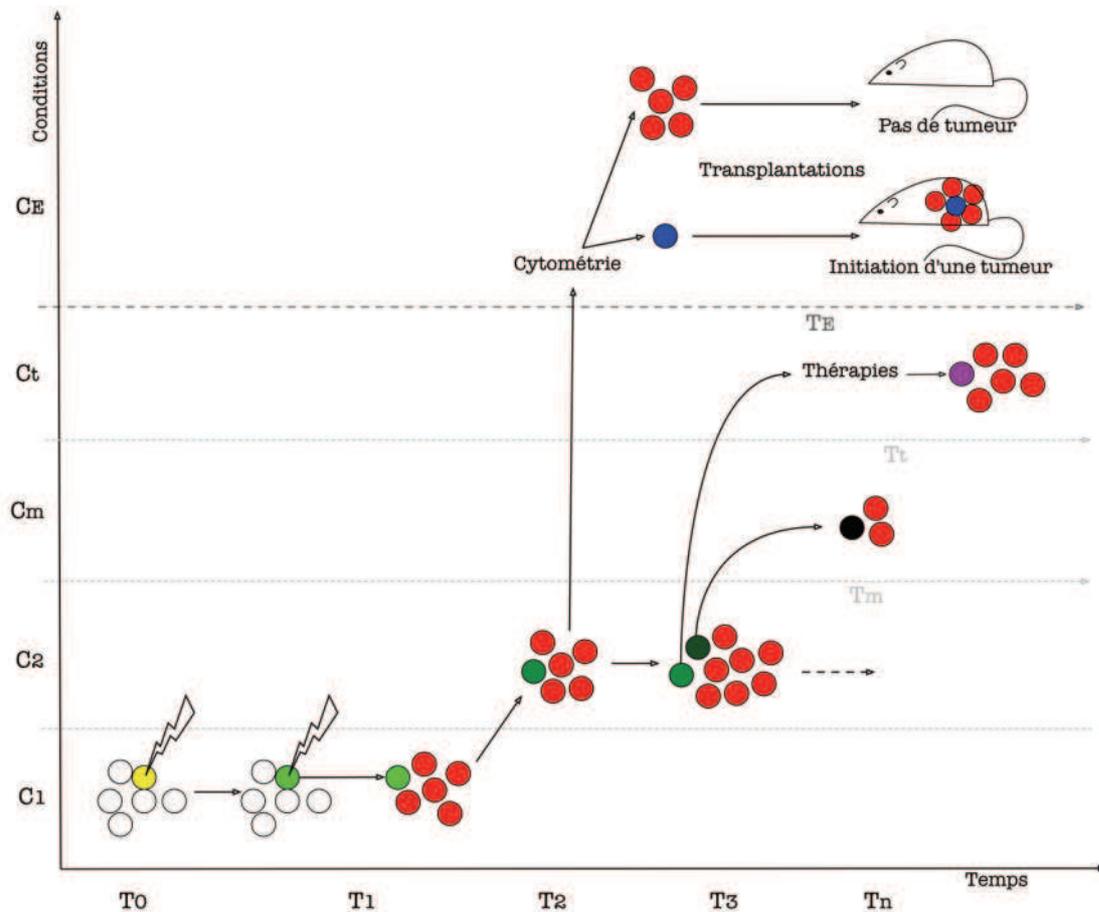


Figure 34. Evolution des cellules initiateurs et métastases. C_m : conditions métastatiques (changement de tissu ou d'organe). C_t : conditions pendant et à la suite de thérapies. C_E : conditions expérimentales. T_m : temps de la métastase. T_t : temps pendant et après thérapie. T_E : temps expérimental. Cellules blanches: cellules non-cancéreuses. Cellules rouges: cellules cancéreuses non-CSC. Cellules bleues: « cellules propagatrices de cancer », CSC selon la théorie des CSC. Cellules vertes: « cellules initiateurs de cancer », CSC selon la théorie des CSC. Les nuances de vert indiquent des modifications génétiques ou épigénétiques. Cellule jaune: « cellule pré-initiatrice ». Cellule noire: « CSC métastatique », CSC selon la théorie des CSC. Cellule violette: CSC après thérapies.

Le concept de CSC ne fait pas de distinction entre ces différents types de cellules qui toutes sont à l'origine (*Ursprung* et ou *Entstehung*) des cancers. Les critiques qui ont été développées à travers les débats d'appellation indiquent que l'objectif scientifique (et médical) doit être de faire disparaître les connaissances propres aux conditions environnementales et temporelles expérimentales au profit de connaissances sur les différentes populations de cellules impliquées dans l'origine-*Ursprung* et l'origine-*Entstehung* des cancers. Ces connaissances pourraient en retour confirmer ou infirmer l'existence de différences suffisamment significatives entre ces classes de cellules pour les distinguer entre elles ou s'il est possible de maintenir une notion globale de CSC.

5.1.4. Conclusions sur l'hétérogénéité des CSC

Les notions de cellules initiatrices, propagatrices, ou encore métastatiques, en éliminant la référence à l'identité souche (sens technique) portée par le concept de CSC, soulèvent un problème théorique important. En effet, *tous* les cancers sont *initiés* et *propagés* par des cellules. Ceci reste vrai, que la théorie des CSC soit vraie ou fausse. Par conséquent, comme l'ont fait remarquer Jane Visvader et Geoffrey Lindeman, les notions de cellules initiatrices/propagatrices ne peuvent pas, *stricto sensu*, être considérées comme des équivalents du concept de CSC⁴⁰¹ :

Le terme « initiatrice de tumeur » est généralement utilisé dans le domaine comme un terme opérationnel pour définir les cellules qui initient les tumeurs lors d'une transplantation mais ce n'est pas nécessairement un synonyme de CSC. Les tumeurs qui ne répondent pas au modèle des CSC contiennent aussi des cellules initiatrices de tumeurs mais celles-ci ne présentent pas de propriétés similaires aux cellules souches⁴⁰².

L'analyse des notions de cellules initiatrices/propagatrices met en relief trois traits du concept de CSC.

- 1) Le concept de CSC pourrait recouvrir une catégorie hétérogène de cellules.
- 2) La CSC et toutes les sous-catégories potentielles (cellules initiatrices, propagatrices, métastatiques) sont des cellules souches au sens métaphorique.
- 3) Le concept de CSC contient plus de sens que le seul sens métaphorique de cellule souche car il indique que seule une catégorie de cellule est susceptible de faire souche.

Ce dernier point reste problématique, et sera discuté dans les sections qui suivent.

5.2. Les CSC sont-elles des cellules souches ?

L'expression « *-like* » indique une similitude tout en refusant l'identité. Ainsi, l'expression « *cancer stem-like cell* » et ses dérivés refusent l'identité souche (au sens

⁴⁰¹ Contrairement à ce qui a pu être dit comme par exemple ici : Lee JT and Herlyn M (2007) « Old disease, new culprit: tumor stem cells in cancer ». *J Cell Physiol* 213(3): 603-609, en particulier p. 603 : « "tumor-initiating cell" has now become synonymous with cancer stem cell ».

⁴⁰² « The term "tumor-initiating" is generally used by the field as an operational term to define cells that initiate tumors upon transplantation but it is not necessarily synonymous with a CSC. Tumors that do not follow a CSC model also contain tumor-initiating cells but these do not exhibit stem cell-like properties ». Visvader JE and Lindeman GJ (2012) « Cancer stem cells: current status and evolving complexities » *Cell Stem Cell* 10(6): 717-728, ici p. 718-719.

technique) aux CSC tout en admettant que ces cellules possèdent un certain nombre de propriétés généralement attribuées aux cellules souches. Je traduirai « *cancer stem-like cell* » par « cellule cancéreuse semblable à une cellule souche » et « *stemness* » par « propriété souche »⁴⁰³. Cette expression a été soutenue suivant deux arguments distincts :

- 1) Les CSC ne proviennent pas nécessairement de cellules souches.
- 2) Les CSC ne sont pas des cellules souches.

La notion de « *stemloid* », que je translittérerai « stemloïde », répond à la même logique que l'expression *-like*. Elle a pour l'essentiel été suggérée pour marquer la différence entre les CSC et les cellules souches normales :

Le terme *stemloid* reconnaît des similitudes avec les vraies cellules souches, mais implique qu'elles sont en fait différentes⁴⁰⁴.

5.2.1. Les CSC sont-elles des cellules souches transformées ?

Lors du premier congrès international portant spécifiquement sur les CSC, en février 2006, les plus grands spécialistes du domaine s'étaient réunis dans l'objectif de discuter la théorie des CSC. Parmi les points les plus discutés figure l'expression *cancer stem cell*. Celle-ci était accusée d'induire en erreur sur l'origine des CSC⁴⁰⁵.

Le terme cellule souche cancéreuse a mené à quelques confusions. Beaucoup interprètent le terme cellule souche cancéreuse comme impliquant que ces cellules dérivent de cellules souches provenant des tissus correspondants. Les cellules souches cancéreuses peuvent en effet provenir de

⁴⁰³ Certains auteurs ont proposé « souchitude » comme traduction. Voir par exemple : Bourin P, Sensebé L, Charbord P (2004) « Les cellules souches mésenchymateuses (CSM) : données, controverses, perspectives ». *Hématologie* 6: 434-43.

La racine gauloise du mot souche interdit normalement l'usage d'un tel suffixe. Notons toutefois que l'expression anglaise *stemness* est elle-même incorrecte car le suffix *ness* s'applique normalement aux noms alors que *stem* est un adjectif.

Nous avons montré ailleurs que l'absence de racine latine de l'anglais *stem* se reflète à travers la différence entre les langues latines (le français, l'italien et l'espagnol) qui font allusion, respectivement, à la cellule souche, la *cellula staminale* et la *célula madre*. Voir : Laplane L (2009) « Cellule souche cancéreuse : réflexions épistémologiques », *Sociétés* 3(105) : 45-55, en particulier p. 53.

⁴⁰⁴ « The term stemloid acknowledges some similarities with real stem cells but implies that they are in fact different ». Maenhaut C, Dumont JE, Roger PP and van Staveren WC (2010) « Cancer stem cells: a reality, a myth, a fuzzy concept or a misnomer? An analysis ». *Carcinogenesis* 31(2): 149-158.

⁴⁰⁵ Clarke MF, Dick JE, Dirks PB, Eaves CJ, Jamieson CH, Jones DL, Visvader J, Weissman IL and Wahl GM (2006) « Cancer stem cells--perspectives on current status and future directions: AACR Workshop on cancer stem cells ». *Cancer Res* 66(19): 9339-9344.
Pour plus d'informations sur ce congrès, voir les chapitre 1 et 2.

cellules souches normales par des mutations dans les gènes qui rendent les cellules souches cancéreuses, mais ceci peut ne pas être le cas dans toutes les tumeurs⁴⁰⁶.

Si la théorie des CSC s'est construite comme une réponse unique aux deux questions de l'origine (*Ursprung* et *Entstehung*, voir section 5.1), un certain nombre de travaux ont rouvert la question de l'origine-*Ursprung* des CSC dans les cellules souches au cours du XXI^e. Certains partisans de la théorie des CSC, comme Shi-Ming Tu, vont jusqu'à considérer « l'origine des cancers dans une cellule souche comme un mythe »⁴⁰⁷.

Dès 1995, l'équipe française de B Varet avait montré qu'un sous-type de leucémies aiguës myéloïdes prenait son origine dans la transformation de cellules non-souches⁴⁰⁸. Mais le doute est surtout venu des tentatives de modélisations murines des leucémies. Avec le développement des technologies de transgénèse⁴⁰⁹ et « d'invalidation génétique » (*Knock-Out*)⁴¹⁰ et avec l'accumulation des connaissances sur les mutations génétiques impliquées dans les cancers, les biologistes ont pu produire des modèles murins de maladies humaines, notamment de leucémies. Or, pour mimer les leucémies myéloïdes, les mutations ont été induites dans les cellules engagées dans la voie de différenciation myéloïde. L'émergence de leucémies myéloïdes à partir de ces mutations prouve que ces cancers peuvent prendre origine dans des progéniteurs engagés, voire dans des cellules matures telles que les neutrophiles et les monocytes, d'après certaines expériences⁴¹¹. L'origine des cancers dans

⁴⁰⁶ « The term cancer stem cell has led to some confusion. Many interpret the term cancer stem cell to mean that such cells derive from the stem cells of the corresponding tissue. Cancer stem cells may indeed arise from normal stem cells by mutation of genes that make the stem cells cancerous, but this may not be the case in all tumors. » Clarke MF, Dick JE, Dirks PB, Eaves CJ, Jamieson CH, Jones DL, Visvader J, Weissman IL and Wahl GM (2006) « Cancer stem cells--perspectives on current status and future directions: AACR Workshop on cancer stem cells » *Cancer Res* 66(19): 9339-9344, ici p. 9340.

⁴⁰⁷ « In a strict sense, any assertion that cancer arises from stem cells is misguided: After all, it is doubtful that cancer originates from actual stem cells, which by nature are dormant. We need to remember that by being dormant, real stem cells do not undergo self-renewal or differentiation. It is therefore hard to imagine that cancer can arise from such immutable cells. Hence, we consider a stem-cell origin of cancer to be a myth. » Tu S-M (2010) *Origin of Cancers. Clinical Perspectives and Implications of a Stem-Cell Theory of Cancer*. New York: Springer, p. 8.

⁴⁰⁸ Turhan AG, Lemoine FM, Debert C, Bonnet ML, Baillou C, Picard F, Macintyre EA and Varet B (1995) « Highly purified primitive hematopoietic stem cells are PML-RARA negative and generate nonclonal progenitors in acute promyelocytic leukemia ». *Blood* 85(8): 2154-2161.

⁴⁰⁹ La transgénèse est l'introduction d'un ou plusieurs gènes dans des cellules.

⁴¹⁰ L'invalidation génétique, ou *Knock-Out* en anglais, est une technique de transgénèse qui permet de rendre un gène inopérant.

⁴¹¹ Pour des revues de la littérature voir : Passegue E, Jamieson CH, Ailles LE and Weissman IL (2003) « Normal and leukemic hematopoiesis: are leukemias a stem cell disorder or a reacquisition of stem cell characteristics? » *Proc Natl Acad Sci U S A* 100 Suppl 1: 11842-11849 et Gerby B (2010) *Identification des cellules initiant les LAL-T humaines dans les souris immunodéficientes et étude de la modulation de l'expression de l'oncogène SCL/TAL1 sur le*

des cellules souches ne semble donc pas *nécessaire*. Par ailleurs, l'équipe de Gary Gilliland a montré en 2004 que certains oncogènes leucémiques « peuvent conférer les propriétés des cellules souches leucémiques à des progéniteurs hématopoïétiques destinés à la mort cellulaire par apoptose »⁴¹².

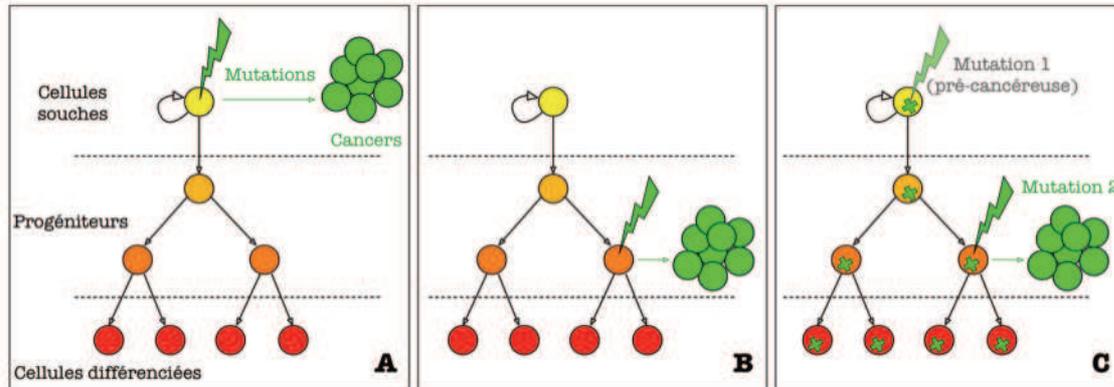


Figure 35. Hypothèses concernant l'origine des cancers. A : hypothèse de l'origine dans les cellules souches. B : hypothèse de l'origine dans les cellules non-souches. C : hypothèse de l'origine dans des cellules non-souches après accumulation de mutations dans une cellule souche et ses descendantes.

La littérature scientifique sur les CSC est traversée, entre 2003 et 2008, d'échanges d'arguments en faveur ou contre l'origine des CSC dans les cellules souches. Parmi les arguments pour (Figure 35 A), on trouve essentiellement :

- 1) *La durée de vie des cellules souches* : les cellules souches sont les cellules de l'organisme qui ont la durée de vie la plus longue⁴¹³. Or, les cancers résultent de l'accumulation de mutations dans une cellule. Par conséquent, plus la durée de vie d'une cellule est longue plus le risque d'accumuler l'ensemble des mutations est élevé⁴¹⁴.
- 2) *La capacité d'auto-renouvellement des cellules souches* : Les cellules souches sont déjà dotées de la capacité d'auto-renouvellement qui est une des caractéristiques majeures des CSC. Par conséquent l'hypothèse de l'origine des CSC dans les cellules souches

développement leucémique. Thèse de doctorat en biologie cellulaire et moléculaire, Université Paris 7, Paris, en particulier pp. 60-61.

⁴¹² Huntly BJ, Shigematsu H, Deguchi K, Lee BH, Mizuno S, Duclos N, Rowan R, Amaral S, Curley D, Williams IR, Akashi K and Gilliland DG (2004) « MOZ-TIF2, but not BCR-ABL, confers properties of leukemic stem cells to committed murine hematopoietic progenitors ». *Cancer Cell* 6(6): 587-596.

Voir aussi : Cozzio A, Passegue E, Ayton PM, Karsunky H, Cleary ML and Weissman IL (2003) « Similar MLL-associated leukemias arising from self-renewing stem cells and short-lived myeloid progenitors ». *Genes Dev* 17(24): 3029-3035.

⁴¹³ A ce sujet, on peut se reporter à l'article : Lansdorp P (1997) « Self-Renewal of Stem Cells. » *Biol Blood Marrow Transplant* 3: 171-78.

⁴¹⁴ Pardal R, Clarke MF and Morrison SJ (2003) « Applying the principles of stem-cell biology to cancer ». *Nat Rev Cancer* 3(12): 895-902 ; Dalerba P, Cho RW, and Clarke MF (2007) « Cancer Stem Cells: Models and Concepts. » *Annu. Rev. Med* 58: 267-84.

normales est plus économique en termes de mutations que l'hypothèse d'une origine dans des cellules qui devraient réactiver la machinerie d'autoréplication⁴¹⁵.

- 3) *La similitude des cellules souches normales et cancéreuses* : les cellules souches normales et cancéreuses présentent les mêmes marqueurs de surfaces (par exemple CD34⁺CD38⁻ pour les cellules souches hématopoïétiques et leucémiques)⁴¹⁶, une quantité de télomérase similaire⁴¹⁷.

On peut aussi mentionner la présence d'un argument additionnel de nature sensiblement différente : l'observation du développement massif de cancers du sein chez des femmes qui étaient adolescentes lorsqu'elles furent exposées aux irradiations provoquées par le largage des bombes atomiques sur Nagasaki et Hiroshima. Comme l'adolescence est considérée comme la période du développement mammaire où les cellules souches sont présentes en grande quantité, certains biologistes en ont déduit que les cellules souches étaient les cibles des transformations cancéreuses⁴¹⁸.

Parmi les arguments en faveur d'une origine dans des cellules non-souches (Figure 35B), on trouve :

- 1) *Les modèles animaux des leucémies* : certaines expériences montrent que les mutations cancéreuses peuvent avoir lieu dans des cellules non-souches et produire des cancers tout à fait similaires à ceux prenant leur origine dans des cellules souches (cf ci-dessus).
- 2) *la faible quantité de cellules souches* : Les cellules souches représentent une proportion infime sur l'ensemble des cellules d'un organe. Par conséquent, c'est une cible très petite pour les mutations cancéreuses. La probabilité que des cellules souches se transforment en CSC ne correspondrait pas à la probabilité de développer un cancer⁴¹⁹.

⁴¹⁵ Passegue E, Jamieson CH, Ailles LE and Weissman IL (2003) « Normal and leukemic hematopoiesis: are leukemias a stem cell disorder or a reacquisition of stem cell characteristics? ». *Proc Natl Acad Sci USA* 100 Suppl 1: 11842-11849.

⁴¹⁶ Wang JC and Dick JE (2005) « Cancer stem cells: lessons from leukemia ». *Trends Cell Biol* 15(9): 494-501.

⁴¹⁷ Huntly BJ and Gilliland DG (2005) « Leukaemia stem cells and the evolution of cancer-stem-cell research ». *Nat Rev Cancer* 5(4): 311-321.

La télomérase est une enzyme qui permet de conserver la longueur des chromosomes en synthétisant du télomère (des séquences hautement répétitive d'ADN non-codant situées aux extrémités des chromosomes).

⁴¹⁸ Wicha MS, Liu S and Dontu G (2006) « Cancer stem cells: an old idea--a paradigm shift ». *Cancer Res* 66(4): 1883-1890; discussion 1895-1886.

⁴¹⁹ Rapp UR, Ceteci F and Schreck R (2008) « Oncogene-induced plasticity and cancer stem cells ». *Cell Cycle* 7(1): 45-51.

- 3) *Les adaptations acquises par les cellules souches* : les cellules souches disposent de mécanismes de défense contre les mutations qui sont plus efficaces que dans les cellules non-souches. Ce phénomène, classiquement expliqué comme une adaptation, implique que la transformation cancéreuse des cellules souches est moins probable que celle des cellules non-souches⁴²⁰.
- 4) *L'accumulation des mutations au cours des générations cellulaires* (Figure 35 C) : le modèle initiation-promotion (cf. section 5.1.2) et, plus généralement, l'idée que les cancers sont produits par une accumulation de mutations rend possible l'idée qu'une première mutation pourrait se produire dans une cellule souche et les suivantes dans ses cellules filles, toujours porteuses de la première mutation⁴²¹.

Ces débats ont abouti à un consensus sur l'indépendance du concept et de la théorie des CSC par rapport à la cellule d'origine⁴²². Il est possible et même probable que les origines varient en fonction des cancers, mais, quoiqu'il en soit, cela n'affecte ni la définition des CSC ni le rôle fonctionnel qui leur est attribué dans la théorie des CSC. Pourtant, si les CSC peuvent provenir de cellules non-souches, la question se pose alors de leur identité « souche ». Leurs propriétés d'auto-renouvellement et de différenciation sont-elles suffisantes pour considérer que les CSC sont des cellules souches ?

5.2.2. Interrogation sur la propriété souche des CSC

La suggestion d'appeler les CSC « cellules cancéreuses semblables à des cellules souches » ou « stemloïdes » n'est pas seulement portée par l'intention de clarifier la question de l'origine des CSC. Elle indique aussi une volonté de distinguer l'apparence de la réalité. Ce faisant, c'est en fait la propriété souche qui se trouve interrogée. Là où les biologistes s'interrogent sur la légitimité de l'attribution de la propriété souche aux CSC, je voudrais interroger cette propriété elle-même et la façon dont elle définit la catégorie de cellule souche.

⁴²⁰ Wang JC and Dick JE (2005) « Cancer stem cells: lessons from leukemia ». *Trends Cell Biol* 15(9): 494-501.

⁴²¹ Polyak K and Hahn WC (2006) « Roots and stems: stem cells in cancer ». *Nat Med* 12(3): 296-300.

⁴²² Voir Clarke MF, Dick JE, Dirks PB, Eaves CJ, Jamieson CH, Jones DL, Visvader J, Weissman IL and Wahl GM (2006) « Cancer stem cells--perspectives on current status and future directions: AACR Workshop on cancer stem cells ». *Cancer Res* 66(19): 9339-9344; Dick JE (2008) « Stem cell concepts renew cancer research ». *Blood* 112(13): 4793-4807; Vermeulen L, Sprick MR, Kemper K, Stassi G and Medema JP (2008) « Cancer stem cells--old concepts, new insights ». *Cell Death Differ* 15(6): 947-958.

La remise en question de la propriété souche des CSC peut apparaître surprenante à plusieurs titres. Premièrement, les chapitres historiques ont montré que la propriété souche des CSC était soutenue par des preuves empiriques tout à fait similaires aux cellules souches non-cancéreuses. Les systèmes expérimentaux permettant l'identification des cellules souches cancéreuses et non-cancéreuses sont les mêmes. Deuxièmement, la théorie des CSC est structurée, dans ses explications et prédictions, autour de deux propriétés attribuées au CSC : la capacité d'auto-renouvellement à long-terme et la capacité à reproduire les tissus d'origine dans toute leur hétérogénéité. Or, ces deux caractéristiques sont précisément celles qui constituent ce que l'on appelle la propriété souche (*stemness*) qui définit les cellules souches. Pourquoi, donc, douter de l'appartenance des CSC à la catégorie des cellules souches ?

Ailleurs, j'ai évoqué le risque de confusion entre la propriété « souche » et les caractéristiques générales des « cellules souches normales »⁴²³. En effet, les cellules souches cancéreuses ne sont pas des cellules souches normales. Leur différenciation est partielle, produit des cellules non-fonctionnelles. Elles sont instables, sujettes aux mutations. Elles évoluent dans un microenvironnement pathologique et n'entretiennent pas les mêmes relations avec leur environnement que les cellules souches normales. Ajoutons à cela le fait que les CSC provenant de progéniteurs peuvent conserver une « signature moléculaire » proche des progéniteurs d'origine en plus de l'activation de la signature liée à l'auto-renouvellement⁴²⁴.

L'attribution des propriétés d'auto-renouvellement et de différenciation devrait, quelles que soient les différences, par ailleurs, résulter en l'attribution de la propriété souche aux CSC. Le fait que ce ne soit pas le cas suscite une interrogation sur le lien entre cellule souche et capacités d'auto-renouvellement et de (multi-)différenciation, une question qui s'était déjà posée lors de l'analyse des conflits entre le modèle de système auto-entretenu et le modèle des cellules souches, d'une part, et entre le modèle stochastique et le modèle hiérarchique (celui de la théorie des CSC), d'autre part (voir chapitre3, section 3.2).

⁴²³ Laplane L (2008) « 'cancer stem cell' : un concept, des hypothèses », *mémoire de master 2*, Université Paris 7, Denis Diderot, Paris.

⁴²⁴ LSC « possessed an immunophenotype and global gene expression profile very similar to that of normal granulocyte macrophage progenitors. However, a subset of genes highly expressed in normal haematopoietic stem cells was re-activated in LSC. LSC can thus be generated from committed progenitors without widespread reprogramming of gene expression, and a leukaemia self-renewal-associated signature is activated in the process. » Krivtsov AV, Twomey D, Feng Z, Stubbs MC, Wang Y, Faber J, Levine JE, Wang J, Hahn WC, Gilliland DG, Golub TR and Armstrong SA (2006) « Transformation from committed progenitor to leukaemia stem cell initiated by MLL-AF9 » *Nature* 442(7104): 818-822.

5.3. Conclusion

Les chapitres 3 et 4 ont mis en lumière la multiplicité des trajectoires qui ont contribué à l'émergence de la théorie des CSC, autour de l'hypothèse générale de l'origine des cancers dans et par des cellules souches. Le chapitre 5 montre que l'hétérogénéité de ces trajectoires est constitutive de la théorie des CSC. Il en résulte de nombreuses questions concernant ces cellules. Les cellules auxquelles fait référence le concept de CSC semble hétérogène. En effet, les facteurs liés aux conditions développementales et au temps induisent très probablement des différences dans les propriétés phénotypiques et fonctionnelles de cellules. Ces différences sont importantes, à la fois pour la biologie du cancer et pour le développement de thérapie (elles seront examinées aux chapitre 7 et chapitre 8). Par ailleurs, la notion de cellule souche semble elle-même beaucoup plus ambiguë que sa définition traditionnelle (auto-renouvellement et différenciation) ne le laisse paraître. Je me suis opposée à la lecture historique selon laquelle la notion de cellule souche aurait muté d'un sens métaphorique (position généalogique souche) vers un sens technique (type cellulaire défini par les propriétés d'auto-renouvellement et de différenciation). Au contraire, j'ai voulu montrer que les deux sens ont toujours été et sont toujours présents et entremêlés. La définition minimale des cellules souches proposée par Melinda Fagan atteste de la présence des sens métaphorique et technique de cellule souche (voir Figure 36).

Pour une lignée cellulaire L , un ensemble de caractères C et un intervalle temporel T , une cellule souche a un potentiel d'auto-renouvellement et de différenciation maximal. Ainsi définie, une cellule souche est relationnelle ; c'est la souche unique d'une lignée cellulaire⁴²⁵.

Qu'est-ce donc qu'une cellule souche ? Voilà la question qui fera l'objet du prochain chapitre.

⁴²⁵ « Given a cell lineage L , set of characters C , and over time interval T , a stem cell has maximal self-renewal and differentiation potential. So defined, a stem cell is relational; the unique stem of a cell lineage. » Tiré du manuscrit de Fagan M (2013) *Philosophy of Stem Cell Biology. Knowledge in Flesh and Blood*. London: Palgrave-Macmillan.

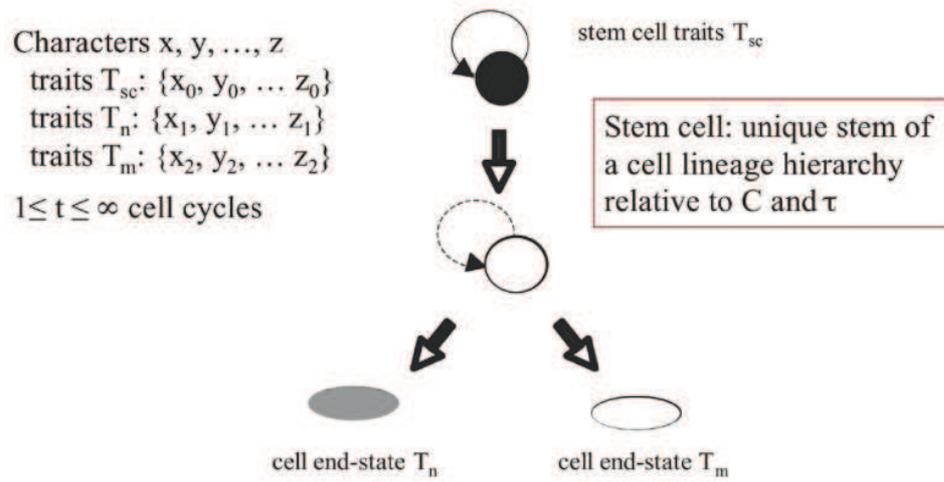


Figure 36. Définition minimale des cellules souches de Melinda Fagan (2013)⁴²⁶.

⁴²⁶ Il s'agit de la version du manuscrit de Fagan M (2013) *Philosophy of Stem Cell Biology: Knowledge in Flesh and Blood*. London: Palgrave-Macmillan, utilisé avec la permission de l'auteur. Cette figure correspond à la Figure 2.7, p. 28 du livre.

5.4. *English summary*

Part II has opened some questions about the notion of stem cell: to what cells does it refer? Are all the cell capable of self-renewal and differentiation necessarily stem cells? Are those properties individual or collective? Chapter 5 emphasizes the multiple possible CSCs references, and the subsequent ambiguity of the concept, through an analysis of the vocabulary. This methodology has been inspired by the work of Thierry Hoquet on the *Origin of Species*. In a book and a couple of articles (see note 360), he used the difficulties encountered by different European translators of Darwin's book to reveal the ambiguity of the term "origin". Germans, in particular, have to choose between two translations « *Ursprung* » or « *Entstehung* ». *Ursprung* designates the primitive source (origin in), whereas *Entstehung* designates the process of origination (origin from). The same diffraction is possible about the hypothesis of the stem cell origin of cancers. What is the *Ursprung* of cancers and what is their *Entstehung*? Historically, chapters 3 and 4 have shown that these two questions were not separated (except for Leroy Stevens, maybe). Embryonic rests, connective tissue cells, germ cells and stem cells were both the *Ursprung* and the *Entstehung* of cancers.

The phrase "cancer stem cell" has been discussed and controverted over the past decade. Two alternative phrases have been suggested: cancer initiating or propagating cell and cancer stem-like or stemloid cell.

The phrase "cancer initiating cell" puts the emphasis on the function of the cell rather on its identity. This expression is claimed to more directly reflect the data and observations obtained in the laboratory, and contrasted to the allegedly too abstract phrase "cancer stem cell". This alternative denomination provides valuable information about the concept of CSC. In particular, it reflects the prevalence of the metaphoric sense of the expression CSC.

On the other hand, the phrase "cancer initiating cell" has been criticized for its lack of distinction between the cells that initiate cancer at time T_1 in conditions C_1 and the cells doing so at time T_n in conditions C_n . Laboratory experiments on cancer cells are temporally situated. While in the laboratory, isolated initiating cells are at T_1 with regard to the cancers they initiate in experimental conditions C_E , they are at T_n with regard to the cancers from which they have been extracted. There is no proof that the state of the cells at T_1 of the initial cancers and at T_1 of the experimental cancer (the graft) are identical. The laboratory

initiating cells have been isolated, marked, sorted and transplanted in a specific biological environment, and the experimental conditions seem to have an impact on the so-called “cancer initiating cells”. In particular, model organisms play a major role. Changing mice dramatically changes the population of cells that are identified as being able to initiate a cancer. The fluorescent antibodies used to sort out the cells can also impact the result, as some of them may be immunogenic. Each step of the experimental protocol can dramatically affect the result of the experiment and, subsequently, lead to the identification of different kinds of cells as the “cancer initiating cells”. Consequently, the cells initiating cancers in laboratory experiments should be carefully distinguished from the cells initiating cancer in ‘natural’ developmental contexts (see Figure 31).

The denomination “cancer propagating cell” has been put forward to overcome this dual references: the “cancer initiating cells” would refer to the cells initiating cancer in ‘natural’ conditions, whereas, the phrase “cancer propagating cells” would refer to the cells isolated in laboratory. Although this is a valuable distinction, it is, however, a source of additional confusions. Indeed, the notion of initiation is standardly coupled with the notion of promotion in oncology: initiation refers to the precancerous mutations and promotion to the final transformation of pre-cancerous cell to a cancerous state. For instance, Tariq Enver and Mel Greaves’ research group, has used the distinction between “cancer initiating cells” and “cancer propagating cells” to refer to pre-cancerous and cancerous cells, respectively. This use valuably indicates the need for a new distinction between pre-cancerous cells of origin in time T_0 and cancerous cells of origin in time T_1 (see Figure 32).

A last round of distinctions must be done to take into account the changing conditions of the CSCs of a given cancer. Indeed, based on the observation of chromosomal and genetic instability in cancer cells, the clonal evolution model claims that subpopulations of cancer cells are evolving, creating intratumoral heterogeneity. Recently, a number of biologists have argued that the CSCs were also subject to clonal evolution (see Figure 33). This evolution could even account for the acquisition of new properties, in particular the ability to produce metastases (see Figure 34).

Two major points result from this comparison of the denominations “cancer initiating cells” and “cancer propagating cells”:

- 1) The concept of CSC might hide heterogeneous cells.
- 2) CSCs (however heterogeneous they are) are stem cells in the metaphoric sense.

The question whether CSCs are stem cells in the technical sense is still open.

The denomination “cancer stem-like cells” and “stemloid cells” indicate similarity but no identity between CSC and stem cells. Two considerations have led to the use of these alternative denominations:

- 1) CSCs do not necessarily come from stem cells
- 2) CSCs are not stem cells.

A debate has opposed CSCs’ biologists over the question of the origin of CSCs, between 2003 and 2008. When the CSC theory emerged, CSCs were considered as mutated stem cells (see the historical chapters, origin as *Ursprung* was not distinguished from origin as *Entstehung*). But accumulating data have finally led to a consensus that the CSC could come from stem cells or non-stem cells and that the CSC theory was neutral on this question.

More complicated is the argument leading to the view that CSCs are not true stem cells. CSCs are usually defined by two properties: ability to long-term self-renew and ability to differentiate (i.e. to give rise to heterogeneous populations of cells). If the “abilities to self-renew and differentiate” are the attributes defining the nature of stem cells, then CSCs should be defined as stem cells. The objections against this view raise doubts about the notion of stem cell in general. Thus, chapter 6 will examine the very notion of stem cell.

CHAPITRE 6. Ontologie des cellules souches

Les chapitres 3 à 5 ont conduit à interroger la notion de cellule souche cancéreuse et en particulier l'identité souche de ces cellules. Ce chapitre discute spécifiquement la question de l'identité souche de tous les types de cellules souches et montre que le statut ontologique de la catégorie souche fait l'objet de débats. En effet, l'idée que l'identité souche décrit une catégorie naturelle de cellules, c'est-à-dire une « espèce naturelle »⁴²⁷, est régulièrement remise en question depuis les années 1990. Ce chapitre a pour objectif de rassembler et d'exposer les diverses remises en questions produites par les biologistes eux-mêmes, à partir de l'acquisition de certaines données. Certaines de ces données peuvent dater et être sujettes à débat. Cette difficulté sera corrigée dans la partie IV, où l'analyse des cellules souches sera fondée exclusivement sur des données plus récentes.

La définition des cellules souches a rencontré diverses difficultés. Les cellules souches et non-souches résistent à toutes distinctions par une définition classique, de type aristotélicienne, en termes de propriétés nécessaires et suffisantes (section 6.1). Je montrerai que cette résistance n'est pas nécessairement l'indice d'une absence de catégorie naturelle de cellules souches. D'autres types de définitions telles que les définitions par « grappe de propriétés homéostatiques » (section 6.1.1) ou les « définitions binominales » (section 6.1.2) peuvent résoudre cette difficulté. La question de l'existence d'une espèce naturelle 'cellule souche' est néanmoins bien posée.

L'échec des tentatives d'identification d'une signature moléculaire des cellules souches, au début des années 2000, a mené certains biologistes à s'interroger sur l'existence d'une catégorie naturelle contenant toutes les cellules souches (section 6.2).

Enfin, les dogmes centraux du modèle hiérarchique développemental de la différenciation ont tous été interrogés suite au développement des techniques de clonage (section 6.3.1) et de production de cellules souches pluripotentes induites (section 6.3.2), aux recherches portant sur la régénération (section 6.3.3) et sur la niche cellulaire (section 6.3.4), ainsi qu'à l'accumulation de données concernant les phénomènes de transdifférenciation, métaplasie et plasticité cellulaires (section 6.3.5). J'ouvrirai ensuite la

⁴²⁷ Une espèce naturelle (*natural kind*, en anglais) fait référence à un groupement naturel par opposition à un groupement artificiel. Voir Bird A and Tobin E (2012) « Natural Kind », in Zalta EN (ed) *The Stanford Encyclopedia of Philosophy*. URL = <http://plato.stanford.edu/archives/win2012/entries/natural-kinds/>.

question du « nomadisme taxinomique » et ses implications pour la notion d'espèce naturelle à propos des cellules capables de se différencier sans se diviser (section 6.3.6).

6.1. Définition des cellules souches

La définition classique des cellules souches stipule que toute cellule souche est définie par sa capacité à s'auto-renouveler et à se différencier. Ces deux propriétés sont plus précisément définies comme ceci : l'auto-renouvellement est la capacité d'une cellule à produire au moins une cellule fille identique à elle-même (Figure 37 A et C) et la différenciation est la capacité à produire au moins une cellule plus engagée dans la différenciation (Figure 37 B et C).

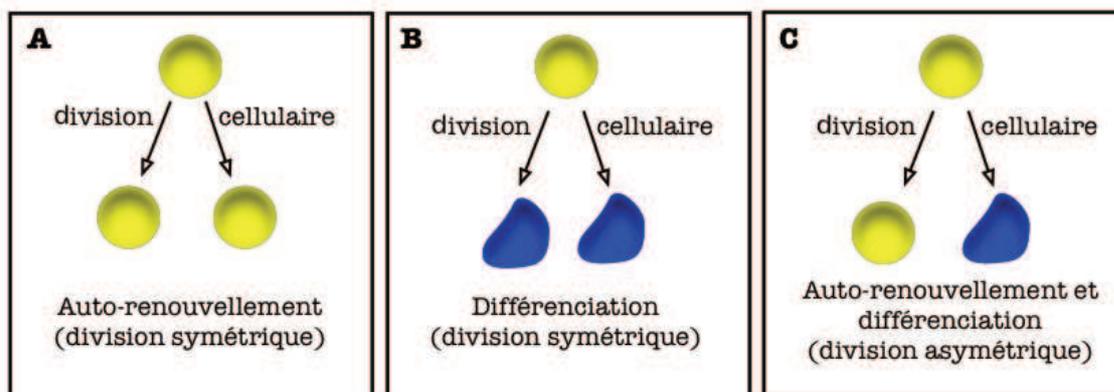


Figure 37. Définition classique des cellules souches par les capacités d'auto-renouvellement et de différenciation. Les cellules souches sont représentées en jaunes, les cellules non-souches en bleues.

L'histoire de la découverte des cellules souches hématopoïétiques (voir chapitre 3) a mené à des définitions plus précises de ces deux concepts. En effet, cette histoire est celle de la quête d'une population purifiée et homogène. Or, cette purification a mis en évidence l'existence d'une véritable hiérarchie développementale de cellules hématopoïétiques au sein de laquelle des progéniteurs, parfois appelés « cellules amplificatrices transitoires », peuvent également s'auto-renouveler et se différencier, quoique dans une moindre mesure (voir Figure 38). Ainsi, la distinction des cellules souches hématopoïétiques de ces progéniteurs mena à préciser les notions d'auto-renouvellement et de différenciation comme suit :

- Les cellules souches sont capables d'auto-renouvellement à long-terme (représenté par une flèche noire circulaire sur la Figure 38). La notion d'auto-renouvellement est, en un sens, un abus de langage. En effet, les cellules ne s'auto-renouvellent jamais, au sens où deux cellules ne sont jamais identiques. A ce sujet, Melinda

Fagan a apporté une précision importante : « L'identité et la différence entre les cellules sont relatives à des ensembles de caractères, tels que la taille, la forme et la concentration de molécules particulières. A un instant donné, chaque cellule a une valeur particulière pour un caractère donné et c'est la comparaison entre ces valeurs qui détermine l'identité ou la différence dans chaque cas particulier »⁴²⁸. Ce que l'on doit entendre par long-terme reste relativement peu précis : hypothétiquement indéfiniment, probablement sur la durée de vie de l'organisme. Les techniques actuelles d'analyse de l'auto-renouvellement génèrent ce qui est régulièrement appelé « le principe d'incertitude » (en référence au physicien Heisenberg)⁴²⁹ : l'observation indirecte de cette propriété nécessite la division des cellules et, ce faisant, la disparition de la cellule d'origine à laquelle on attribue la capacité d'auto-renouvellement. Il y a cependant un accord méthodologique reproductible quand à la démonstration de l'auto-renouvellement à long-terme : la production de transplantations sérielles⁴³⁰. Une cellule est considérée capable d'auto-renouvellement à long-terme si elle peut soutenir le développement de son tissu sur au moins deux générations de transplantations dans des souris⁴³¹.

- Les cellules souches sont capables de se différencier en *plusieurs* types cellulaires. Elles sont multipotentes, pluripotentes ou totipotentes :

⁴²⁸ « Sameness and difference of cells is relative to some set of characters, such as size, shape, and concentration of a particular molecule. At a given time each cell has some value for a given character, and it is comparisons among these values (which I shall also refer to as *traits*) that determine sameness or difference in any particular case. Fagan M (2013) *Philosophy of Stem Cell Biology. Knowledge in Flesh and Blood*. London: Palgrave-Macmillan (ici, p. 21). En conséquence, Melinda propose la définition suivante de l'auto-renouvellement : « (SR1) Self-renewal occurs within cell lineage L relative to a set of characters C for duration T, if and only if offspring cells have the same values for those characters as the parent cell(s) » (voir p. 22).

⁴²⁹ Loeffler M and Roeder I (2002) « Tissue stem cells: definition, plasticity, heterogeneity, self-organization and models--a conceptual approach » *Cells Tissues Organs* 171(1): 8-26 ; Seaberg RM and van der Kooy D (2003) « Stem and progenitor cells: the premature desertion of rigorous definitions » *Trends Neurosci* 26(3): 125-131 ; Tu S-M (2010) *Origin of cancers. Clinical perspectives and implications of a stem-cell theory of cancer*. New York, Dordrecht, Heidelberg, London: Springer, p. 53 ; Fagan M (2013) *Philosophy of Stem Cell Biology. Knowledge in Flesh and Blood*. London: Palgrave-Macmillan, section 3.5

⁴³⁰ Les transplantations sérielles sont des transplantations successives dans plusieurs souris (au moins deux).

⁴³¹ Notons que les transplantations de cellules impliquent des populations de cellules et non une cellule unique. De plus les cellules re-transplantées ne sont probablement pas les cellules ayant généré la première greffe. Cependant, la capacité de produire plusieurs générations de greffe indique que le stock de cellules souches s'est maintenu. Il en est conclu que les cellules souches se sont auto-renouvelées. Il est notable que cette conclusion dépend directement du présupposé selon lequel une cellule souche provient toujours d'une cellule souche.

- Les cellules souches multipotentes sont capables de donner tous les types cellulaires caractéristiques de leur tissu d'appartenance, on parle d'ailleurs de cellules souches tissus-spécifiques. Ainsi, les cellules souches hématopoïétiques sont capables de se différencier en tous les types cellulaires constitutifs du système hématopoïétique (Figure 38).
- Les cellules souches pluripotentes sont capables de produire tous les types cellulaires de l'organisme mais pas les cellules des tissus extra-embryonnaires (tels que le placenta, le sac vitellin et les tissus de soutien).
- Les cellules souches totipotentes sont capables de produire tous les types cellulaires y compris ceux des tissus extra-embryonnaires⁴³².

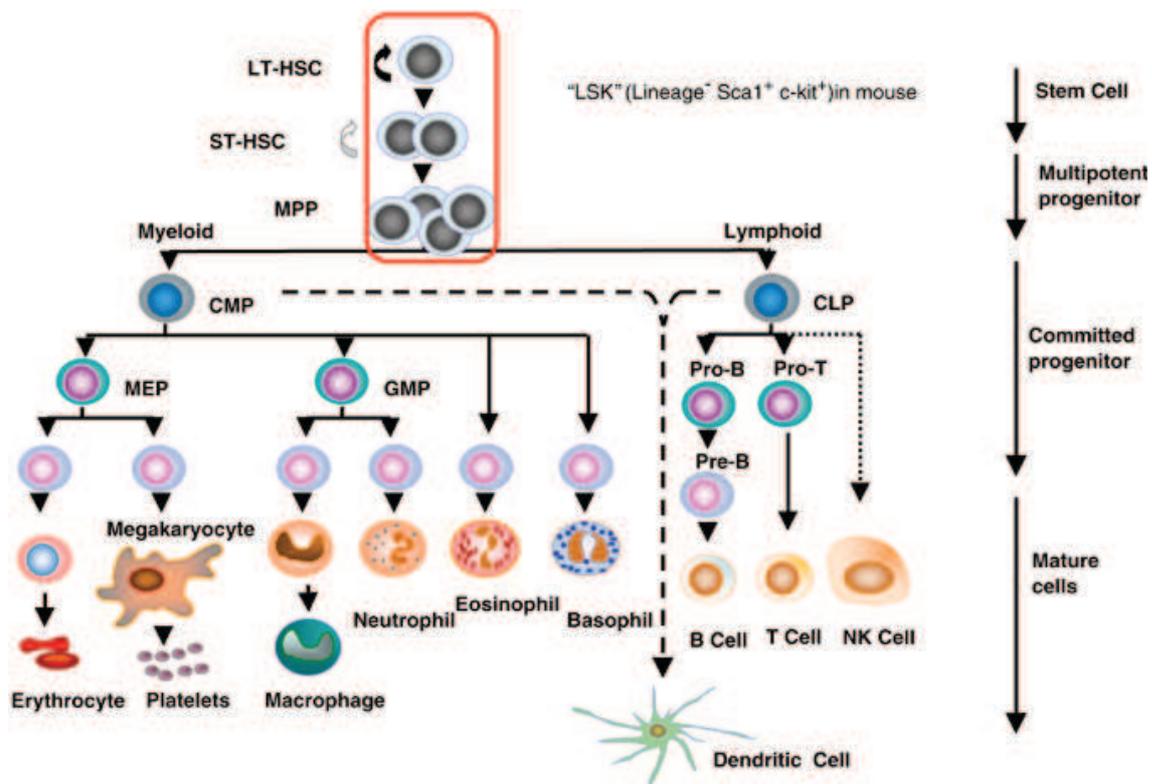


Figure 38. Représentation des cellules souches hématopoïétiques au sein du système hématopoïétique, Larsson & Karlsson (2005)⁴³³.

⁴³² Notons que la distinction entre les cellules souches totipotentes et pluripotentes s'est faite récemment et a été motivée par des raisons extra-scientifiques, à savoir les débats sur les cellules souches embryonnaires (cellules ES). La catégorie des cellules souches pluripotentes est destinée à décrire les cellules ES, isolées en laboratoire à partir de la masse interne des embryons au stade blastocyste. Sa distinction des cellules souches totipotentes permet d'asseoir le fait qu'aucun organisme ne pourra se développer à partir de ces cellules. Voir à ce sujet : Hauskeller C (2005) « Science in touch: functions of biomedical terminology » *Biology and Philosophy* 20: 815-835.

Par ailleurs, la distinction entre les cellules souches totipotentes et pluripotentes ne s'applique qu'aux espèces dont le développement nécessite la production d'annexes extra-embryonnaires.

Les distinctions entre les cellules souches hématopoïétiques et leurs progéniteurs ont également abouti à l'ajout de plusieurs caractéristiques supplémentaires :

- Les cellules souches sont quiescentes, c'est-à-dire qu'elles sont généralement hors du cycle cellulaire⁴³⁴ et ne se divisent que rarement.
- Elles sont capables de division asymétrique. Lorsqu'elles se divisent, elles peuvent donner deux cellules filles distinctes, l'une restant souche (auto-renouvellement), l'autre se différenciant⁴³⁵ (Figure 37 C).
- Elles sont en interaction avec une niche spécifique. Elles sont localisées dans des niches spatiales déterminées. Au sein de ces niches, les cellules avec lesquelles elles sont en contact jouent un rôle important dans la détermination de leur activité.

Mais si ces propriétés permettent de mieux distinguer les cellules souches hématopoïétiques de leurs progéniteurs, elles posent toutefois d'importants problèmes de généralisation. D'une part, ces informations ne sont pas toujours disponibles pour tous les autres types de cellules souches. D'autre part, plusieurs biologistes ont fait mention de contre-exemples : les cellules souches embryonnaires humaines/murines de la masse interne du blastocyste ne sont pas dépendantes d'une niche, ne se divisent pas de manière asymétrique⁴³⁶ et ne s'auto-renouvellent pas *in vivo* puisqu'elles disparaissent au cours du développement et sont absentes de l'organisme adulte⁴³⁷. Les cellules souches épidermiques également ne seraient pas dépendantes de niches,⁴³⁸ et certaines cellules souches

⁴³³ Larsson J and Karlsson S (2005) « The role of Smad signaling in hematopoiesis » *Oncogene* 24(37): 5676-5692 (ici, Figure 2, p. 5679). Légende d'origine : The hierarchy of hematopoietic cells. LT-HSC, long-term repopulating HSC; ST-HSC, short-term repopulating HSC; MPP, multipotent progenitor; CMP, common myeloid progenitor; CLP, common lymphoid progenitor; MEP, megakaryocyte/erythroid progenitor; GMP, granulocyte macrophage progenitor. The encircled pluripotent population, LT-HSC, ST-HSC and MPP are Lin, Sca-1, c-kit as show ».

⁴³⁴ Dans la souris, la quiescence est telle qu'il a été estimé que les cellules souches hématopoïétiques devaient se diviser environ cinq fois sur la durée de vie d'un individu. Wilson A, Laurenti E, Oser G, van der Wath RC, Blanco-Bose W, Jaworski M, Offner S, Dunant CF, Eshkind L, Bockamp E, Lio P, Macdonald HR and Trumpp A (2008) « Hematopoietic stem cells reversibly switch from dormancy to self-renewal during homeostasis and repair » *Cell* 135(6): 1118-1129.

⁴³⁵ Elles peuvent aussi se diviser de manière symétrique, donnant soit à nouveau deux cellules souches (auto-renouvellement), soit deux progéniteurs (différenciation).

⁴³⁶ Zwaka TP and Thomson JA (2005) « Differentiation of human embryonic stem cells occurs through symmetric cell division » *Stem Cells* 23(2): 146-149.

⁴³⁷ En revanche, elles s'auto-renouvellent très bien *in vitro*, où l'on obtient des cultures de cellules ES qui persistent sur le long terme.

⁴³⁸ Zipori D (2009) *Biology of Stem Cells and the Molecular Basis of the Stem State*. Dordrecht, Heidelberg, London, New York : Humana Press, p. 156, voir aussi le chapitre 2, section 2.2.1, pp. 42-46.

intestinales (CBC pour *Crypt Base Columnar*) ne seraient pas quiescentes⁴³⁹, a argumenté le biologiste Dov Zipori.

Cependant, la définition minimale des cellules souches par les capacités d'auto-renouvellement à long-terme et de multi-différentiation a également été critiquée. Comme indiqué précédemment, elle n'est pas suffisante pour distinguer les cellules souches hématopoïétiques de leurs progéniteurs précoces, qui présentent les mêmes capacités de différenciation et de bonnes capacités d'auto-renouvellement⁴⁴⁰. Ceci révèle en fait un problème plus large : les propriétés d'auto-renouvellement et de différenciation par lesquelles les cellules souches sont définies sont apparues n'être pas spécifiques. En effet, pour tous les tissus présentant différents types cellulaires, le modèle hiérarchique prévoit des progéniteurs multipotents⁴⁴¹. D'autre part, la capacité d'auto-renouvellement à long-terme est également caractéristique de cellules matures, notamment les lymphocytes T effecteurs à mémoire⁴⁴² et les lymphocytes T de la mémoire centrale⁴⁴³. Si la cumulation de

⁴³⁹ Elles ont un cycle cellulaire d'environ un jour. Zipori D (2009) *Biology of Stem Cells and the Molecular Basis of the Stem State*. Dordrecht, Heidelberg, London, New York : Humana Press, p. 46.

Une étude récente a mis en évidence l'existence de deux populations potentielles de cellules souches dans les cryptes intestinales, une quiescente, l'autre non : Buczacki SJ, Zecchini HI, Nicholson AM, Russell R, Vermeulen L, Kemp R and Winton DJ (2013) « Intestinal label-retaining cells are secretory precursors expressing Lgr5 » *Nature* 495(7439): 65-69.

⁴⁴⁰ Voir, par exemple : Muller-Sieburg CE, Cho RH, Karlsson L, Huang JF and Sieburg HB (2004) « Myeloid-biased hematopoietic stem cells have extensive self-renewal capacity but generate diminished lymphoid progeny with impaired IL-7 responsiveness » *Blood* 103(11): 4111-4118 ; Back J, Dierich A, Bronn C, Kastner P and Chan S (2004) « PU.1 determines the self-renewal capacity of erythroid progenitor cells » *Blood* 103(10): 3615-3623 ; Trentin A, Glavieux-Pardanaud C, Le Douarin NM and Dupin E (2004) « Self-renewal capacity is a widespread property of various types of neural crest precursor cells » *Proc Natl Acad Sci U S A* 101(13): 4495-4500.

⁴⁴¹ L'argument de la non-spécificité de la capacité de différenciation a notamment été soutenu par : Lander AD (2009) « The 'stem cell' concept: is it holding us back? » *Journal of Biology* 8(8): 70 ; Zipori D (2009) *Biology of Stem Cells and the Molecular Basis of the Stem State*. Dordrecht, Heidelberg, London, New York : Humana Press.

⁴⁴² Younes SA, Yassine-Diab B, Dumont AR, Boulassel MR, Grossman Z, Routy JP and Sekaly RP (2003) « HIV-1 viremia prevents the establishment of interleukin 2-producing HIV-specific memory CD4+ T cells endowed with proliferative capacity » *J Exp Med* 198(12): 1909-1922 ; Schwendemann J, Choi C, Schirmacher V and Beckhove P (2005) « Dynamic differentiation of activated human peripheral blood CD8+ and CD4+ effector memory T cells » *J Immunol* 175(3): 1433-1439.

⁴⁴³ Zhang Y, Joe G, Hexner E, Zhu J and Emerson SG (2005) « Host-reactive CD8+ memory stem cells in graft-versus-host disease » *Nat Med* 11(12): 1299-1305 ; Miles JJ, Silins SL, Brooks AG, Davis JE, Misko I and Burrows SR (2005) « T-cell grit: large clonal expansions of virus-specific CD8+ T cells can dominate in the peripheral circulation for at least 18 years » *Blood* 106(13): 4412-4413.

L'argument de la non-spécificité de la propriété d'auto-renouvellement a été soutenu, par exemple, par : Mikkers H and Frisen J (2005) « Deconstructing stemness » *EMBO J* 24(15):

ces deux propriétés permet d'éliminer certains de ces types cellulaires de la catégorie des cellules souches (notamment les lymphocytes T), elle aboutit en revanche à exclure certaines cellules souches de cette catégorie. En effet, les cellules souches pluripotentes de l'embryon ne s'auto-renouvellent pas à long-terme puisqu'elles ne sont plus présentes dans l'organisme adulte⁴⁴⁴, les cellules satellites (cellules souches musculaires)⁴⁴⁵ et certaines cellules souches germinales⁴⁴⁶ ne sont pas multipotentes.

Ces difficultés de définition ne remettent pas nécessairement en question la catégorie de 'cellule souche'. Deux solutions permettent d'ailleurs de conserver une notion forte de cellule souche en dépit des problèmes d'inclusion et d'exclusion mentionnés ci-dessus : une définition par grappe de propriétés homéostatiques, proposée par Robert Wilson, Matthew Barker et Ingo Brigandt, ou une définition binominale, que je suggère à titre exploratoire.

6.1.1. Définition des cellules souches par une « grappe de propriétés homéostatiques »

Les propriétés d'auto-renouvellement et de différenciation ne sont ni nécessaires, ni suffisantes pour définir les cellules souches, sauf à réviser les éléments qui appartiennent à cette catégorie. Par conséquent, l'essentialisme traditionnel devrait mener à la conclusion que les cellules souches ne sont pas des espèces naturelles. Autrement dit, il s'agirait d'une catégorie conventionnelle, qui ne correspondrait pas à des divisions « naturelles » entre objets. Cependant, la notion d'espèce naturelle reste très débattue. Plusieurs questions se posent à son égard, parmi lesquelles notamment la question de l'essentialisme⁴⁴⁷ : les entités

2715-2719 ; Zipori D (2009) *Biology of Stem Cells and the Molecular Basis of the Stem State*. Dordrecht, Heidelberg, London, New York : Humana Press.

⁴⁴⁴ Voir : Shostak S (2006) « (Re)defining stem cells ». *Bioessays* 28(3): 301-308.

Il s'agit, ici, d'embryon de mammifères, la catégorie pertinente pour la question du traitement des cancers. Cela ne s'applique pas à toutes les espèces. Voir note 432. Je me suis intéressée ailleurs aux différences entre les espèces, voir Laplane L (2011) « Stem Cells and the Temporal Boundaries of Development: Toward a Species-Dependent View. » *Biological Theory*, 6(1): 48-58.

⁴⁴⁵ L'argument a été soutenu par Zipori D (2009) *Biology of Stem Cells and the Molecular Basis of the Stem State*. Dordrecht, Heidelberg, London, New York : Humana Press, p. 151.

⁴⁴⁶ L'argument a été soutenu par Mikkers H and Frisen J (2005) « Deconstructing stemness » *EMBO J* 24(15): 2715-2719.

⁴⁴⁷ Pour des exemples de positions essentialistes à propos des espèces naturelles, voir : Ellis B (2001) *Scientific Essentialism*. Cambridge: Cambridge University Press.

Pour un exemple anti-essentialiste, voir : Mellor DH (1977) « Natural Kinds ». *British Journal for the Philosophy of Science* 28: 299-331 ; Dupré J (1981) « Natural Kinds and Biological Taxa ». *Philosophical Review* 90(1): 66-90.

d'une espèce naturelle doivent-elles partager des propriétés essentielles ? Et que doit-on entendre par propriétés essentielles ?

Trois philosophes – Robert Wilson, Matthew Barker et Ingo Brigandt – ont soutenu que les cellules souches (comme les gènes et les espèces) représentent une espèce naturelle. Pour comprendre cette position, il faut rappeler brièvement le contexte dans lequel ils opèrent. En biologie, le débat sur les espèces naturelles a (presque exclusivement) porté sur le concept d'espèce : les distinctions entre les espèces sont-elles des classifications conventionnelles ou correspondent-elles à des divisions naturelles ? A l'ère du fixisme, les espèces étaient considérées comme des cas paradigmatiques d'espèces naturelles. La perspective évolutionniste, essentiellement introduite par Darwin, mit en crise cette idée. Si les espèces évoluent, force est d'admettre qu'elles ne peuvent plus être définies, sur le modèle aristotélicien, par un ensemble de propriétés nécessaires et suffisantes. Cet essentialisme statique ne peut s'appliquer à des entités définies par le changement⁴⁴⁸. David Hull a brillamment montré que les définitions aristotéliciennes (ensembles de propriétés nécessaires et suffisantes) étaient tout simplement inappropriées pour définir les espèces. Il avait alors soutenu que « les noms des taxons ne peuvent être définis que *par des ensembles de propriétés, statistiquement covariantes, arrangées en une définition disjonctive de longueur indéfinie* »⁴⁴⁹. Dans ce type de définition, aucune propriété ou ensemble de propriétés n'est nécessaire et tout ensemble de propriétés (sachant que le nombre de ces ensembles est par définition non-défini) peut être suffisant. A la suite de ces travaux, Richard Boyd introduisit le concept de « grappe de propriétés homéostatiques » (*homeostatic property cluster*) pour désigner un ensemble de propriétés qui sont regroupées par le fait qu'elles coexistent fréquemment dans la nature. La notion d'homéostasie fait référence à cette coexistence. Plus précisément, la coexistence est considérée comme le résultat d'une homéostasie, soit parce que la présence de certaines propriétés de la grappe favorisent la présence des autres propriétés, soit parce qu'il y a des mécanismes ou processus sous-jacents qui tendent à maintenir la coexistence de ces propriétés⁴⁵⁰. A l'image de la proposition de David Hull,

⁴⁴⁸ Voir Ereshefsky M « Species », *The Stanford Encyclopedia of Philosophy (Spring 2010 Edition)*, Edward N. Zalta (ed.), URL = <http://plato.stanford.edu/archives/spr2010/entries/species/>; Bird A and Tobin E « Natural Kinds », *The Stanford Encyclopedia of Philosophy (Winter 2012 Edition)*, Edward N. Zalta (ed.), URL = <http://plato.stanford.edu/archives/win2012/entries/natural-kinds>

⁴⁴⁹ Hull D (1965) « The effect of Essentialism on Taxonomy: Two Thousand Years of Stasis ». *The British Journal for the Philosophy of Science* 15(60): 314-326, ici p. 323.

⁴⁵⁰ La grappe de raison peut être prise comme métaphore: à la différence d'un bouquet de fleurs, les raisons qui composent une grappe sont physiquement naturellement liés par la tige. La tige garantie l'homéostasie de la grappe. A l'inverse, le bouquet de fleurs n'est pas homéostatique.

aucune des propriétés de la grappe n'est nécessaire et les propriétés qui composent la grappe sont susceptibles d'évoluer, sans affecter pour autant la définition (c'est-à-dire la grappe homéostatique). Le concept de grappe de propriétés homéostatiques défendu par Richard Boyd introduit cependant une rupture ontologique importante par rapport à la définition par grappe suggérée par David Hull en ceci que le premier considère que les espèces définies par de tels grappes homéostatiques sont des espèces naturelles alors que le second adopte une position anti-essentialiste contre l'idée que les espèces sont des espèces naturelles⁴⁵¹. La solution proposée par Richard Boyd consiste donc en une révision de l'essentialisme traditionnel. Ce nouvel essentialisme doit permettre de rendre compte de l'hétérogénéité et de la variation intrinsèque des objets biologiques à travers un mode de définition où la nécessité et la suffisance prennent un nouveau sens. Aucune propriété, ni aucun ensemble de propriétés de la grappe n'est strictement nécessaire. « La nécessité devient plus générale. Chaque membre d'une espèce naturelle instancie nécessairement quelques sous-ensembles des propriétés qui sont généralement co-exprimées »⁴⁵². D'autre part, la suffisance se retrouve variable puisque des membres d'une espèce naturelle peuvent instancier différents sous-ensembles de propriétés de la grappe. Cette solution permet d'assurer à ces espèces naturelles une « intégrité réelle et explicative qui leur permet d'être le support d'explications et de prédictions biologiques »⁴⁵³.

Robert Wilson, Matthew Barker et Ingo Brigandt proposent une défense de la conception de la grappe de propriétés homéostatiques à travers trois exemples, dont les cellules souches, qu'ils considèrent comme une espèce naturelle. Ainsi, après avoir reconnu l'hétérogénéité des objets de la catégorie des cellules souches (hétérogénéité des cellules souches entre les espèces, au sein d'un organisme, au sein d'une sous-catégorie de cellules souches), ils suggèrent de définir les cellules souches par la grappe de propriétés homéostatiques suivante :

- Indifférenciation morphologique.

Voir Boyd R (1999) « Homeostasis, Species, and Higher Taxa », chapter 6, pp. 141-185, in Wilson R (ed.), *Species: New Interdisciplinary Essays*. Cambridge: MIT Press. Voir p. 143.

⁴⁵¹ Voir également Hull D (1978) « A matter of individuality ». *Philosophy of Science* 45 : 335-360.

⁴⁵² « On one hand *no one* of the properties in the individuating cluster, nor any *particular subset* of them, is strictly necessary for kind membership. Necessity becomes more general. Each kind member necessarily instantiates *some* subset of the properties that typically cluster together. » Wilson R, Barker MJ and Brigandt I (2007) « When Traditional Essentialism Fails: Biological Natural Kinds », *Philosophical Topics* 35(1&2): 189-215, ici p. 197.

⁴⁵³ « kinds for which there are no necessary and sufficient conditions in the traditional sense can nonetheless have real and explanatory integrity that allows them to serve as ground for biological explanation and prediction. » Wilson R, Barker MJ and Brigandt I (2007) « When Traditional Essentialism Fails: Biological Natural Kinds », *Philosophical Topics* 35(1&2): 189-215, ici p. 198.

- Capacité d'auto-renouvellement sur une longue période de temps.
- Capacité à donner naissance à divers types de cellules différenciées (pluripotente ou, au moins, multipotente).
- Dérivation développementale de cellules ou tissus particuliers.
- Localisation dans des parties spécifiques des tissus.
- Profil complexe d'expression de gènes particuliers et présence de certains facteurs de transcription.
- Localisation dans des microenvironnements moléculaires-cellulaires qui influencent le comportement de la cellule souche.
- Faible taux de division.

Conformément à la conception des grappes de propriétés homéostatiques, il existe des cellules souches qui font exception à chacune de ces propriétés. Aucune n'est nécessaire et différents sous-ensembles peuvent être suffisants. Ainsi, les cellules souches de l'embryon de souris peuvent appartenir à la catégorie des cellules souches bien qu'elles ne s'auto-renouvellent pas sur une longue période de temps, de même pour les cellules germinales en dépit de leur unipotence ou encore pour les cellules souches intestinales en dépit de leur taux de division élevé.

Si cette perspective offre une solution pour réunifier la catégorie des cellules souches et éviter les problèmes d'exclusion dont elle souffre, elle soulève toutefois deux problèmes :

- Qu'est-ce qui assure de l'homéostasie de la grappe de propriétés proposée pour définir les cellules souches ?
- Comment cette définition peut-elle permettre de distinguer les cellules souches d'autres types de cellules, en particulier les progéniteurs précoces ?

Théoriquement, la notion de grappe de propriétés homéostatiques suggère une même solution à ces deux problèmes : l'homéostasie. Les propriétés citées ci-dessus tendent (pour des raisons non-élucidées) à être co-exprimées entre elles mais pas avec d'autres propriétés qui seront présentes dans les autres types cellulaires tels que les progéniteurs. D'un point de vue empirique il paraît effectivement statistiquement plausible et même raisonnable de penser que les propriétés citées ci-dessus sont généralement co-exprimées. Le manque de démonstrations plus fermes demeure toutefois gênant quand on sait que la thèse de l'existence d'une espèce naturelle 'cellule souche' repose entièrement sur cette homéostasie. Sur le plan ontologique, donc, on reste suspendu à cette homéostasie supputée. Sur le plan pratique, par ailleurs, la solution semble peu opérationnelle pour la

pratique de la biologie des cellules souches. En effet, comment peut-on s'assurer qu'une classe de cellules identifiées tombe dans la catégorie des cellules souches ou non ? Peut-on véritablement affirmer que les cellules souches intestinales à divisions fréquentes sont bien des cellules souches et que les progéniteurs hématopoïétiques qui sont multipotents et présentent de bonnes capacités d'auto-renouvellement n'en sont pas ? Comment peut-on affirmer que les propriétés de la grappe portées par les progéniteurs précoces ne sont pas homéostatiques ?

6.1.2. Définition binominale des cellules souches

Je suggère, à titre exploratoire, que l'adoption de « définitions binominales » pourrait résoudre les difficultés opérationnelles rencontrées par la définition par grappe de propriétés homéostatiques. J'avais proposé cette notion face au problème de la définition extrêmement floue du développement⁴⁵⁴. Le concept de développement est pris dans une tension entre les besoins d'une définition suffisamment large pour lui permettre d'être transversal à plusieurs disciplines et suffisamment précise pour répondre à un certain nombre de questions (comme celles des frontières du développement⁴⁵⁵). Cette tension est probablement présente pour un grand nombre de concepts de la biologie. Les difficultés concernant la définition du concept de gène ont servi de révélateur à cet égard. D'un côté, l'imprécision du concept a été vue comme un facteur de fécondité et la recherche de définitions plus précises comme un obstacle épistémologique⁴⁵⁶. De l'autre, les applications empiriques (par exemple l'annotation des génomes pour le projet Génome Humain) nécessitent des définitions précises faisant référence à un objet précis. Une tension similaire a été mise en exergue pour les concepts de « soi » et de « non-soi » en immunologie. Ilana Löwy, d'une part, et Eileen Crist et Alfred Tauber, d'autre part, ont défendu l'idée que la force des concepts de « soi » et de « non-soi » réside dans leur imprécision⁴⁵⁷. Au contraire,

⁴⁵⁴ Laplane L (2011) « Stem Cells and the Temporal Boundaries of Development: Toward a Species-Dependent View ». *Biological Theory* 6(1): 48-58.

⁴⁵⁵ Sur la question des frontières spatiales et temporelles du développement voir le volume 6, numéro 1 de la revue *Biological Theory*. Pradeu T, Laplane L, Morange M, Nicoglou A and Vervoort M. (2011) « The Boundaries of development ». *Biological Theory* 6(1): 1-3.

⁴⁵⁶ Voir par exemple : Rheinberger H-J (2000) « Gene concepts: Fragments from the Perspective of Molecular Biology », chapter 10, pp. 219-239. In Beurton P, Falk R, Rheinberger H-J (eds). *The Concept of the Gene in Development and Evolution: Historical and Epistemological Perspectives*. Cambridge: Cambridge University Press.

⁴⁵⁷ Löwy I (1991) « The Immunological Construction of the Self », pp.3-75, in Tauber AI (ed.) *Organism and the Origins of Self*. Dordrecht, Kluwer: Boston Studies in the Philosophy of Science.

Thomas Pradeu a soutenu que cette imprécision fait obstacle à des distinctions conceptuelles importantes, au détriment de l'immunologie⁴⁵⁸.

Le concept de cellule souche, comme celui de développement ou de gène, est un concept « frontière »⁴⁵⁹. Pour permettre la collaboration et le dialogue entre des communautés, il lui faut s'appuyer sur une définition suffisamment large et flexible. Pourtant ses applications thérapeutiques potentielles requièrent des définitions très précises et opérationnelles, permettant de distinguer de manière robuste les cellules souches des autres cellules. Les thérapies géniques qui doivent opérer sur des cellules souches ne peuvent pas manquer leur cible. Les thérapies cellulaires nécessitent d'avoir main mise sur des cellules souches et non des progéniteurs, pour assurer la capacité de greffe à long terme. Les thérapies développées dans le cadre de la théorie des CSC doivent cibler toutes les CSC, sans quoi elles ne pourraient assurer la guérison⁴⁶⁰. La proposition des définitions binominales est une tentative de conciliations de ces besoins de précision et d'imprécision.

Lors d'une analyse du concept de gène, Richard Burian avait distingué deux types de définitions⁴⁶¹. Le premier type, qu'il appelle alternativement « générique » ou « schématique », fournit des définitions dont le référent, c'est-à-dire les objets auxquels elle fait référence, reste indéterminé. En tête il a le concept de gène mendélien, défini comme facteur de l'hérédité. Ces caractéristiques lui permettent de s'appliquer à des référents hétérogènes. Le second type de définition, que Richard Burian nomme alternativement « spécifique » ou « discontinu », agrège en fait plusieurs définitions (moléculaires) du gène qui sont toutes plus précises et résolvent le problème du référent, mais au coût d'une discontinuité conceptuelle. La conclusion qu'il tire de cette analyse est que « ce qui compte comme un gène est dépendant du contexte » et que « par conséquent, toute définition précise des gènes doit être abandonnée parce qu'il y a tout simplement trop de types de

Crist E and Tauber AI (1999) « Selfhood, Immunity, and the Biological Imagination: The Thought of Frank Macfarlane Burnet » *Biology and Philosophy* 15(4): 509-33.

⁴⁵⁸ Pradeu T (2009) *Les limites du soi: immunologie et identité biologique*. Montréal : Presses Universitaires de Montréal & Paris : Vrin. Voir en particulier p. 144.

⁴⁵⁹ Voir Star SL and Griesemer JR (1989) « Institutional ecology, “translations” and boundary objects: Amateurs and professionals in Berkeley's museum of vertebrate zoology, 1907-39 ». *Social Studies of Sciences* 19(4): 387-420.

⁴⁶⁰ Le problème du ciblage des CSC est sensiblement différent de celui du ciblage des cellules souches pour la thérapie génique. Dans le cas de la thérapie génique, il faut cibler au moins une ou plusieurs cellules souches mais pas forcément toutes (les besoins sont dépendants des cas). Dans le cadre de la théorie des CSC, il faudrait cibler *toutes* les CSC, sans qu'une seule cellule n'échappe au ciblage.

⁴⁶¹ Burian R (2005) *The Epistemology of Development, Evolution, and Genetics*, Cambridge: Cambridge University Press, chapter 9, pp. 166-178: « Too many kinds of genes. Some problems posed by discontinuities in gene concepts and the continuity of the genetic material ».

gènes »⁴⁶². A contrepied de cette conclusion, je suggère que, dans le cas du développement comme dans celui des cellules souches, il n’y a pas nécessairement de contradiction dans la coexistence d’une définition « générique » du concept avec plusieurs définitions « spécifiques ». Au contraire, la définition générique permet au concept d’assurer ses fonctions de concept frontière, c’est-à-dire qu’elle permet en particulier le dialogue et la coopération entre communautés de chercheurs travaillant sur différents types de cellules souches. Les définitions spécifiques, à la condition qu’elles n’entrent pas en contradiction avec la définition générique, peuvent permettre d’attribuer des caractères particuliers à des sous-catégories de cellules souches, apportant ainsi des critères de spécifications permettant de distinguer différents types de cellules souches de cellules non-souches, assurant ainsi l’opérativité du concept⁴⁶³. Plus concrètement, il serait, par exemple, possible d’instancier cette solution comme suit :

- Le concept de cellule souche répond à une définition générique au référent ouvert. Une telle définition par exemple pourrait être de la forme : les cellules souches sont les cellules d’origine (au sens d’*Ursprung* et d’*Entstehung*, voir chapitre 5) des tissus.
- Il répond aussi à un nombre potentiellement infini de définitions spécifiques qui attribuent des propriétés particulières en fonction de contextes précis. Par exemple, les cellules souches hématopoïétiques sont définies par les propriétés d’auto-renouvellement à long-terme, de multipotence, de quiescence, de localisation dans un microenvironnement (niche) spécifique, de division asymétrique. Les cellules souches intestinales sont définies par les propriétés d’auto-renouvellement à long-terme, de multipotence, de division asymétrique. Et ainsi de suite pour tout référent particulier.

Les définitions spécifiques proposées sont guidées par les enquêtes empiriques et les besoins de la recherche. Autrement dit, il peut y avoir différents niveaux de définitions spécifiques (par exemple des définitions spécifiques pour les cellules souches totipotentes, pluripotentes, multipotentes et des définitions spécifiques pour les cellules souches propres à chaque tissu) et ces catégories et définitions sont susceptibles d’évoluer (par exemple si

⁴⁶² « What counts as a gene is thoroughly context-dependent [...] this has the consequence that precise definitions of genes must be abandoned, for there are simply too many kinds of genes ». Burian R (2005) *The Epistemology of Development, Evolution, and Genetics*, Cambridge: Cambridge University Press (ici p. 175).

⁴⁶³ Cette solution permet également de résoudre les problèmes d’inférences liés à l’utilisation de certaines cellules souches comme modèles. Seule la définition générique est généralisable, les autres propriétés doivent être testées dans les différents tissus, aux différentes périodes développementales et dans chaque espèce.

Pour une discussion sur les problèmes d’inférences liées aux cellules souches, voir : Robert JS (2004) « Model systems in stem cell biology » *Bioessays* 26(9): 1005-1012.

un nouveau référent vient à devoir être spécifié). J'ai appelé cette définition par le nom imparfait de définition binominale pour figurer que le nom générique d'un objet frontière, comme le développement ou les cellules souches, peut être précisé à l'aide d'un nom complémentaire permettant de spécifier son référent. Pour les cellules souches, cela correspond en fait à la situation empirique : les biologistes distinguent les cellules souches pluripotentes, les cellules souches multipotentes, les cellules souches hématopoïétiques, les cellules souches embryonnaires, etc... « Cellule souche » est le nom générique et « pluripotente », « multipotente », « hématopoïétique », « embryonnaire » sont les noms spécifiques⁴⁶⁴.

La définition binominale est un outil. Elle est agnostique à l'égard du statut ontologique de la catégorie des cellules souches. Il ne s'agit donc pas ici d'une argumentation en faveur de l'existence d'une espèce naturelle 'cellule souche'. Il s'agit simplement de montrer que l'hétérogénéité des définitions particulières ne fait pas nécessairement tomber la catégorie. Autrement dit, un essentialiste de nouvelle génération (c'est-à-dire non-aristotélicien) pourrait, théoriquement, adopter une définition binominale. Elle aurait l'avantage de rendre plus opérationnelle la grappe de propriétés homéostatiques. Les deux perspectives ne sont pas nécessairement conflictuelles. Il est possible d'imaginer que les propriétés établies par les différentes définitions spécifiques des cellules souches soient homéostatiques en ceci qu'elles participent à assurer le rôle causal des cellules souches, à savoir être à l'origine des cellules des tissus. Les définitions spécifiques pourraient donc être considérées comme des spécifications d'ensembles de propriétés de la grappe homéostatique. La définition générique assurerait l'intégrité explicative de la grappe. Dans le cas présent, elle émet une hypothèse à l'égard de son homéostasie.

6.1.3. Conclusion sur la question de l'existence d'une espèce naturelle 'cellule souche'

La propriété souche, caractérisée par les capacités d'auto-renouvellement et de différenciation, apparaît donc comme une propriété à la fois quantitative et relationnelle : les cellules souches sont les cellules qui ont une plus grande capacité d'auto-renouvellement et/ou de différenciation que leurs propres progéniteurs. La question qui se pose alors, pour qui veut comprendre ce que représente la catégorie des cellules souches est celle du continuum. Cette question se pose sous plusieurs formes. D'abord, la différenciation est-

⁴⁶⁴ Parfois l'appellation peut-être trinominale et permet ainsi par exemple de distinguer des cellules embryonnaires murines ou humaines.

elle continue ou bien peut-on isoler des catégories stables et discrètes auxquelles les cellules appartiennent en fonction de leur stade de différenciation ? D'autre part, quelle est la porosité de ces catégories, autrement dit, la différenciation est-elle unilatérale ou bien la dédifférenciation et la transdifférenciation sont-elles possibles ?

Comme les propriétés d'auto-renouvellement et de différenciation, les autres propriétés attribuées aux cellules souches posent des problèmes d'inclusion et d'exclusion : quel que soit l'assemblage de propriétés que l'on propose, il y a toujours soit des cellules souches qui sont exclues de la catégorie, soit des cellules non-souches qui sont incluses dedans, ou encore les deux. Il ne semble donc qu'aucune propriété ou ensemble de propriétés soient nécessaires et suffisantes pour la définition des cellules souches. Un essentialisme traditionnel (aristotélien) mènerait à la conclusion que les cellules souches ne partagent aucune essence commune et que, par conséquent, elles ne font pas partie d'une espèce naturelle. Cependant, d'autres positions essentialistes, en particulier la conception des « grappes de propriétés homéostatiques », permettent de soutenir que les cellules souches appartiennent à une espèce naturelle, c'est-à-dire que la catégorie des cellules souches correspond à une division naturelle et non conventionnelle. Les définitions par grappes de propriétés homéostatiques font courir le risque d'un manque d'opérativité (notamment dans la distinction entre les cellules souches et certaines cellules non-souche). J'ai suggéré que des définitions binominales pourraient résoudre ce problème. Rien de cela ne démontre que les cellules souches appartiennent bien à une espèce naturelle. En revanche, cela permet de montrer que l'hétérogénéité, dans la distribution des propriétés à différents type de cellules souches, n'est pas un argument suffisant pour soutenir qu'il n'y a pas d'espèce naturelle 'cellules souches'.

6.2. Signature moléculaire

L'émergence des thérapies géniques et cellulaires et de la médecine régénérative a accru le besoin d'isoler des populations pures en cellules souches. Les biologistes ont besoin de marqueurs fiables leur permettant de caractériser spécifiquement les cellules souches. Cela mena plusieurs groupes à la recherche d'une signature moléculaire de la propriété souche (*stemness signature*), au début des années 2000. Cette recherche était basée sur deux présupposés :

(P1) Les propriétés d'auto-renouvellement et de différenciation, c'est-à-dire la propriété souche, permettent une distinction qualitative entre cellules souches et cellules non-souches.

(P2) La propriété souche est réductible à un ensemble de propriétés moléculaires (gènes transcrits, protéines de surface, etc...). Ce présupposé repose sur une idée simple :

Parce que toutes les cellules souches partagent des propriétés fondamentales biologiques, elles peuvent partager un ensemble fondamental de voies de signalisation moléculaires régulatrices⁴⁶⁵.

(P1) a rencontré les critiques examinées à la section 6.1. D'une part, les capacités d'auto-renouvellement et de différenciation ne sont pas spécifiques des cellules souches. D'autre part certaines cellules souches n'expriment que l'une des deux propriétés. Dès lors, même si (P2) est vrai, ces propriétés ne sauraient distinguer les cellules souches des cellules non-souches. Les données moléculaires tendent à confirmer ce diagnostic à plusieurs niveaux. Premièrement, sur le plan individuel, les gènes connus pour s'exprimer dans les cellules souches ont tendance à s'exprimer aussi dans les cellules filles, voire à être surexprimés dans des populations déterminées de cellules différenciées. Deuxièmement, collectivement, aucune « signature moléculaire » de la propriété souche, transversale aux différents types de cellules souches, n'a, à ce jour, été identifiée. Les résultats de ces recherches de signature et leur interprétation sont très controversés. Ce qui est important pour l'argumentation de ce chapitre, c'est qu'ils ont ouvert un débat concernant l'existence d'une telle signature et, plus généralement, concernant la nature de la propriété souche.

Mes propres recherches, conduites à l'Institut Jacques Monod, sous la direction de Michel Vervoort, avec la post-doctorante Eve Gazave, offrent un exemple du problème du continuum dans l'expression des gènes. L'objectif de notre recherche était précisément la « caractérisation moléculaire et cellulaire des cellules souches impliquées dans la croissance postérieure chez l'annélide *Platynereis dumerilii* ». Sans entrer dans les détails, le ver de mer *P. dumerilii*, comme un certain nombre de bilatériens⁴⁶⁶, dispose d'un pool de cellules souches situé dans la partie caudale de l'organisme. On parle de « zone de croissance postérieure » ou de « zone d'addition des segments » (ZAS). C'est à partir de cette ZAS que se produit la croissance postérieure⁴⁶⁷ durant le développement, embryonnaire et adulte, et durant la

⁴⁶⁵ « Because all SCs share fundamental biological properties, they may share a core set of molecular regulatory pathways ». Ivanova NB, Dimos JT, Schaniel C, Hackney JA, Moore KA and Lemischka IR (2002) « A stem cell molecular signature ». *Science* 298(5593): 601-604, ici p. 601.

⁴⁶⁶ Le groupe des bilatériens désignent les espèces qui ont un axe antéro-postérieur et un axe dorso-ventral.

⁴⁶⁷ La croissance postérieure désigne la construction des tissus du tronc par addition postérieures.

régénération⁴⁶⁸. Après avoir montré l'existence d'une ZAS et son rôle dans la croissance postérieure, chez *P. dumerilii*, nous avons conduit une série d'hybridation *in situ*⁴⁶⁹ et de marquage anticorps ou immunomarquages fluorescents⁴⁷⁰ dans l'objectif d'examiner le pattern d'expression de gènes connus pour s'exprimer dans les cellules souches. La Figure 39 montre ainsi le pattern d'expression des gènes *Pimi*, *Vasa*, *Pl10*, *Nanos*, *PufB*, *SmB*, *Brat*, *Myc* et *Id* dans la partie caudale de vers en régénération 10 jours après amputation. Les flèches indiquent la zone putative des cellules souches ectodermiques. La Figure 40 offre une vue à fort grossissement au microscope Confocal. On y voit, dans la zone putative des cellules souches, une rangée de cellules se distinguant par trois caractéristiques (cellules entres les pointillées sur les figures A-D, quantifications des caractéristiques présentée sur la figure E) : un nucléole⁴⁷¹ plus large, un noyau plus large et un marquage moins dense au colorant nucléaire Hoechst, trois caractéristiques des ectotélobastes (cellules souches ectodermiques) chez la sangsue⁴⁷². Ces cellules expriment les gènes *Pimi*, *Nanos*, *Ap2* et *Hox3*, classiquement associés aux cellules souches (marquage rouge). Ces images rendent sensible la non-spécificité des marqueurs moléculaires. Dans la Figure 39, comme dans la Figure 40, on voit que les cellules progénitrices des segments en développement (au dessus

⁴⁶⁸ Pour une revue sur le développement postérieur, voir : Martin BL et Kimelman D (2009) « Wnt signaling and the evolution of embryonic posterior development ». *Curr Biol* 19(5): R215-219.

Notons que chez les vertébrés, les somites sont développées de cette manière, à partir d'un pool de cellules souches postérieures.

⁴⁶⁹ L'hybridation *in situ* consiste à observer l'expression d'un gène à travers le marquage de l'ARN qui lui correspond. Le marquage est fait à l'aide d'une sonde qui est un brin complémentaire à la séquence cible (ARN antisens) qui va s'hybrider avec la molécule d'ARN. La sonde est elle-même marquée, ici à la digoxigénine UTP (DIG). Ainsi un traitement à partir d'anticorps anti-DIG couplés à de la phosphatase alcaline permet de « révéler » la présence de l'ARN cible grâce au précipité violet que génère l'anticorps lorsqu'il se dégrade dans un milieu au pH alcalin. Pour plus de détail, voir Laplane L (2011). *Caractérisation moléculaire et cellulaire des cellules souches impliquées dans la croissance postérieure chez l'annélide Platynereis dumerilii*. Rapport de stage de seconde année de master de biologie, Université Paris 6.

⁴⁷⁰ Les marquages anticorps consistent à observer l'expression d'un gène à travers le marquage d'une protéine qui lui correspond. Le marquage est fait à l'aide d'un anticorps monoclonal spécifique à la protéine lui-même marqué par un anticorps secondaire fluorescent, observable au microscope confocal.

⁴⁷¹ Le nucléole est un sous-compartiment du noyau où se produit la transcription des ARN ribosomiques.

⁴⁷² Notons que le rejet du colorant Hoechst est communément considéré comme une caractéristique de toutes les cellules souches. Ce rejet se fait par des pompes à chimiorésistance, notamment le transporteur ABC. Voir chapitre 2.

Par ailleurs, d'autres études montraient que ces cellules semblent se diviser de manière asymétrique. De Rosa R, Prud'homme B, Balavoine G (2005) « Caudal and even-skipped in the annelid *Platynereis dumerilii* and the ancestry of posterior growth ». *Evol. Dev.* 7: 574-587.

de la rangée des cellules souches) expriment également ces gènes, selon un pattern de plus en plus diffus.

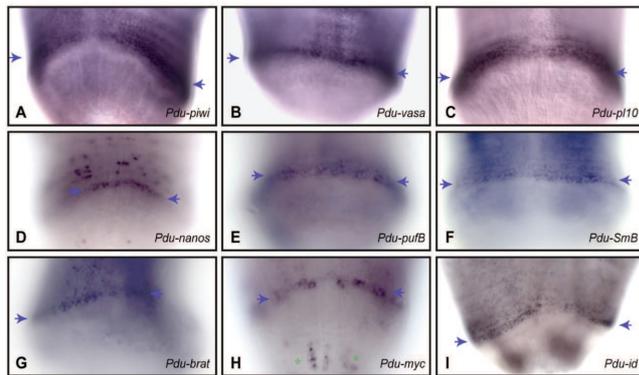


Figure 39. Expression des gènes de cellules souches chez *Platynereis dumerilii*: les hybridations *in situ* de *Piwi*, *Vasa*, *P110*, *Nanos*, *PufB*, *SmB*, *Brat*, *Myc* et *Id* montrent un pattern d'expression décroissant continu de la zone de croissance postérieure aux segments postérieurs à antérieurs. Les flèches indiquent la zone de croissance postérieure, c'est-à-dire les cellules souches putatives. Seule la partie en régénération est montrée. L'anus se situe en bas. Figure issue de Gazave et al (à paraître)⁴⁷³.

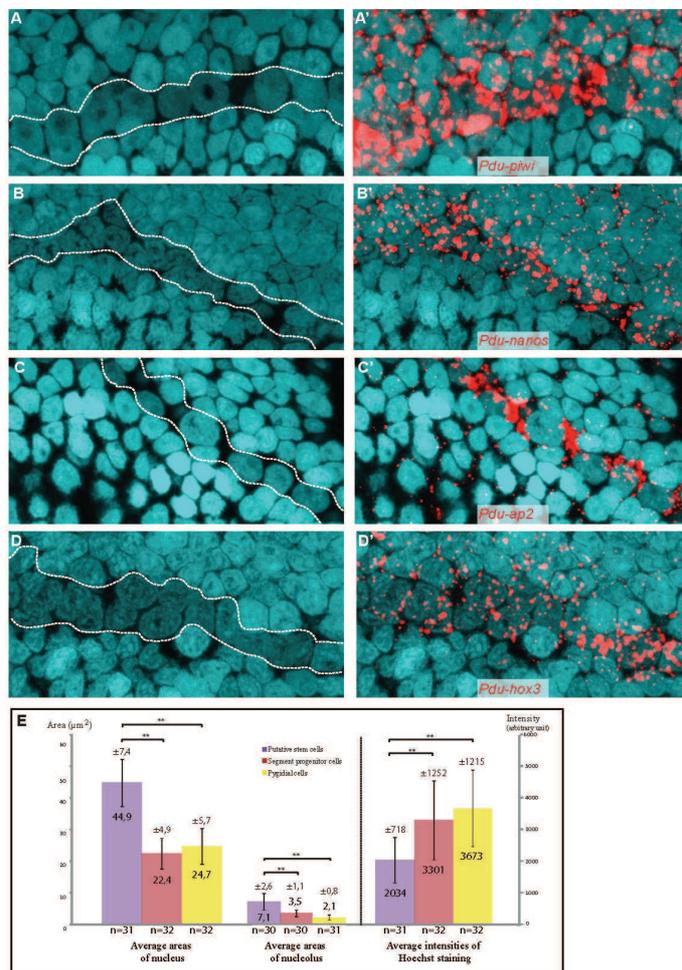


Figure 40. Non-spécificité de la signature moléculaire des cellules souches dans la zone de croissance postérieure chez *Platynereis dumerilii*. Images au confocal à forte résolution de la partie caudale de vers en régénération. L'anus est dirigé vers le bas, les cellules souches putatives (gros noyaux, gros nucléoles, faible marquage Hoechst) sont encadrées par des pointillées. Le colorant Hoechst est en Cyan. En rouge sont les gènes indiqués dans les figures A'-D'. La figure E indique les résultats de quantification de la taille des nucléoles et des noyaux et du taux de marquage au Hoechst.

⁴⁷³ Gazave E, Béhague J, Laplane L, Guillou A, Préau L, Demilly A, Balavoine G, Vervoort M (à paraître) « Posterior elongation in the annelid *Platynereis dumerilii* involves stem cells molecularly related to primordial germ cells » *Developmental Biology*, (ici, Figure 5).

Résultat également présenté dans Laplane L (2011) *Caractérisation moléculaire et cellulaire des cellules souches impliquées dans la croissance postérieure chez l'annelide Platynereis dumerilii*. Rapport de stage de seconde année de master de biologie, Université Paris 6, voir figures 9 à 11.

Les recherches sur les cellules souches hématopoïétiques, pour leur part, ont révélé que ces cellules souches présentaient des marqueurs de cellules de différents tissus⁴⁷⁴, ainsi que des marqueurs de cellules différenciées du système hématopoïétique, notamment Thy-1 qui est un marqueur des lymphocytes T et Mac-1 qui est un marqueur des macrophages⁴⁷⁵. Cette non-spécificité des marqueurs semble générale. L'équipe de Dov Zipori a montré que les cellules souches mésenchymateuses expriment des gènes spécifiques des neurones⁴⁷⁶, et des gènes impliqués dans la production des récepteurs membranaires des lymphocytes B et T⁴⁷⁷. Le phénomène atteindrait son paroxysme dans les cellules souches embryonnaires qui exprimeraient, selon certaines études, la quasi-totalité du génome⁴⁷⁸. Plus les cellules seraient immatures, plus nombreux seraient les gènes qu'elles expriment, selon l'hypothèse développée par Michal Golan-Mashiach⁴⁷⁹.

Le fait qu'un ou plusieurs gènes exprimés par les cellules souches soient également exprimés par des cellules non-souches ne contredit pas la possibilité de l'existence d'une signature moléculaire complexe propre aux cellules souches. La spécificité des cellules souches pourrait se trouver dans l'expression d'une grappe de gènes multiples, dont chaque

⁴⁷⁴ Akashi K, He X, Chen J, Iwasaki H, Niu C, Steenhard B, Zhang J, Haug J and Li L (2003) « Transcriptional accessibility for genes of multiple tissues and hematopoietic lineages is hierarchically controlled during early hematopoiesis » *Blood* 101(2): 383-389.

⁴⁷⁵ Morrison SJ, Hemmati HD, Wandycz AM and Weissman IL (1995) « The purification and characterization of fetal liver hematopoietic stem cells » *Proc Natl Acad Sci U S A* 92(22): 10302-10306.

⁴⁷⁶ Blondheim NR, Levy YS, Ben-Zur T, Burshtein A, Cherlow T, Kan I, Barzilai R, Bahat-Stromza M, Barhum Y, Bulvik S, Melamed E and Offen D (2006) « Human mesenchymal stem cells express neural genes, suggesting a neural predisposition » *Stem Cells Dev* 15(2): 141-164.

⁴⁷⁷ Pour les lymphocyte B voir : Lapter S, Livnat I, Faerman A and Zipori D (2007) « Structure and implied functions of truncated B-cell receptor mRNAs in early embryo and adult mesenchymal stem cells: Cdelta replaces Cmu in mu heavy chain-deficient mice ». *Stem Cells* 25: 761-770.

Pour les lymphocyte T voir : Barda-Saad M, Shav-Tal Y, Rozenszajn AL, Cohen M, Zauberman A, Karmazyn A, Parameswaran R, Schori H, Ashush H, Ben-Nun A and Zipori D (2002) « The mesenchyme expresses T cell receptor mRNAs: relevance to cell growth control » *Oncogene* 21(13): 2029-2036.

⁴⁷⁸ Efroni S, Dutttagupta R, Cheng J, Dehghani H, Hoepfner DJ, Dash C, Bazett-Jones DP, Le Grice S, McKay RD, Buetow KH, Gingeras TR, Misteli T and Meshorer E (2008) « Global transcription in pluripotent embryonic stem cells » *Cell Stem Cell* 2(5): 437-447.

Notons qu'une analyse de lignée de cellules ES a montré une très grande hétérogénéité entre ces cellules, en dépit du grand nombre de gènes qu'elles expriment : Osafune K, Caron L, Borowiak M, Martinez RJ, Fitz-Gerald CS, Sato Y, Cowan CA, Chien KR and Melton DA (2008) « Marked differences in differentiation propensity among human embryonic stem cell lines » *Nat Biotechnol* 26(3): 313-315.

⁴⁷⁹ Golan-Mashiach M, Dazard JE, Gerech-Nir S, Amariglio N, Fisher

T, Jacob-Hirsch J, Bielora B, Osenberg S, Barad O, Getz G, Toren A, Rechavi G, Itskovitz-Eldor J, Domany E and Givol D (2005) « Design principle of gene expression used by human stem cells: implication for pluripotency » *FASEB J* 19(1): 147-149. Voir aussi Zipori D (2004) « The nature of stem cells: state rather than entity » *Nat Rev Genet* 5(11): 873-878.

gène pourrait tout à fait, individuellement, être exprimé par des cellules non-souches. Trois grands groupes, leaders de la recherche sur les cellules souches, se sont lancés dans la recherche d'une telle signature moléculaire complexe au début des années 2000. Le groupe d'Ihor Lemischka à Princeton fonda son enquête sur la comparaison du profil génétique des cellules souches hématopoïétiques murines et humaines. Ils identifièrent 283 gènes communs, fortement exprimés dans ces cellules mais pas dans les cellules différenciées, qui alimentaient l'espoir d'identifier parmi eux un « programme génétique » commun⁴⁸⁰. Le groupe de Douglas Melton à Harvard a comparé les profils de transcription de cellules souches embryonnaires, neurales et hématopoïétiques murines. Ils aboutirent à une liste de 216 gènes communs fortement exprimés⁴⁸¹. Enfin l'équipe de Bing Lim du *Genome Institute* de Singapour a comparé les profils d'expression génique de cellules souches embryonnaires, neurales et rétinienne. Ils aboutirent à une liste de 385 gènes communs⁴⁸². Mais, en comparant leurs données avec celles des deux groupes précédents, ils ne trouvèrent qu'un seul gène commun : l'Intégrine alpha 6 (ITGA6 ou CD49). Or, ce gène, qui code pour la sous-unité $\alpha 6$ des protéines transmembranaires $\alpha 6\beta 4$ et $\alpha 6\beta 1$ impliquées dans l'adhésion cellulaire et la transmission de signaux régulant la croissance, est loin d'être spécifique des cellules souches⁴⁸³.

Ces études ont engendré un débat important dans la communauté scientifique. Plusieurs interprétations de l'échec de ces trois études à identifier une signature moléculaire fondamentale de la catégorie des cellules souches ont été suggérées. La plus populaire consiste à imputer l'échec aux paramètres expérimentaux⁴⁸⁴, incluant la pureté des

⁴⁸⁰ Ivanova NB, Dimos JT, Schaniel C, Hackney JA, Moore KA and Lemischka IR (2002) « A stem cell molecular signature » *Science* 298(5593): 601-604, voir p. 604 pour le programme génétique.

⁴⁸¹ Ramalho-Santos M, Yoon S, Matsuzaki Y, Mulligan RC and Melton DA (2002) « "Stemness": transcriptional profiling of embryonic and adult stem cells ». *Science* 298(5593): 597-600.

⁴⁸² Fortunel NO, Otu HH, Ng HH, Chen J, Mu X, Chevassut T, Li X, Joseph M, Bailey C, Hatzfeld JA, Hatzfeld A, Usta F, Vega VB, Long PM, Libermann TA and Lim B (2003) « Comment on "'Stemness': transcriptional profiling of embryonic and adult stem cells" and "a stem cell molecular signature" » *Science* 302(5644): 393.

⁴⁸³ On le retrouve en particulier dans les cellules épithéliales différenciées. Pour plus d'informations, voir la page *genetic home references* du gène sur le site web du NIH : <http://ghr.nlm.nih.gov/gene/ITGA6>

⁴⁸⁴ Burns CE and Zon LI (2002) « Portrait of a stem cell » *Dev Cell* 3(5): 612-613 ; Ivanova NB, Dimos JT, Schaniel C, Hackney JA, Moore KA, Ramalho-Santos M, Yoon S, Matsuzaki Y, Mulligan RC, Melton DA and Lemischka IR (2003) « Response to Comments on « 'Stemness': Transcriptional profiling of embryonic and adult stem cells' » and « A stem cell molecular signature » ». *Science* 302(5644): 393d ; Vogel G (2003) « Stem cells. 'Stemness' genes still elusive ». *Science* 302(5644): 371 ; Seaberg RM and van der Kooy D (2003) « Stem and

populations cellulaires testées⁴⁸⁵. Selon cette perspective, la persistance dans la recherche permettra, avec l'amélioration des techniques, de passer du « portrait impressionniste actuel des cellules souches » à un portrait « réaliste »⁴⁸⁶. Mais d'autres ont considéré que les résultats produits par ces études constituaient un véritable défi à l'idée de l'existence d'une signature moléculaire de la propriété souche (*stemness*)⁴⁸⁷. Certains allèrent jusqu'à en conclure « qu'il n'y a rien de tel qu'une propriété souche intrinsèque au niveau moléculaire, si bien que la propriété souche devrait peut-être être considérée comme une propriété relationnelle entre des cellules et leurs microenvironnement générant la fonctionnalité des cellules souches »⁴⁸⁸. Selon cette interprétation, l'incapacité à identifier une signature moléculaire commune aux cellules souches n'est pas imputable aux conditions expérimentales mais découle du fait que la propriété souche n'est pas la propriété essentielle (ou la grappe de propriétés homéostatiques essentielle) d'une espèce naturelle à laquelle toutes les cellules souches appartiendraient.

Ajoutons que, même si (P1) et (P2) étaient corrects, l'identification d'une signature moléculaire spécifique à la propriété souche ne permettrait pas de distinguer *toutes* les cellules souches des cellules non-souches. En effet, une propriété répandue des cellules souches est leur état de quiescence. Or en quiescence, les cellules ne peuvent pas exprimer les gènes spécifiques aux propriétés comme l'auto-renouvellement et la différenciation (qui définissent la propriété souche) car celles-ci implique une division cellulaire. Autrement dit, les cellules souches concernées par la quiescence n'expriment que très rarement leur propriété souche et seraient, par conséquent, rarement porteuses de la signature moléculaire associée à cette propriété. Il en résulte qu'un grand nombre de cellules souches

progenitor cells: the premature desertion of rigorous definitions » *Trends Neurosci* 26(3): 125-131.

⁴⁸⁵ Comme l'a très bien montré Melinda Fagan, « les conclusions sur les cellules souches inférées à partir des résultats obtenues sont soutenus à la mesure de la prémisse selon laquelle les populations de cellules souches utilisées sont des populations pures. Pour les expériences de 2002-2003, individuellement et collectivement, cette prémisse est douteuse. » Fagan M (2013) *Philosophy of Stem Cell Biology: Knowledge in Flesh and Blood*. London: Palgrave-Macmillan, p. 85.

⁴⁸⁶ « current impressionistic portrait of a stem cell may then transform into realism ». Burns CE and Zon LI (2002) « Portrait of a stem cell ». *Dev Cell* 3(5): 612-613, ici p. 613.

⁴⁸⁷ Voir par exemple : Evsikov AV and Solter D (2003) « Comment on « 'Stemness': transcriptional profiling of embryonic and adult stem cells » and « a stem cell molecular signature » » *Science* 302(5644): 393.

⁴⁸⁸ « there is no such thing as intrinsic stemness at the molecular level, such that perhaps stemness should be understood as a relational property between cells and their microenvironment generating the functionality of stem cells ». Robert JS (2004) « Model systems in stem cell biology ». *Bioessays* 26(9): 1005-1012, ici p. 1007.

Je précise que Jason Robert est un philosophe et qu'il s'agit ici de sa propre reformulation de cette interprétation.

ne seraient pas identifiées par cette signature, une critique qui a été particulièrement développée par l'équipe du biologiste Peter Quesenberry, spécialiste du cycle cellulaire⁴⁸⁹.

6.3. Les dogmes de la différenciation remis en cause

Le modèle hiérarchique de différenciation à partir des cellules souches établit deux types de distinctions entre catégories de cellules. D'une part, ce modèle distingue des catégories de cellules en fonction de leur degrés de différenciation : les cellules souches, les progéniteurs et les cellules différenciées (Figure 41, axe vertical). D'autre part, il distingue des catégories de cellules en fonction du type de leur différenciation (Figure 41, Types A, B, C et D, axe horizontal). Deux dogmes correspondent à cela :

(D1) La différenciation se fait à sens unique, des cellules souches vers les cellules différenciées (représenté par les flèches et les sens interdits dans la Figure 41).

(D2) Une fois engagé, le destin cellulaire (*cell fate*) est déterminé (représenté par les barrières oranges et noires dans la Figure 41).

Notons que ces deux dogmes sont particulièrement bien ancrés et font suite à ceux établis par l'embryologie depuis le XVIII^e siècle avec la théorie des feuilletts embryonnaires, selon laquelle le développement est irrévocable, d'une part, et l'embryogenèse produit une réduction des possibles, d'autre part. On se souvient de la remarque de l'embryologiste Theodor Billroth « qu'une cellule du tissu conjonctif ne pouvait pas plus donner naissance à une cellule épithéliale qu'un chien ne peut donner naissance à une grenouille »⁴⁹⁰ (voir chapitre 5 section 5.1.4).

Ces deux dogmes ont été interrogés par un certain nombre de spécialistes des cellules souches suite à l'essor des technologies et l'acquisition de nouvelles données. La dédifférenciation est aujourd'hui possible en laboratoire. Mais, plus encore, elle est susceptible de se produire *in vivo*, interrogeant le dogme de la différenciation à sens unique. De plus, l'observation de phénomène de transdifférenciation, métaplasie et plasticité

⁴⁸⁹ Quesenberry PJ, Colvin G, Dooner G, Dooner M, Aliotta JM and Johnson K (2007) « The stem cell continuum: cell cycle, injury, and phenotype lability » *Ann N Y Acad Sci* 1106: 20-29 ; Quesenberry PJ, Colvin GA and Lambert JF (2002) « The chiaroscuro stem cell: a unified stem cell theory » *Blood* 100(13): 4266-4271 ; Colvin GA, Quesenberry PJ and Dooner MS (2006) « The stem cell continuum: a new model of stem cell regulation » *Handb Exp Pharmacol* 174: 169-183.

⁴⁹⁰ Billroth T (1866) « Kritische und erlaeuternde Bemerkungen zu dem W Werke von Professor C. Thiersch in Erlangen » *Arch. klin. Chirur.* 7: 848-859. Traduction de Rather LJ (1978) *The genesis of cancer. A Study in the History of Ideas*, Baltimore, Johns Hopkins University Press, p. 142.

cellulaire interroge, pour sa part, à la fois le dogme de la différenciation à sens unique et le dogme de la détermination des destins cellulaires.

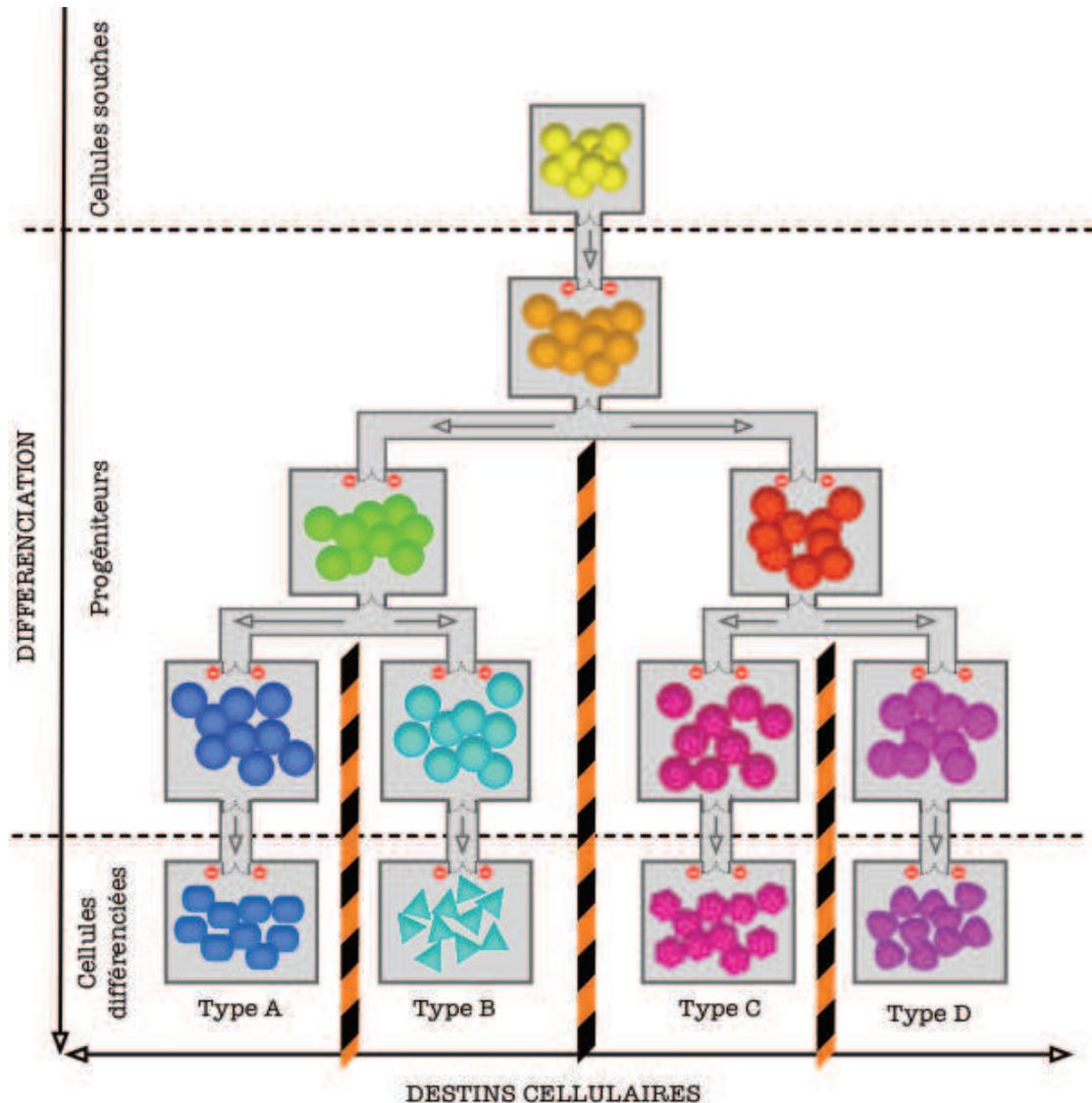


Figure 41. Le modèle de la différenciation et ses dogmes.

6.3.1. Clonage : la différenciation est réversible au niveau du noyau

Le clonage fut la première manipulation cellulaire à semer le doute, en indiquant qu'au niveau des noyaux des cellules la différenciation n'est pas inexorable. En effet, le clonage animal se fait à partir de la transplantation d'un noyau d'une cellule différenciée dans un ovocyte énucléé (on parle de « transfert nucléaire »)⁴⁹¹. La capacité de cet ovocyte, portant le noyau d'une cellule différenciée, à produire un zygote puis un organisme adulte indique une plasticité étonnante de la part d'un noyau supposé avoir atteint l'extrémité

⁴⁹¹ Un ovocyte dont on a enlevé le noyau.

finale du processus développemental de différenciation. Bien que la technique soit plus ancienne, elle fut essentiellement médiatisée, dans et hors de la communauté scientifique, par la naissance de la brebis Dolly en 1996⁴⁹². La très faible efficacité de la technique du clonage poussa certains biologistes à douter de la véritable reprogrammation du noyau. Ces derniers émirent l'hypothèse que les quelques cellules dont le noyau, une fois transplanté, était capable de produire des clones, seraient en fait des cellules souches, présentes en petites quantités dans les tissus adultes. L'argument fut notamment soutenu par Irving Weissman, figure imminente s'il en est de la représentation classique des cellules souches comme espèces naturelles et de la différenciation comme processus unidirectionnel :

Je propose que ni dédifférenciation ni transdifférenciation n'aient eu lieu dans ces cas, mais plutôt que des cellules souches présentes dans des sites inattendus sont responsables.⁴⁹³

En clonant des souris à partir de noyaux de lymphocytes matures, Konrad Hochedlinger et Rudolf Jaenisch, puis l'équipe de Atsuo Ogura (à partir de noyaux de cellules NKT), apportèrent des preuves décisives pour montrer que les noyaux de cellules véritablement différenciées étaient bien reprogrammables et pouvaient donner naissance à des clones⁴⁹⁴.

Notons que, très récemment, l'équipe de Shoukhrat Mitalipov est parvenue à obtenir des lignées stables de cellules souches embryonnaires (ES) humaines par transfert

⁴⁹² Wilmut I, Schnieke AE, McWhir J, Kind AJ and Campbell KH (1997) « Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells » *Nature* 385(6619): 810-813.

Pour une histoire du clonage et de Dolly, voir : Maienschein J (2003) *Whose view of life? Embryos, cloning and stem cells*. Cambridge, London: Harvard University Press.

⁴⁹³ « I propose that neither dedifferentiation nor transdifferentiation occurred in these instances, but rather that stem cells (whether TSCs, SSCs, or PGCs) in unexpected sites are responsible. » Weissman IL (2000) « Stem cells: units of development, units of regeneration, and units in evolution » *Cell* 100(1): 157-168.

La même interprétation a également été proposée par : Liu L (2001) « Cloning efficiency and differentiation » *Nat Biotech* 19(5): 406-406.

⁴⁹⁴ Les réarrangements d'ADN qui ont lieu dans ces cellules sont des marqueurs incontestables de différenciation.

Hochedlinger K and Jaenisch R (2002) « Monoclonal mice generated by nuclear transfer from mature B and T donor cells » *Nature* 415(6875): 1035-1038.

Inoue K, Wakao H, Ogonuki N, Miki H, Seino K-i, Nambu-Wakao R, Noda S, Miyoshi H, Koseki H, Taniguchi M and Ogura A (2005) « Generation of Cloned Mice by Direct Nuclear Transfer from Natural Killer T Cells » *Current Biology* 15(12): 1114-1118.

Les dernières avancées en matière de clonage montrent qu'il est possible de faire des clonages sériels sans décroissance d'efficacité. Une souris a ainsi donné naissance à 500 souris clonées étalées sur 25 générations. Voir Wakayama S, Kohda T, Obokata H, Tokoro M, Li C, Terashita Y, Mizutani E, Nguyen VT, Kishigami S, Ishino F and Wakayama T (2013) « Successful Serial Recloning in the Mouse over Multiple Generations » *Cell Stem Cell* 12(3): 293-297.

nucléaire⁴⁹⁵. Une réussite qui rouvre les débats autour du clonage, bien qu'à l'heure actuelle, un défaut affectant le placenta empêche l'implantation de l'embryon dans l'endomètre de l'utérus, rendant impossible le développement⁴⁹⁶.

6.3.2. Cellules souches pluripotentes induites (iPS) : les cellules différenciées peuvent donner des cellules souches en laboratoire

La production de cellules souches pluripotentes induites (cellules iPS) a, plus récemment, incontestablement, produit une brèche dans le principe de la différenciation irrévocable⁴⁹⁷. Les cellules iPS sont des cellules souches pluripotentes produites en laboratoire à partir de cellules somatiques différenciées (des fibroblastes, par exemple). Le relevé de presse concernant le Prix Nobel attribué à Shinya Yamanaka et John Gordon⁴⁹⁸ pour cette technique révèle l'ampleur de la brèche :

Ces découvertes révolutionnaires ont complètement changé notre vision du développement et de la spécialisation cellulaire. Nous comprenons maintenant que la cellule mature n'est pas nécessairement confinée à jamais à son état spécialisé.⁴⁹⁹

Techniquement, les cellules iPS peuvent être obtenues par différents protocoles expérimentaux. Celui de Shinya Yamanaka consistait à induire la pluripotence par l'injection d'un cocktail de gènes (Oct4, Sox2, c-Myc, Klf4) par l'intermédiaire de vecteurs viraux, des rétrovirus⁵⁰⁰. Depuis les techniques ont évolué et se sont diversifiées. Plusieurs

⁴⁹⁵ Tachibana M, Amato P, Sparman M, Gutierrez NM, Tippner-Hedges R, Ma H, Kang E, Fulati A, Lee H-S, Sritanaudomchai H, Masterson K, Larson J, Eaton D, Sadler-Fredd K, Battaglia D, Lee D, Wu D, Jensen J, Patton P, Gokhale S, Stouffer RL, Wolf D and Mitalipov S « Human Embryonic Stem Cells Derived by Somatic Cell Nuclear Transfer » *Cell* 153(6): 1228-1238.

⁴⁹⁶ Vogel G (2013) « Human Stem Cells From Cloning, Finally » *Science* 340(6134): 795.

⁴⁹⁷ Pour une présentation accessible des iPS, voir l'article de Laure Coulombel dans *Médecine/Science* : Coulombel L (2007) « Reprogrammation nucléaire d'une cellule différenciée. On efface tout et on recommence ». *Med Sci* 23(6-7): 667-70.

⁴⁹⁸ Notons que le Prix Nobel suggère ici une reconnaissance de paternité menant du clonage (John Gordon) aux cellules iPS (Shinya Yamanaka).

⁴⁹⁹ « These groundbreaking discoveries have completely changed our view of the development and cellular specialisation. We now understand that the mature cell does not have to be confined forever to its specialised state. »

« The 2012 Nobel Prize in Physiology or Medicine - Press Release ». Nobelprize.org. 7 Mar 2013 http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2012/press.html

⁵⁰⁰ Les rétrovirus font partie des vecteurs viraux les plus communément utilisés en recherche médicale, notamment pour les thérapies géniques. Ces virus intègrent leur ADN dans leurs cellules hôtes de manière stable.

combinaisons de gènes sont possibles. Les proto-oncogènes c-Myc et Klf, ne sont pas nécessaires⁵⁰¹. Ils peuvent par ailleurs être remplacés, notamment par Nanog et LIN28⁵⁰². Il est possible d'utiliser d'autres types de vecteurs viraux tels que des lentivirus⁵⁰³ ou des adénovirus⁵⁰⁴ et d'utiliser des micro-ARN pour améliorer l'efficacité du protocole⁵⁰⁵. Il est également possible de se passer de vecteurs viraux et d'utiliser des plasmides⁵⁰⁶, ou encore de se passer d'ADN et d'utiliser des protéines⁵⁰⁷. Plusieurs sources de cellules différenciées

Takahashi K and Yamanaka S (2006) « Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors » *Cell* 126(4): 663-676 ; Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K and Yamanaka S (2007) « Induction of Pluripotent Stem Cells from Adult Human Fibroblasts by Defined Factors » *Cell* 131(5): 861-872 ; Okita K, Ichisaka T and Yamanaka S (2007) « Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells » *Nature* 448(7151): 313-317.

⁵⁰¹ Silva J, Barrandon O, Nichols J, Kawaguchi J, Theunissen TW, et al. (2008) « Promotion of Reprogramming to Ground State Pluripotency by Signal Inhibition ». *PLoS Biol* 6(10): e253.

⁵⁰² Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, Antosiewicz-Bourget J, Frane JL, Tian S, Nie J, Jonsdottir GA, Ruotti V, Stewart R, Slukvin, II and Thomson JA (2007) « Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells » *Science* 318(5858): 1917-1920.

⁵⁰³ Les lentivirus font partie de la famille des rétrovirus. Ces virus, à la différence des autres rétrovirus, peuvent également transfecter des cellules ne se divisant pas.

Voir par exemple : Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, Antosiewicz-Bourget J, Frane JL, Tian S, Nie J, Jonsdottir GA, Ruotti V, Stewart R, Slukvin, II and Thomson JA (2007) « Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells » *Science* 318(5858): 1917-1920.

⁵⁰⁴ Les adénovirus ont l'avantage de ne pas incorporer leur gène dans le génome de leurs cellules hôtes. Cela permet d'éviter des insertions mutagènes et les risques de cancers associés. Voir : Stadtfeld M, Nagaya M, Utikal J, Weir G and Hochedlinger K (2008) « Induced Pluripotent Stem Cells Generated Without Viral Integration » *Science* 322(5903): 945-949 ; Zhou W and Freed CR (2009) « Adenoviral gene delivery can reprogram human fibroblasts to induced pluripotent stem cells » *Stem Cells* 27(11): 2667-2674.

⁵⁰⁵ Les micro-ARN sont des ARN courts (une vingtaine de nucléotides). Ici ils sont utilisés pour réprimer la production de protéines qui représentent des freins à la reprogrammation.

Voir par exemple : Judson RL, Babiarz JE, Venen M and Blelloch R (2009) « Embryonic stem cell-specific microRNAs promote induced pluripotency » *Nat Biotechnol* 27(5): 459-461 ; Yang CS, Li Z and Rana TM (2011) « microRNAs modulate iPS cell generation » *RNA* 17(8): 1451-1460.

⁵⁰⁶ Ce sont des molécules d'ADN surnuméraires (hors de l'ADN des chromosomes et non-essentiels à la survie de la cellule) capables de se répliquer. Pour les iPS plusieurs plasmides contenant l'ADN complémentaires des gènes Oct3/4, Sox 2, Klf4 et c-Myc ont été utilisés. Une fois intégrés par la cellule, ils sont à l'origine de la production des facteurs de transcriptions qui leur correspondent.

Pour une revue de littérature, voir : Okita K, Nakagawa M, Hyenjong H, Ichisaka T and Yamanaka S (2008) « Generation of mouse induced pluripotent stem cells without viral vectors » *Science* 322(5903): 949-953.

⁵⁰⁷ Zhou H, Wu S, Joo JY, Zhu S, Han DW, Lin T, Trauger S, Bien G, Yao S, Zhu Y, Siuzdak G, Schöler HR, Duan L and Ding S (2009) « Generation of Induced Pluripotent Stem Cells Using Recombinant Proteins » *Cell Stem Cell* 4(5): 381-384.

Voir aussi : Bru T, Clarke C, McGrew MJ, Sang HM, Wilmut I and Blow JJ (2008) « Rapid induction of pluripotency genes after exposure of human somatic cells to mouse ES cell extracts » *Experimental Cell Research* 314(14): 2634-2642.

sont possibles, notamment les cellules épithéliales rénales exfoliées présentes dans l'urine, qui, en plus d'être une source facile d'accès, présentent un bon rendement⁵⁰⁸.

La production des cellules iPS demeure mystérieuse. Nul ne sait comment ni pourquoi certaines cellules produisent⁵⁰⁹ des cellules iPS alors que d'autres non. D'un côté, le faible taux de réussite indique l'existence d'un facteur causal inconnu. De l'autre, la relative efficacité du processus et la variabilité des paramètres expérimentaux sont interprétées par certains, notamment Dov Zipori, comme une preuve de la conservation d'une capacité fondamentale des cellules différenciées à retourner à l'état souches. Selon Dov Zipori, de tels résultats ne peuvent être obtenus que si « les cellules, même les plus matures, sont équipées d'une machinerie de 'retour à l'état souche' »⁵¹⁰.

6.3.3. Régénération et dédifférenciation : les cellules différenciées peuvent donner des cellules souches *in vivo*.

Certains diront qu'il s'agit là de phénomènes hautement artificiels dont on ne peut tirer aucune conclusion concernant la nature et les compétences des cellules *in vivo*. Cette critique s'effondre face à la conception commune de la régénération selon laquelle cette dernière pourrait impliquer une première phase de dédifférenciation avant la phase de régénération à proprement parler.

Le poisson zèbre, par exemple, peut supporter une amputation cardiaque allant jusqu'à 20%. Après une telle amputation, le processus de régénération nécessite une première phase de dédifférenciation des cardiomyocytes⁵¹¹ caractérisée par la perte de contact cellulaire, la déstructuration des structures et enfin un retour dans le cycle cellulaire⁵¹². Le poisson zèbre peut également régénérer sa rétine par dédifférenciation des

⁵⁰⁸ Zhou T, Benda C, Dunzinger S, Huang Y, Ho JC, Yang J, Wang Y, Zhang Y, Zhuang Q, Li Y, Bao X, Tse H-F, Grillari J, Grillari-Voglauer R, Pei D and Esteban MA (2012) « Generation of human induced pluripotent stem cells from urine samples » *Nat. Protocols* 7(12): 2080-2089.

⁵⁰⁹ J'écris « produire » car les protocoles passent tous par une période de culture cellulaire. Il semble donc hautement probable que la production de cellules iPS passe par la division cellulaire (une cellule différenciée se diviserait et donnerait des cellules filles indifférenciées). Cependant, il n'est pas impossible que la transition se produise sans division.

⁵¹⁰ « This would occur only if, a priori, cells, even completely mature ones, would be equipped with a "return to the stem state" (RtSS) machinery ». Zipori D (2009) *Biology of Stem Cells and the Molecular Basis of the Stem State*. Dordrecht, Heidelberg, London, New York : Humana Press, p. 202, 203.

⁵¹¹ Les cardiomyocytes sont les cellules contractiles des muscles cardiaques.

⁵¹² Jopling C, Sleep E, Raya M, Marti M, Raya A and Izpisua Belmonte JC (2010) « Zebrafish heart regeneration occurs by cardiomyocyte dedifferentiation and proliferation » *Nature* 464(7288): 606-609 ; Kikuchi K, Holdway JÉ, Werdich AA, Anderson RM, Fang Y, Egnaczyk

cellules de Müller, des cellules gliales (cellules de soutien) présentes dans la rétine des vertébrés⁵¹³.

La régénération des membres chez les amphibiens urodèles semble également impliquer un processus préalable de dédifférenciation menant à la constitution d'un « blastème », c'est-à-dire d'un groupe de cellules indifférenciées, à partir duquel la régénération du membre perdu se produit⁵¹⁴. Au moins trois types de cellules différenciées pourraient se dédifférencier pour former le blastème : les fibroblastes⁵¹⁵, les kératinocytes⁵¹⁶ et les myotubes⁵¹⁷.

Chez les mammifères, les cellules de Schwann sont également associées à une capacité régénérative passant par une dédifférenciation préalable. Cette dédifférenciation est caractérisée par une perte de contact avec l'axone, la réexpression de gènes associés aux cellules progénitrices de Schwann et un retour à la prolifération⁵¹⁸.

Il faut toutefois indiquer qu'à l'examen, la notion de dédifférenciation employée dans ces travaux est excessivement floue. D'une part, le retour à l'état souche n'est pas démontré. La dédifférenciation pourrait simplement indiquer un « retour vers un stade moins différencié » sans impliquer un retour à l'état souche⁵¹⁹. D'autre part, la

GF, Evans T, Macrae CA, Stainier DY and Poss KD (2010) « Primary contribution to zebrafish heart regeneration by gata4(+) cardiomyocytes » *Nature* 464(7288): 601-605.

⁵¹³ Bernardos RL, Barthel LK, Meyers JR and Raymond PA (2007) « Late-stage neuronal progenitors in the retina are radial Muller glia that function as retinal stem cells » *J Neurosci* 27(26): 7028-7040 ; Ramachandran R, Fausett BV and Goldman D (2010) « Ascl1a regulates Muller glia dedifferentiation and retinal regeneration through a Lin-28-dependent, let-7 microRNA signalling pathway » *Nat Cell Biol* 12(11): 1101-1107 ; Wan J, Ramachandran R and Goldman D (2012) « HB-EGF is necessary and sufficient for Muller glia dedifferentiation and retina regeneration » *Dev Cell* 22(2): 334-347.

⁵¹⁴ Nye HL, Cameron JA, Chernoff EA and Stocum DL (2003) « Regeneration of the urodele limb: a review ». *Dev Dyn* 226(2): 280-294.

⁵¹⁵ Satoh A, Bryant SV and Gardiner DM (2008) « Regulation of dermal fibroblast dedifferentiation and redifferentiation during wound healing and limb regeneration in the Axolotl ». *Dev Growth Differ* 50(9): 743-754.

⁵¹⁶ Satoh A, Graham GM, Bryant SV and Gardiner DM (2008) « Neurotrophic regulation of epidermal dedifferentiation during wound healing and limb regeneration in the axolotl (*Ambystoma mexicanum*) ». *Dev Biol* 319(2): 321-335.

⁵¹⁷ Echeverri K, Clarke JD and Tanaka EM (2001) « In vivo imaging indicates muscle fiber dedifferentiation is a major contributor to the regenerating tail blastema ». *Dev Biol* 236(1): 151-164.

⁵¹⁸ Chen ZL, Yu WM and Strickland S (2007) « Peripheral regeneration ». *Annu Rev Neurosci* 30: 209-233.

⁵¹⁹ Ainsi, Chris Jopling et al définissent la dédifférenciation comme ceci : « One of the mechanisms associated with natural regeneration is dedifferentiation, which involves a terminally differentiated cell reverting back to a less-differentiated stage from within its own lineage. » Jopling C, Boue S and Izpisua Belmonte JC (2011) « Dedifferentiation, transdifferentiation and reprogramming: three routes to regeneration ». *Nat Rev Mol Cell Biol* 12(2): 79-89, ici p. 79.

dédifférenciation est souvent définie par un retour au cycle cellulaire de cellules différenciées post-mitotiques. Or, le retour au cycle cellulaire n'implique pas nécessairement un retour à l'état souche, ni même un retour vers un quelconque stade de différenciation antérieur. Il pourrait s'agir d'un état tout à fait distinct de tout autre état connu par les cellules lors du développement non-régénératif.

La régénération a été comparée à la reprogrammation des cellules iPS. L'équipe de Juan Carlos Izpisua Belmonte a ainsi comparé le profil d'expression de facteurs associés à la pluripotence de cellules du blastème au profil d'expression de ces facteurs dans les cellules embryonnaires pluripotentes chez le xénope et le poisson zèbre⁵²⁰. Leur comparaison montre à la fois un certain nombre de différences, notamment dans les gènes surexprimés et dans le cycle cellulaire, et une similitude fonctionnelle, notamment dans l'implication de deux facteurs de transcription, *pou5f1* (plus connu sous le nom de Oct4 pour les iPS) et *Sox2*. Ainsi, les cellules du blastème, chez ces deux organismes modèles, présentent un cycle cellulaire plus proche de celui des cellules somatiques que de celui des cellules embryonnaires pluripotentes et ne surexpriment pas les gènes surexprimés dans les cellules embryonnaires témoins. Toutefois, l'expression des gènes *pou5f1/Oct4* et *Sox2*, deux des quatre gènes utilisés pour la production des cellules iPS, semblent nécessaires à la constitution du blastème et au bon déroulement de la régénération. Ces résultats tendent à indiquer l'existence d'un phénomène de dédifférenciation et reprogrammation partielle des cellules. Des résultats similaires ont été obtenus pour la régénération des membres chez l'Axolotl⁵²¹.

L'étude de la régénération, quoique les données restent trop partielles, pointe du doigt la possibilité d'une dédifférenciation au moins partielle des cellules différenciées, indiquant que la différenciation ne serait pas nécessairement une voie à sens unique *in vivo*. Peu d'informations, néanmoins, sont disponibles concernant les facteurs impliqués dans l'induction de ce phénomène de dédifférenciation. On peut s'interroger par exemple sur la différence entre les espèces : pourquoi les cellules gliales de Müller pourraient se

Le blastème était traditionnellement considéré comme une population homogène de cellules souches pluripotentes. Cette hypothèse a été remise en question par des études récentes montrant qu'il y aurait plusieurs sous-populations distinctes de cellules impliquées dans la régénération des différents tissus du membre perdu. Kragl M, Knapp D, Nacu E, Khattak S, Maden M, Epperlein HH and Tanaka EM (2009) « Cells keep a memory of their tissue origin during axolotl limb regeneration ». *Nature* 460(7251): 60-65.

⁵²⁰ Christen B, Robles V, Raya M, Paramonov I and Izpisua Belmonte JC (2010) « Regeneration and reprogramming compared ». *BMC Biol* 8: 5.

⁵²¹ Voir : Zhu W, Pao GM, Satoh A, Cummings G, Monaghan JR, Harkins TT, Bryant SV, Randal Voss S, Gardiner DM and Hunter T (2012) « Activation of germline-specific genes is required for limb regeneration in the Mexican axolotl ». *Dev Biol* 370(1): 42-51.

dédifférencier chez le poisson zèbre mais pas chez la souris ? Dunja Knapp et Elly Tanaka évoquent le rôle possible du microenvironnement cellulaire, qui pourrait « restreindre leur potentiel »⁵²².

6.3.4. Niche et dédifférenciation

A propos du rôle du microenvironnement, celui-ci a également été impliqué dans des processus de dédifférenciation. Plus précisément, je distinguerai une version faible et version forte de l'hypothèse de la niche des cellules souches, la version forte se distinguant par l'idée que la niche peut induire la dédifférenciation.

Le microenvironnement et la niche cellulaire sont des concepts qui connaissent un succès grandissant⁵²³. Selon l'hypothèse de la niche cellulaire, d'abord formulée par Ray Schofield à la fin des années 1970 en écho aux théories écologiques et évolutives de la niche⁵²⁴, puis maintes fois reprise depuis, les propriétés des cellules souches (certaines, aux moins) sont régulées par leur environnement direct. Cet environnement, ou plus précisément « microenvironnement », consiste en une structure appelée « niche » contenant une cellule souche, une « cellule de soutien » à laquelle adhère la cellule souche et tous les facteurs solubles localisés à proximité de la cellule souche⁵²⁵. Ceci constitue la 'version faible' de l'hypothèse de la niche. Les données en faveur de l'existence et du rôle de la

⁵²² « So, why do mouse Müller glia fail to reprogram fully like in zebrafish ? Is it an intrinsic property of the cells or does the environment restricts their potential? » Knapp D and Tanaka EM (2012) « Regeneration and reprogramming » *Curr Opin Genet Dev* 22(5): 485-493, ici p. 490.

⁵²³ Les notions de micro-environnement et de niche cellulaire sont souvent considérées comme équivalentes, sachant qu'aucune des deux ne dispose d'une définition robuste.

⁵²⁴ Voir Pocheville A (2009) « La niche écologique : histoires et controverses récentes », chapitre 27, pp. 629-656, in Heams T, Huneman P, Lecointre G, Silberstein M (eds) *Les Mondes darwiniens. L'évolution de l'évolution*. Paris Syllepse ; Pocheville A (2010). *La niche écologique. Concepts, modèles, applications*. Thèse de doctorat en Sciences de la Vie et de la Santé. Paris, Ecole Normale Supérieure ; Powell K (2005) « Stem-cell niches: it's the ecology, stupid! » *Nature* 435(7040): 268-270.

Notons que Ray Schofield ne mentionne pas la notion de niche écologique dans ses articles formulant l'hypothèse de la niche cellulaire. Toutefois, la relation indiquée par Pocheville et Powell semble raisonnable. Ray Schofield a vraisemblablement lu Darwin. La discussion qui suit l'article publié en 1978 peut en attester. Par ailleurs, l'importation de la notion non-scientifique de niche dans le domaine scientifique impliquerait une description d'ordre métaphorique ou analogique, ce qui n'est pas le cas.

⁵²⁵ Voir par exemple la définition de : Guasch G and Blanpain C (2004) « Les cellules souches épidermiques organisent leur niche » *Med Sci* 20(3): 265-267. « Les cellules souches résident dans un micro-environnement particulier appelé « niche ». Cette niche comprend les cellules souches elles-mêmes, des cellules de soutien, des facteurs solubles et la proximité cellulaire favorise les interactions des cellules entre elles et avec les matrices extracellulaires. L'ensemble de ces différents facteurs permet de contrôler la prolifération, la migration et la différenciation des cellules souches. » (p. 265).

niche des cellules souches s'accumulent. Les exemples qui suivent en témoignent. Ils montrent que l'auto-renouvellement, la différenciation, la division asymétrique, la quiescence et, plus généralement, la capacité développementale et régénérative des cellules souches, sont régulés par la niche, au moins pour certaines cellules souches et dans certaines espèces. Beaucoup de questions restent cependant en suspens, notamment concernant les différences possibles entre types de cellules souches ou encore entre espèces. L'universalité du rôle de la niche à l'égard des cellules souches est encore à démontrer et fait l'objet de scepticismes divers dans la communauté scientifique.

L'étude de la niche des cellules souches dans les organismes modèles *Drosophila melanogaster* et *Caenorhabditis elegans* montre que les cellules de support, qui sont adjacentes aux cellules souches, sécrètent des facteurs qui sont requis pour le maintien de l'identité des cellules souches et pour spécifier l'auto-renouvellement des cellules souches. Ainsi, le maintien et la division des cellules souches germinales chez les drosophiles femelles sont régulés par des facteurs de croissance tels que la protéine dpp (decapentaplegic), un homologue de BMP2/4 exprimé par les cellules de la coiffe (*Hub cell*), qui d'une part active la division cellulaire et d'autre part prévient la différenciation⁵²⁶. Chez les mâles, les cellules de la coiffe expriment le facteur Upd (Unpaired) qui active la voie de signalisation JAK-STAT des cellules souches, absolument nécessaire à leur auto-renouvellement (sans l'activation de cette voie de signalisation, les cellules souches germinales se différencient)⁵²⁷.

La niche cellulaire pourrait également maintenir les cellules souches en quiescence, c'est-à-dire les empêcher de se diviser⁵²⁸. A titre d'exemple, la Figure 42 illustre ce phénomène d'induction de la quiescence par la niche pour le cas des cellules souches hématopoïétiques.

⁵²⁶ Xie T and Spradling AC (1998) « decapentaplegic is essential for the maintenance and division of germline stem cells in the *Drosophila* ovary ». *Cell* 94(2): 251-260.

⁵²⁷ Kiger AA, Jones DL, Schulz C, Rogers MB and Fuller MT (2001) « Stem cell self-renewal specified by JAK-STAT activation in response to a support cell cue ». *Science* 294(5551): 2542-2545 ; Tulina N and Matunis E (2001) « Control of stem cell self-renewal in *Drosophila* spermatogenesis by JAK-STAT signaling ». *Science* 294(5551): 2546-2549.

⁵²⁸ Pour une revue de littérature, voir : Arai F and Suda T (2008) « Quiescent stem cells in the niche ». In StemBook (ed), *The Stem Cell Research Community*; StemBook, doi/10.3824/stembook.1.6.1, <http://www.stembook.org>

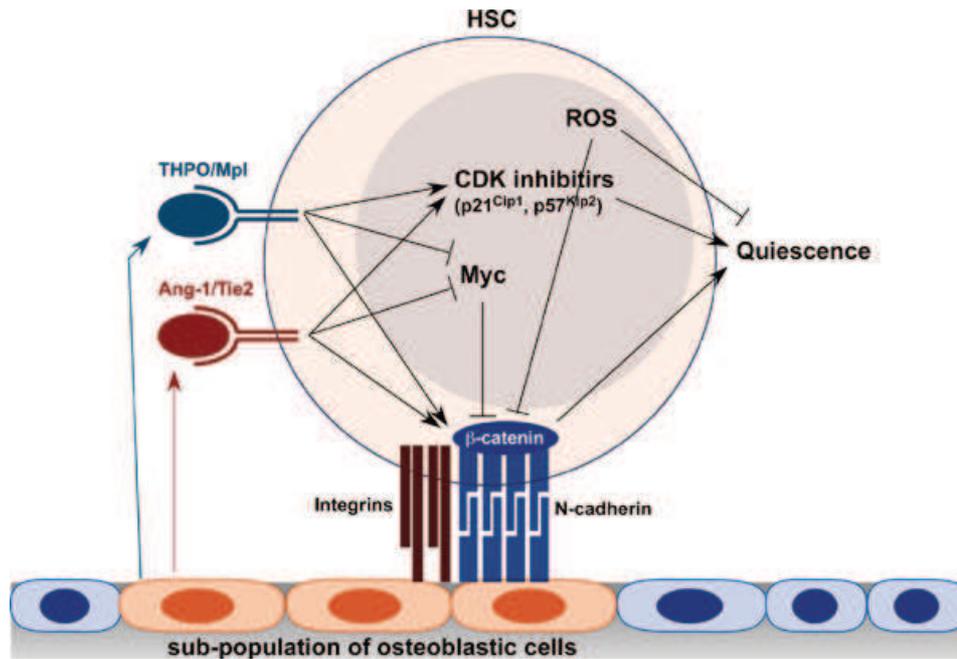


Figure 42. La quiescence est une propriété dynamique induite par la niche, Arai & Suda (2008)⁵²⁹. Légende d'origine : « Rôle de la niche ostéoblastique dans la régulation de la quiescence des cellules souches hématopoïétiques (CSH). A. les signaux Tie2/Ang-1 et Mpl/THPO entre les CSH et la niche ostéoblastique induisent la quiescence des CSH à travers l'activation des molécules d'adhésion cellulaire telles que β 1-intégrin et N-cadherin, et les inhibiteurs CDK tels que Cip1p21Cip1 et Kip2p57Kip2. B. Les molécules d'adhésion cellulaire régulent à la fois l'ancrage des CSH dans la niche et la quiescence des HSC dans la niche. C. Myc régule négativement les molécules d'adhésion cellulaire, de ce fait, Myc peut être un médiateur négatif en aval de la signalisation des cytokines. D. L'accumulation de ROS dans les CSH affecte négativement l'adhésion cellulaire et réduit la quiescence ».

L'Angiopoïétine-1 (Ang-1) et la Thrombopoïétine (THPO) produites par les cellules stromales et mésenchymateuses formant la niche des cellules souches hématopoïétiques se lient aux récepteurs Tie-2 et Mpl respectivement. Cette activation des récepteurs résulte d'une part en l'activation de l'expression de la β -caténine (une protéine de liaison) et des répresseurs de CDK qui induisent la quiescence. D'autre part, elle réprime l'expression de Myc qui régule la production de la β -caténine⁵³⁰. A l'inverse, l'expression de

⁵²⁹ Arai F and Suda T (2008) « Quiescent stem cells in the niche ». In StemBook (ed), *The Stem Cell Research Community, StemBook*, doi/10.3824/stembook.1.6.1, <http://www.stembook.org>. (ici, Figure 2). Légende : « Role of the osteoblastic niche in the regulation of HSC quiescence. a. Tie2/Ang-1 and Mpl/THPO signaling between HSCs and osteoblastic niche induced quiescence of HSC through the activation of cell adhesion molecules such as β 1-integrin and N-cadherin, and CDK inhibitors such as Cip1p21Cip1 and Kip2p57Kip2. b. Cell adhesion molecules regulate both the anchoring of HSCs to the niche and cell cycle quiescence of HSCs in the niche. c. Myc negatively regulates cell adhesion molecules, therefore, Myc may be a negative mediator downstream of cytokine signaling. d. Accumulation of ROS in HSCs negatively affects cell adhesion and reduced quiescence.

⁵³⁰ Pour le rôle de l'angiopoïétine dans l'activation/maintien de la quiescence des cellules souches hématopoïétiques, voir : Arai F, Hirao A, Ohmura M, Sato H, Matsuoka S, Takubo K, Ito K, Koh GY and Suda T (2004) « Tie2/Angiopoietin-1 Signaling Regulates Hematopoietic Stem Cell Quiescence in the Bone Marrow Niche » *Cell* 118(2): 149-161.

la protéine Wnt par les cellules du microenvironnement induit l'auto-renouvellement de la cellule souche : la protéine Wnt se lie au complexe de récepteurs LRP5 et/ou 6 induisant, par une cascade moléculaire, la stabilisation de la production de β -caténine qui s'accumule et induit l'auto-renouvellement (à travers l'activation de gène cible par la β -caténine)⁵³¹.

L'adhésion cellulaire à une cellule stromale de support ou à la lame basale permet, d'une part, le maintien de la cellule souche dans la niche et participe, d'autre part, à la régulation de son activité⁵³². Elle peut, notamment, orienter le fuseau mitotique⁵³³ lors de la division cellulaire, de sorte qu'une cellule fille reste dans la niche tandis que la seconde en sort. C'est, par exemple, le cas dans les ovaires et les testicules des drosophiles. Les cellules de la niche (cellules de la coiffe) expriment des protéines (la protéine Hts, pour les femelles, et la protéine de liaison E-cadherin à laquelle se lierait la protéine Apc2, pour les mâles) qui jouent un rôle crucial dans l'ancrage d'un pôle du fuseau mitotique (un centrosome) en direction des cellules de la coiffe (voir Figure 43). Par conséquent, lors de la division cellulaire, une cellule fille reste dans la niche tandis que l'autre se retrouve à distance⁵³⁴. La

Le même rôle a été identifié pour les cellules souches musculaires : Abou-Khalil R, Le Grand F, Pallafacchina G, Valable S, Authier Fo-Jrm, Rudnicki MA, Gherardi RK, Germain Sp, Chretien F, Sotiropoulos A, Lafuste P, Montarras D and Chazaud Bnd (2009) « Autocrine and Paracrine Angiopoietin 1/Tie-2 Signaling Promotes Muscle Satellite Cell Self-Renewal » *Cell Stem Cell* 5(3): 298-309 ; Abou-Khalil R, Partridge T, Chazaud B (2010) « Les cellules du muscle chantent en chœur une berceuse pour cellules souches » *Médecine/Science* 26(6-7): 589-591.

Pour le rôle de la thrombopoïétine dans l'activation de la quiescence des cellules souches/maintien de la quiescence des cellules souches hématopoïétiques postes-natales, voir : Qian H, Buza-Vidas N, Hyland CD, Jensen CT, Antonchuk J, Mansson R, Thoren LA, Ekblom M, Alexander WS and Jacobsen SEW (2007) « Critical Role of Thrombopoietin in Maintaining Adult Quiescent Hematopoietic Stem Cells » *Cell Stem Cell* 1(6): 671-684 ; Yoshihara H, Arai F, Hosokawa K, Hagiwara T, Takubo K, Nakamura Y, Gomei Y, Iwasaki H, Matsuoka S, Miyamoto K, Miyazaki H, Takahashi T and Suda T (2007) « Thrombopoietin/MPL Signaling Regulates Hematopoietic Stem Cell Quiescence and Interaction with the Osteoblastic Niche » *Cell Stem Cell* 1(6): 685-697.

⁵³¹ Voir Reya T, Duncan AW, Ailles L, Domen J, Scherer DC, Willert K, Hintz L, Nusse R and Weissman IL (2003) « A role for Wnt signalling in self-renewal of haematopoietic stem cells » *Nature* 423(6938): 409-414 ; Clevers H (2006) « Wnt/beta-catenin signaling in development and disease ». *Cell* 127: 469 480 ; Nishikawa S and Osawa M (2007) « Generating quiescent stem cells ». *Pigment Cell Res* 20: 263 270 ; Suda T and Arai F (2008) « Wnt signaling in the niche ». *Cell* 132: 729 730 ; Blanpain C (2007) « Importance de la voie de signalisation Wnt/ β -caténine dans l'identité, l'activation et la différenciation des cellules souches épidermiques » *Med Sci* 23(1): 34-36.

⁵³² Pour une revue de littérature, voir : Yamashita YM (2010) « Cell adhesion in regulation of asymmetric stem cell division » *Curr Opin Cell Biol* 22(5): 605-610.

⁵³³ Les fuseaux mitotiques (*spindle*) permettent la migration des chromosomes lors de la division cellulaire.

⁵³⁴ Deng W and Lin H (1997) « Spectrosomes and fusomes anchor mitotic spindles during asymmetric germ cell divisions and facilitate the formation of a polarized microtubule array for oocyte specification in *Drosophila* ». *Dev Biol* 189(1): 79-94 ; Yamashita YM, Jones DL and

cellule qui reste dans la niche demeure sous l'influence de l'activateur de la voie de signalisation JAK-STAT et conserve l'identité souche alors que celle qui en sort s'engage dans la différenciation (cf ci-dessus pour la voie JAK-STAT). L'orientation de la division cellulaire par la niche a aussi été observée chez les mammifères, en particulier dans l'épithélium⁵³⁵ et dans les muscles striés⁵³⁶.

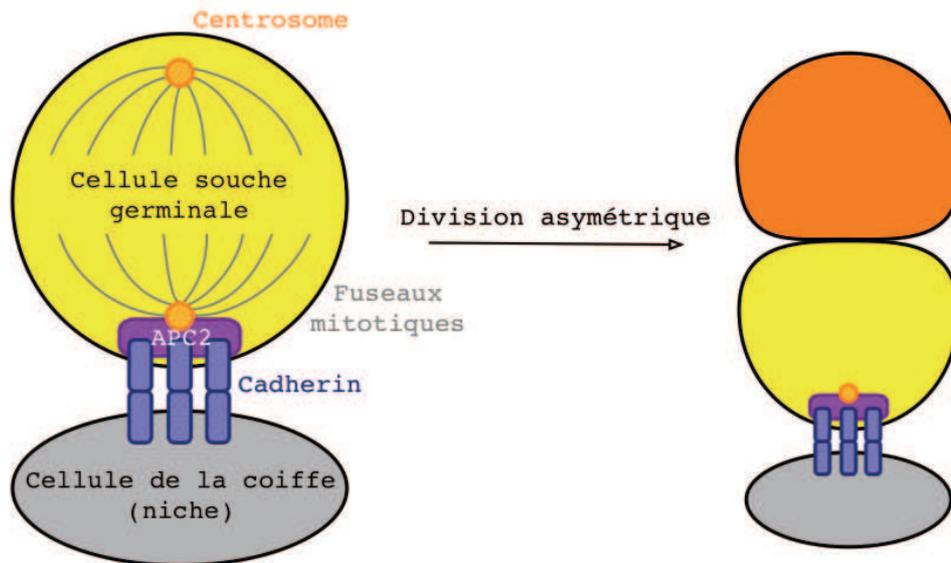


Figure 43. Adhésion cellulaire: exemple simplifié des cellules souches germinales chez les femelles *Drosophila melanogaster*.

La niche pourrait également inclure des facteurs mécaniques. L'élasticité ou la rigidité du microenvironnement pourrait avoir des conséquences sur les fonctions des cellules souches en participant notamment à la détermination du destin cellulaire. Les travaux de l'équipe de Dennis Discher ont ainsi montré que les cellules souches mésenchymateuses se différenciaient différemment en fonction du milieu de culture. Dans

Fuller MT (2003) « Orientation of asymmetric stem cell division by the APC tumor suppressor and centrosome ». *Science* 301(5639): 1547-1550.

Notons qu'il a également été montré que chez les drosophiles femelles la perte de la cadherin, nécessaire à l'adhésion cellulaire, entraîne la perte des cellules souches germinales. Voir : Song X and Xie T (2002) « DE-cadherin-mediated cell adhesion is essential for maintaining somatic stem cells in the *Drosophila* ovary ». *Proc Natl Acad Sci U S A* 99(23): 14813-14818 ; Song X, Zhu CH, Doan C and Xie T (2002) « Germline stem cells anchored by adherens junctions in the *Drosophila* ovary niches ». *Science* 296(5574): 1855-1857.

⁵³⁵ Pour un exemple chez l'humain, voir : Seery JP and Watt FM (2000) « Asymmetric stem-cell divisions define the architecture of human oesophageal epithelium ». *Curr Biol* 10(22): 1447-1450.

Pour un exemple chez la souris, voir : Lechler T and Fuchs E (2005) « Asymmetric cell divisions promote stratification and differentiation of mammalian skin ». *Nature* 437(7056): 275-280.

⁵³⁶ Kuang S, Kuroda K, Le Grand F and Rudnicki MA (2007) « Asymmetric self-renewal and commitment of satellite stem cells in muscle » *Cell* 129(5): 999-1010, voir en particulier pp. 1003-1005.

un milieu élastique mimant l'environnement cérébral, les cellules souches mésenchymateuses se différenciaient en neurones. Dans un milieu rigide mimant l'environnement osseux, elles se différenciaient en ostéoblastes. Dans un milieu intermédiaire semblable au muscle, elles se différenciaient en cellules myogéniques⁵³⁷.

Enfin, les études sur le vieillissement ont également attiré l'attention sur la niche. Une hypothèse en vogue postule que les cellules souches auraient l'âge de leur niche⁵³⁸. Des expériences chez la souris ont montré que la transplantation de cellules souches jeunes dans des testicules atrophiés de souris âgées (2 ans) ne parvenait pas à régénérer la spermatogenèse, dénotant le rôle du microenvironnement⁵³⁹. Des résultats similaires avaient été obtenus pour les cellules satellites des muscles striés chez les rats⁵⁴⁰ et les souris⁵⁴¹. De plus, Irina Conboy a montré que l'activité des satellites « âgés » et leur capacité régénérative peuvent être restaurées en forçant l'activité de la voie Notch, « démontrant que la capacité régénérative intrinsèque des satellites âgés reste intacte »⁵⁴². Les travaux qu'elle a menés avec son équipe ont également conduit à mettre en évidence le rôle d'un environnement systémique, plutôt qu'un microenvironnement (ou confinement à la niche cellulaire), dans la détermination de l'activité des cellules souches musculaires. L'établissement de parabioses entre souris jeunes et âgées (qui consiste à joindre les systèmes circulatoires de deux animaux) et l'exposition *in vitro* de cellules satellites âgées à un sérum de souris jeune (et vice-versa) module le comportement de ces cellules souches, indiquant la présence de facteurs déterminants dans le système circulatoire⁵⁴³.

⁵³⁷ Engler AJ, Sen S, Sweeney HL and Discher DE (2006) « Matrix elasticity directs stem cell lineage specification ». *Cell* 126(4): 677-689.

⁵³⁸ Voir la revue de littérature : Lataillade JJ, Brunet de la Grange P, Uzan G and Le Bousse-Kerdiles MC (2010) « Les cellules souches ont-elles l'âge de leur niche ? A la recherche d'un sérum de jeunesse... » *Med Sci (Paris)* 26(6-7): 582-585.

⁵³⁹ Zhang X, Ebata KT, Robaire B and Nagano MC (2006) « Aging of male germ line stem cells in mice ». *Biol Reprod* 74(1): 119-124.

⁵⁴⁰ Carlson BM and Faulkner JA (1989) « Muscle transplantation between young and old rats: age of host determines recovery ». *Am J Physiol* 256(6 Pt 1): C1262-1266.

⁵⁴¹ Zacks SI and Sheff MF (1982) « Age-related impeded regeneration of mouse minced anterior tibial muscle ». *Muscle Nerve* 5(2): 152-161.

⁵⁴² Citation d'Irina Conboy à propos de travaux qu'elle avait publiés deux ans plus tôt. Pour la citation, voir : Conboy IM, Conboy MJ, Wagers AJ, Girma ER, Weissman IL and Rando TA (2005) « Rejuvenation of aged progenitor cells by exposure to a young systemic environment » *Nature* 433(7027): 760-764, p. 760. Pour les expériences démontrant le rôle de Notch dans l'activité régénératrice des muscles, voir : Conboy IM, Conboy MJ, Smythe GM and Rando TA (2003) « Notch-mediated restoration of regenerative potential to aged muscle » *Science* 302(5650): 1575-1577.

⁵⁴³ Conboy IM, Conboy MJ, Wagers AJ, Girma ER, Weissman IL and Rando TA (2005) « Rejuvenation of aged progenitor cells by exposure to a young systemic environment » *Nature* 433(7027): 760-764. Voir aussi Brack AS, Conboy MJ, Roy S, Lee M, Kuo CJ, Keller C and

Ces données suggèrent que les propriétés par lesquelles les cellules souches sont définies (l'auto-renouvellement, la différenciation, la division asymétrique, la quiescence et, plus généralement, la capacité développementale/régénérative) seraient, *a minima*, co-déterminées ou régulées par la niche.

La version faible de l'hypothèse de la niche révisé la distribution des rôles. D'un point de vue fonctionnel, les propriétés que l'on attribue aux cellules souches devraient être considérées comme les propriétés d'un système contenant à la fois les cellules souches, les cellules de soutien et les facteurs solubles situés à proximité des cellules souches.

La version forte de l'hypothèse de la niche, que j'appellerai « hypothèse dédifférenciative », pousse la critique de la conception traditionnelle des cellules souches en soutenant que la niche n'est pas seulement capable de réguler la propriété souche des cellules souches, mais qu'elle est capable de l'induire dans des cellules non-souches. Cela induit une remise en question du dogme de la différenciation à sens unique et de l'existence d'une espèce nature 'cellule souche'.

Cette version forte remonte à l'hypothèse de la niche telle qu'elle avait été formulée par Ray Schofield. Ce dernier avait développé son hypothèse dans le contexte des recherches ouvertes par l'identification, par James Till et Ernest McCulloch, des CFU-S, ces cellules capables de produire des colonies hétérogènes dans les rates de souris (voir chapitre 3, section 3.3.1). Comme l'expose le chapitre 3, l'espoir d'avoir identifié les cellules souches hématopoïétiques fut rapidement déçu. Les CFU-S recouvrent en fait une population hétérogène qui perd en potentiel prolifératif au fur et à mesure de transplantations successives, alors que les cellules souches hématopoïétiques étaient réputées « immortelles ». C'est ce constat que Ray Schofield tente d'expliquer en 1978 : le fait que les CFU-S ont un potentiel prolifératif (auto-renouvellement, en particulier) différent des cellules souches hématopoïétiques. Selon lui, l'explication de cette différence pourrait se trouver dans l'ancrage, *in vivo*, des cellules souches dans une « niche » qui les « retient » et empêche leur maturation. Lorsqu'une telle cellule souche se divise, une seule de ses cellules filles ne peut rester dans la niche, l'autre devient une CFU-S. Hors de la

Rando TA (2007) « Increased Wnt signaling during aging alters muscle stem cell fate and increases fibrosis ». *Science* 317(5839): 807-810.

Sur les expériences de parabioses, en particulier dans le contexte de l'étude du vieillissement voir la revue de littérature : Conboy MJ, Conboy IM and Rando TA (2013) « Heterochronic parabiosis: historical perspective and methodological considerations for studies of aging and longevity » *Aging Cell* 12(3): 525-530.

niche, sa maturation devient inexorable. Hors de la niche seulement. Toute CFU-S trouvant une niche vacante, suggère-t-il, reprend le statut de cellule souche⁵⁴⁴.

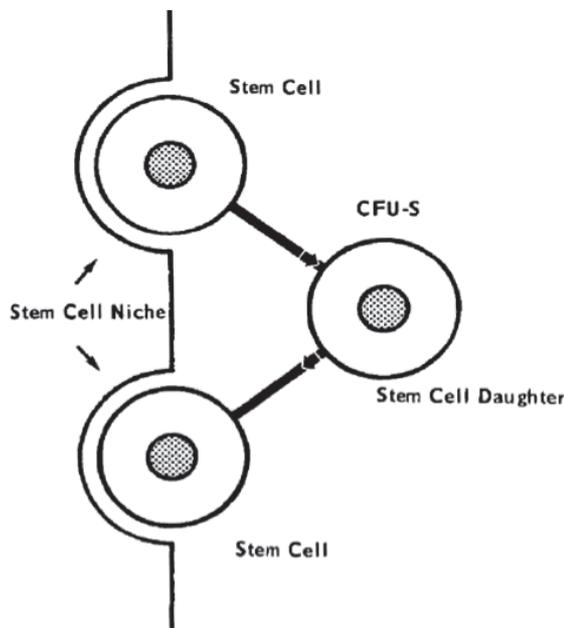


Figure 44. L'hypothèse de la niche cellulaire développée par Ray Schofield en 1978⁵⁴⁵. Légende d'origine : « L'hypothèse de la niche des cellules souche. La cellule fille de la cellule souche est une CFU-S. Cependant, si elle peut trouver et occuper une niche, elle peut elle-même devenir une cellule souche ».

Dans un article publié en 1983, Ray Schofield radicalise sa position en postulant que « les propriétés des cellules souches ne résident pas dans un seul type cellulaire spécifique mais que, lorsque c'est nécessaire, d'autres cellules peuvent se voir imposer par le microenvironnement approprié des fonctions de cellules souches »⁵⁴⁶. Selon lui, « il n'y a pas d'éléments qui soient *intrinsèquement* des cellules souches »⁵⁴⁷, « ce qui détermine si une cellule agit ou non comme une cellule souche, c'est le microenvironnement »⁵⁴⁸. Ceci le mène à la conclusion qu'il faudrait parler du « système cellule souche » (*stem cell system*). L'hypothèse développée par Ray Schofield a trois conséquences. Premièrement, ce qui se trouve au sommet de la hiérarchie différentielle n'est pas « la cellule souche » mais « le système cellule souche » (voir Figure 45 A). Deuxièmement, il n'y a pas d'espèce naturelle 'cellule souche', puisqu'il ne s'agit pas d'une propriété intrinsèque. Troisièmement, le

⁵⁴⁴ Schofield R (1978) « The relationship between the spleen colony-forming cell and the haemopoietic stem cell ». *Blood Cells* 4(1-2): 7-25.

⁵⁴⁵ Schofield R (1978) « The relationship between the spleen colony-forming cell and the haemopoietic stem cell ». *Blood Cells* 4(1-2): 7-25, (ici, Figure 6 p. 14). Légende : « The hypothetical view of a stem cell niche. The stem cell daughter is a CFU-S. However, if it can find and occupy a niche it will itself become a stem cell »

⁵⁴⁶ Schofield R (1983) « The stem cell system » *Biomed Pharmacother* 37(8): 375-380. Citation en français dans l'abrégé du texte, p. 375.

⁵⁴⁷ *Ibid.*, p. 375.

⁵⁴⁸ « The feature which determines whether or not a cell acts as a stem cell is the microenvironment ». Schofield R (1983) « The stem cell system » *Biomed Pharmacother* 37(8): 375-380, ici p. 378.

modèle hiérarchique de différenciation n'est pas à sens unique puisque des cellules non-souches peuvent redevenir souches, si elles trouvent des niches vacantes (voir Figure 45 B).

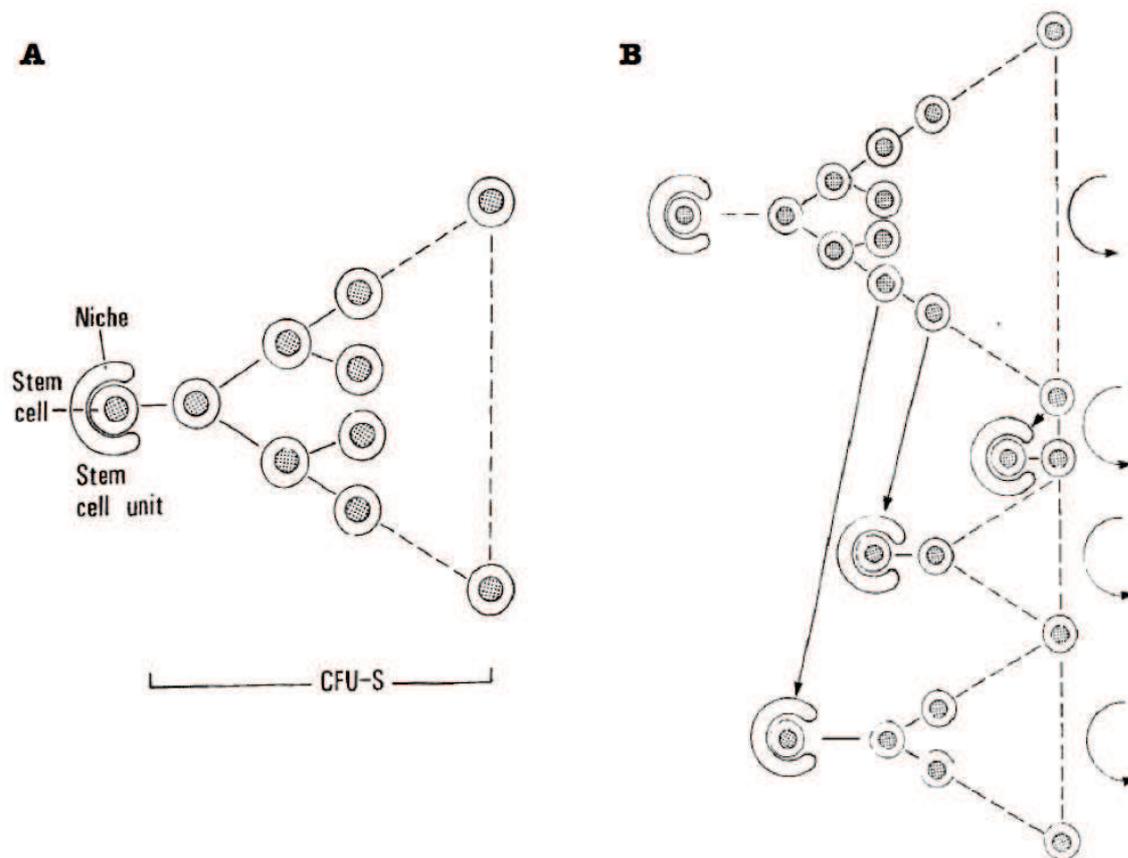


Figure 45. Le modèle hiérarchique de différenciation selon l'hypothèse de Ray Schofield en 1983⁵⁴⁹. (A) au sommet de la hiérarchie se trouve un système composé de la cellule souche et de sa niche ; (B) la différenciation n'est pas un processus à sens unique et toutes les CFU-S peuvent acquérir la propriété souche si elles intègrent une niche.

L'hypothèse dédifférenciative de la niche est beaucoup moins répandue que sa version faible. Il existe cependant des données en sa faveur. Pour la drosophile, plusieurs équipes ont montré que les cellules germinales engagées dans la différenciation pouvaient se dédifférencier et produire des cellules souches fonctionnelles, en cas de contact avec un

⁵⁴⁹ Schofield R (1983) « The stem cell system ». *Biomed Pharmacother* 37(8): 375-380, (ici, Figures 1 et 2, p. 377 et 378, respectivement). Légende de la Figure 1 : « This shows the haemopoietic stem cell in its putative « niche » and its progeny, the CFU-S derived directly from but unregulated by the « niche ». These cells are shown as an expanding transit population which lose identity as CFU-S when they mature to the stage at which they can differentiate into more specialised types of cells ».

Légende de la Figure 2 : « This illustrates what has been suggested can occur when the « primary » stem cell is eliminated from the « niche ». More mature cells (but which still retain the potential to become stem cells) occupy the niche and are « immortalised » *i.e.*, acquire stem cell function. Nevertheless, they are immortalised at the stage of maturity they had already reached. Therefore, the transit time between these cells and the fully-matured (differentiable) CFU-S is shorter and the proliferation in the transit population is more limited than in the original situation. The cells are therefore found to have lower proliferative potential as CFU-S, *i.e.*, are of lower quality. »

microenvironnement approprié⁵⁵⁰. Si bien qu'une drosophile ne présentant aucune cellule souche germinale à un temps t_1 peut disposer à nouveau de telles cellules à un temps t_2 ⁵⁵¹. L'équipe de Pierre Fouchet, au CEA, a également montré qu'une telle dédifférenciation pouvait avoir lieu dans les testicules de souris⁵⁵². Ce fait est interprété par l'équipe comme un argument en faveur de « l'idée émergente selon laquelle l'identité de cellule souche n'est pas restreinte, chez l'adulte, à un pool de cellules qui s'auto-renouvellent, mais que la propriété souche (*stemness*) peut être acquise par des progéniteurs en différenciation à la suite d'une lésion et ce tout au long de la vie »⁵⁵³.

6.3.5. Transdifférenciation, métaplasie et plasticité : porosité des catégories du modèle hiérarchique

Le dogme du destin cellulaire (D2 : une fois engagé le destin cellulaire est déterminé) a également été remis en question par l'observation de phénomènes de changements de lignages ou de modifications du destin cellulaire (*cell fate switches*)⁵⁵⁴, le plus souvent appelés « transdifférenciations » mais parfois aussi « métaplasies »⁵⁵⁵ ou encore

⁵⁵⁰ Pour les drosophiles femelles, voir : Kai T and Spradling A (2004) « Differentiating germ cells can revert into functional stem cells in *Drosophila melanogaster* ovaries ». *Nature* 428(6982): 564-569.

Pour les drosophiles mâles, voir : Sheng XR, Brawley CM and Matunis EL (2009) « Dedifferentiating spermatogonia outcompete somatic stem cells for niche occupancy in the *Drosophila* testis » *Cell Stem Cell* 5(2): 191-203 ; Brawley C and Matunis E (2004) « Regeneration of male germline stem cells by spermatogonial dedifferentiation *in vivo* » *Science* 304(5675): 1331-1334 ; Cheng J, Turkel N, Hemati N, Fuller MT, Hunt AJ and Yamashita YM (2008) « Centrosome misorientation reduces stem cell division during ageing » *Nature* 456(7222): 599-604.

⁵⁵¹ Voir les expériences de Brawley C and Matunis E (2004) « Regeneration of male germline stem cells by spermatogonial dedifferentiation *in vivo* » *Science* 304(5675): 1331-1334.

⁵⁵² Barroca V, Lassalle B, Coureuil M, Louis JP, Le Page F, Testart J, Allemand I, Riou L and Fouchet P (2009) « Mouse differentiating spermatogonia can generate germinal stem cells *in vivo* » *Nat Cell Biol* 11(2): 190-196.

⁵⁵³ « This study supports the emerging concept that the stem-cell identity is not restricted in adults to a definite pool of cells that self-renew, but that stemness could be acquired by differentiating progenitors after tissue injury and throughout life ». Barroca V, Lassalle B, Coureuil M, Louis JP, Le Page F, Testart J, Allemand I, Riou L and Fouchet P (2009) « Mouse differentiating spermatogonia can generate germinal stem cells *in vivo* ». *Nat Cell Biol* 11(2): 190-196, ici p. 190.

⁵⁵⁴ Voir par exemple : Okada TS (1991). *Transdifférenciation. Flexibilité in Cell Differentiation*. Oxford: Clarendon Press ; Eguchi G and Kodama R (1993) « Transdifférenciation » *Curr Opin Cell Biol* 5(6): 1023-1028.

⁵⁵⁵ Certains biologistes du développement, notamment Jonathan Slack et David Tosh luttent pour la restriction du concept de transdifférenciation à un type particulier de métaplasie, à savoir les changements de types cellulaires affectant les cellules différenciées. Voir par exemple : Slack JM and Tosh D (2001) « Transdifférenciation and metaplasia--switching cell

« plasticité cellulaire »⁵⁵⁶. Deux phénomènes méritent d'être distingués : d'une part la transformation de cellules différenciées d'un type cellulaire en cellules différenciées d'un autre type cellulaire, d'autre part la production de cellules différenciées d'un tissu à partir de cellules souches spécifiques d'un autre tissu (impliquant potentiellement la transformation d'un type de cellule souche en un autre type de cellule souche). Un nombre grandissant d'études tend à montrer que les cellules différenciées peuvent se transformer en d'autres types cellulaires : les cellules de l'iris pourraient se transdifférencier en cellules de la lentille lors de la régénération de la lentille chez les amphibiens⁵⁵⁷, les cellules hépatiques en myofibroblastes lors d'inflammations ou de lésions chroniques du foie⁵⁵⁸, les cellules pancréatiques en hépatocytes⁵⁵⁹ ou encore les cellules de l'endothélium vasculaire en muscles lisses⁵⁶⁰. D'autre part, et de manière relativement indépendante, des données très controversées se sont également accumulées, indiquant la capacité de cellules souches tissus-spécifiques à donner des cellules différenciées propres à d'autres tissus. Les cellules souches hématopoïétiques et de la moelle osseuse pourraient ainsi donner naissance à des cellules du cerveau⁵⁶¹, de muscle⁵⁶², du myocarde⁵⁶³ ou du foie⁵⁶⁴. Les cellules souches

types » *Curr Opin Genet Dev* 11(5): 581-586 ; Slack JM (2007) « Metaplasia and transdifferentiation: from pure biology to the clinic » *Nat Rev Mol Cell Biol* 8(5): 369-378.

⁵⁵⁶ Le biologiste des cellules souches Dov Zipori parle essentiellement de transdifférenciation à l'égard des cellules différenciées se transformant en d'autres types de cellules différenciées et de plasticité à l'égard de la capacité de cellules souches adultes à donner des cellules d'autres tissus. Voir : Zipori D (2009) *Biology of Stem Cells and the Molecular Basis of the Stem State*. Dordrecht, Heidelberg, London, New York : Humana Press.

⁵⁵⁷ Grogg MW, Call MK, Okamoto M, Vergara MN, Del Rio-Tsonis K and Tsonis PA (2005) « BMP inhibition-driven regulation of six-3 underlies induction of newt lens regeneration » *Nature* 438(7069): 858-862.

⁵⁵⁸ Tsukamoto H, She H, Hazra S, Cheng J, Miyahara T (2006) « Anti-adipogenic regulation underlies hepatic stellate cell transdifferentiation » *J Gastroenterol Hepatol* 21(Suppl 3): S102-S105 ; Bachem MG, Sell KM, Melchior R, Kropf J, Eller T, Gressner AM (1993) « Tumor necrosis factor alpha (TNF alpha) and transforming growth factor beta 1 (TGF beta 1) stimulate fibronectin synthesis and the transdifferentiation of fat-storing cells in the rat liver into myofibroblasts » *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol* 63: 123-130.

⁵⁵⁹ Shen CN, Horb ME, Slack JM and Tosh D (2003) « Transdifferentiation of pancreas to liver » *Mech Dev* 120(1): 107-116.

⁵⁶⁰ Frid MG, Kale VA and Stenmark KR (2002) « Mature vascular endothelium can give rise to smooth muscle cells via endothelial-mesenchymal transdifferentiation: in vitro analysis » *Circ Res* 90(11): 1189-1196.

⁵⁶¹ Brazelton TR, Rossi FM, Keshet GI and Blau HM (2000) « From marrow to brain: expression of neuronal phenotypes in adult mice » *Science* 290(5497): 1775-1779 ; Mezey E, Chandross KJ, Harta G, Maki RA and McKechercher SR (2000) « Turning blood into brain: cells bearing neuronal antigens generated in vivo from bone marrow » *Science* 290(5497): 1779-1782 ; Priller J, Persons DA, Klett FF, Kempermann G, Kreutzberg GW and Dirnagl U (2001) « Neogenesis of cerebellar Purkinje neurons from gene-marked bone marrow cells in vivo » *J Cell Biol* 155(5): 733-738.

⁵⁶² Ferrari G, Cusella-De Angelis G, Coletta M, Paolucci E, Stornaiuolo A, Cossu G and Mavilio F (1998) « Muscle regeneration by bone marrow-derived myogenic progenitors »

mésenchymateuses pourraient donner des cellules du sang, du poumon, du foie ou des intestins⁵⁶⁵. Les cellules souches du cerveau⁵⁶⁶, de la peau⁵⁶⁷, des muscles⁵⁶⁸ et des tissus adipeux⁵⁶⁹ pourraient également être à l'origine de cellules appartenant à d'autres tissus. Ces données ont fait l'objet de nombreuses critiques, notamment de la part des détenteurs du modèle hiérarchique traditionnel tel que Irving Weissman⁵⁷⁰. La plus répandue est que ce qui a été interprété comme de la transdifférenciation serait en fait l'effet d'une fusion cellulaire⁵⁷¹. Elles sont également controversées du fait de leurs implications thérapeutiques.

Science 279(5356): 1528-1530 ; LaBarge MA and Blau HM (2002) « Biological progression from adult bone marrow to mononucleate muscle stem cell to multinucleate muscle fiber in response to injury » *Cell* 111(4): 589-601.

⁵⁶³ Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Jakoniuk I, Anderson SM, Li B, Pickel J, McKay R, Nadal-Ginard B, Bodine DM, Leri A and Anversa P (2001) « Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium » *Nature* 410(6829): 701-705.

⁵⁶⁴ Petersen BE, Bowen WC, Patrene KD, Mars WM, Sullivan AK, Murase N, Boggs SS, Greenberger JS and Goff JP (1999) « Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells » *Science* 284(5417): 1168-1170 ; Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M, Reitsma M, Dohse M, Osborne L, Wang X, Finegold M, Weissman IL and Grompe M (2000) « Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo » *Nat Med* 6(11): 1229-1234 ; Theise ND, Badve S, Saxena R, Henegariu O, Sell S, Crawford JM and Krause DS (2000) « Derivation of hepatocytes from bone marrow cells in mice after radiation-induced myeloablation » *Hepatology* 31(1): 235-240 ; Theise ND, Nimmakayalu M, Gardner R, Illei PB, Morgan G, Teperman L, Henegariu O and Krause DS (2000) « Liver from bone marrow in humans » *Hepatology* 32(1): 11-16.

⁵⁶⁵ Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, Moorman MA, Simonetti DW, Craig S and Marshak DR (1999) « Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells » *Science* 284(5411): 143-147 ; Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, Schwartz RE, Keene CD, Ortiz-Gonzalez XR, Reyes M, Lenvik T, Lund T, Blackstad M, Du J, Aldrich S, Lisberg A, Low WC, Largaespada DA and Verfaillie CM (2002) « Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow » *Nature* 418(6893): 41-49.

⁵⁶⁶ Clarke DL, Johansson CB, Wilbertz J, Veress B, Nilsson E, Karlstrom H, Lendahl U and Frisen J (2000) « Generalized potential of adult neural stem cells » *Science* 288(5471): 1660-1663 ; Galli R, Gritti A, Bonfanti L, Vescovi AL (2003) « Neural stem cells: an overview » *Circ Res* 92: 598-608.

⁵⁶⁷ Liang L and Bickenbach JR (2002) « Somatic epidermal stem cells can produce multiple cell lineages during development » *Stem Cells* 20(1): 21-31.

⁵⁶⁸ Jackson KA, Mi T and Goodell MA (1999) « Hematopoietic potential of stem cells isolated from murine skeletal muscle » *Proc Natl Acad Sci U S A* 96(25): 14482-14486.

⁵⁶⁹ Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, Huang J, Futrell JW, Katz AJ, Benhaim P, Lorenz HP and Hedrick MH (2001) « Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies » *Tissue Eng* 7(2): 211-228.

⁵⁷⁰ Anderson DJ, Gage FH and Weissman IL (2001) « Can stem cells cross lineage boundaries? » *Nat Med* 7(4): 393-395 ; Wagers AJ and Weissman IL (2004) « Plasticity of adult stem cells » *Cell* 116(5): 639-648 ; Lemischka I (2002) « Rethinking somatic stem cell plasticity » *Nat Biotechnol* 20(5): 425 ; Orkin SH and Zon LI (2002) « Hematopoiesis and stem cells: plasticity versus developmental heterogeneity » *Nat Immunol* 3(4): 323-328 ; Goodell MA (2003) « Stem-cell "plasticity": befuddled by the muddle » *Curr Opin Hematol* 10(3): 208-213.

⁵⁷¹ La fusion cellulaire est un phénomène qui aboutit à la formation d'une cellule à partir de l'union de deux cellules différentes. Voir, par exemple : Wurmser AE and Gage FH (2002) « Stem cells: cell fusion causes confusion » *Nature* 416(6880): 485-487, ou encore Hawley RG

En effet, elles soulèvent l'espoir d'être utilisées à des fins de thérapies cellulaires et, ce faisant, d'être substituables aux cellules souches embryonnaires : « si les cellules souches adultes peuvent se transformer en n'importe quoi, pourquoi s'embêter avec les cellules ES controversées ? »⁵⁷²

Il faut indiquer que, d'une part, la transdifférenciation des cellules matures ne concerne pas la catégorie des cellules souches et que, d'autre part, la transdifférenciation/métaplasie/plasticité des cellules souches ne remet pas en question la catégorie des cellules souches. Au contraire, même, cette dernière classe de phénomènes pourrait réunifier les cellules souches et être considérée comme un argument confirmant qu'elles appartiennent à une même catégorie⁵⁷³. Ainsi, toutes les remises en question du modèle hiérarchique ne sont pas nécessairement des remises en question de l'existence d'une espèce naturelle 'cellule souche'. Cependant, la porosité générale potentielle des catégories du modèle hiérarchique a mené certains biologistes à réinterpréter (toutes) ces catégories comme des états cellulaires maintenus de manière active par l'organisme plutôt que comme des classes d'entités séparées porteuses d'identités intrinsèques⁵⁷⁴. De plus, certains des phénomènes de transdifférenciation pourraient passer par des étapes de dédifférenciation. Or, cette possibilité a mené certains chercheurs, en particulier le couple Eisenberg, à remettre très précisément en question l'existence d'une catégorie discrète naturelle de cellules souches : si les progéniteurs unipotents peuvent être redirigés vers de multiples destins cellulaires, alors qu'est-ce qui les distingue des cellules souches multipotentes ?⁵⁷⁵

Bien que les taux de différenciation puissent excéder ceux de dédifférenciation et de transdifférenciation entre les phénotypes, fournissant ainsi la direction de l'acquisition d'un lignage, l'implication du modèle de diversification cellulaire par transdifférenciation est que la totalité des phénotypes d'un organisme fait partie d'un continuum⁵⁷⁶.

and Sobieski DA (2002) « Somatic stem cell plasticity: to be or not to be » *Stem Cells* 20(3): 195-197.

⁵⁷² « Transdifferentiation is of interest to Senate Select Committees because it could mean that embryonic stem cells (ESCs) are not needed for cellular therapies. If adult stem cells (ASCs) can turn into anything, why bother with the controversial ESCs? » Wells WA (2002) « Is transdifferentiation in trouble? » *J Cell Biol* 157(1): 15-18, ici p. 15.

⁵⁷³ Je n'ai cependant pas rencontré cet argument.

⁵⁷⁴ Voir par exemple Theise ND and Wilmut I (2003) « Cell plasticity: flexible arrangement » *Nature* 425(6953): 21.

⁵⁷⁵ Eisenberg LM and Eisenberg CA (2003) « Stem cell plasticity, cell fusion, and transdifferentiation » *Birth Defects Res C Embryo Today* 69(3): 209-218, voir en particulier p. 216 pour cette interrogation.

⁵⁷⁶ « Although rates of differentiation may exceed that of dedifferentiation and transdifferentiation between phenotypes, thereby providing directionality to lineage

L'ensemble de ces phénomènes (clonage, cellules souches pluripotentes induites, régénération, rôle de la niche et transdifférenciations/métaplasies/plasticité) a également mené Dov Zipori à une position similaire :

Il aurait dû devenir évident, à ce stade, que les informations disponibles à ce jour sur les systèmes cellulaires indiquent clairement que les cellules possèdent un haut degré de plasticité. La position de la cellule dans la cascade de différenciation est donc instable. Elle est toutefois bien plus stable une fois que les cellules acquièrent la maturité, à la fin du processus de différenciation. Néanmoins, même à ce tout dernier stade, le génome maintient une capacité complète à retourner vers un état plastique. [...] Aucune frontière nette entre les stades de différenciation ne peut être observée⁵⁷⁷.

De cette absence de frontière entre les cellules aux différents stades de la différenciation, il conclut « que la propriété souche (*stemness*) ne décrit pas un type cellulaire, mais plutôt un état transitoire »⁵⁷⁸. Helen Blau et ses collègues posaient, pour leur part, la question « y a-t-il une cellule souche universelle ? »⁵⁷⁹ et Harald Mikkers et Jonas Frisen se demandaient : « nature or *nurture* ? »⁵⁸⁰.

6.3.6. Différenciation sans division et nomadisme taxinomique

Enfin, la différenciation et, ce faisant, le passage d'une catégorie à une autre de la hiérarchie développementale, est classiquement associée à la division cellulaire. Une cellule

acquisition, the implication of a transdifferentiation model of cell diversification is that totality of cell phenotype within an organism is a part of a continuum. » Eisenberg LM and Eisenberg CA (2003) « Stem cell plasticity, cell fusion, and transdifferentiation » *Birth Defects Res C Embryo Today* 69(3): 209-218, ici p. 216.

⁵⁷⁷ « It should have become obvious, at this point, that information available to date on cellular systems clearly indicates that cells possess a high degree of plasticity. The position of the cell in the differentiation cascade is therefore unstable It is, however, far more stable when cells assume maturity, at the end of the differentiation process. Nevertheless, even at this very last stage, the genome does maintain complete capability to turn into a plastic state. [...] sharp boundaries between differentiation stages cannot be observed » Zipori D (2009) *Biology of Stem Cells and the Molecular Basis of the Stem State*. Dordrecht, Heidelberg, London, New York : Humana Press, p. 200

⁵⁷⁸ « It is therefore suggested that stemness does not describe a cell type, but rather a transient state ». Zipori D (2009) *Biology of Stem Cells and the Molecular Basis of the Stem State*. Dordrecht, Heidelberg, London, New York : Humana Press, p. 201.

⁵⁷⁹ Blau HM, Brazelton TR and Weimann JM (2001) « The evolving concept of a stem cell: entity or function? » *Cell* 105(7): 829-841, ici p. 836.

⁵⁸⁰ Mikkers H and Frisen J (2005) « Deconstructing stemness » *EMBO J* 24(15): 2715-2719, ici p. 2718.

d'une catégorie se divise et donne deux cellules filles qui sont soit semblable à la cellule mère et appartiennent toujours à la même catégorie de cellules soit différentes et appartiennent à une catégorie plus différenciée (ou les deux dans le cas de la division asymétrique). Or, des données indiquent que des cellules peuvent se différencier (et donc changer de catégorie) sans se diviser. Ces données proviennent de l'étude de la production des soies chez la drosophile, dont la hiérarchie cellulaire développementale est un exemple particulièrement intéressant pour étudier la détermination du destin cellulaire dans la mesure où cinq cellules sont invariablement produites à partir d'une seule cellule à la suite de quatre divisions asymétriques (Figure 46).

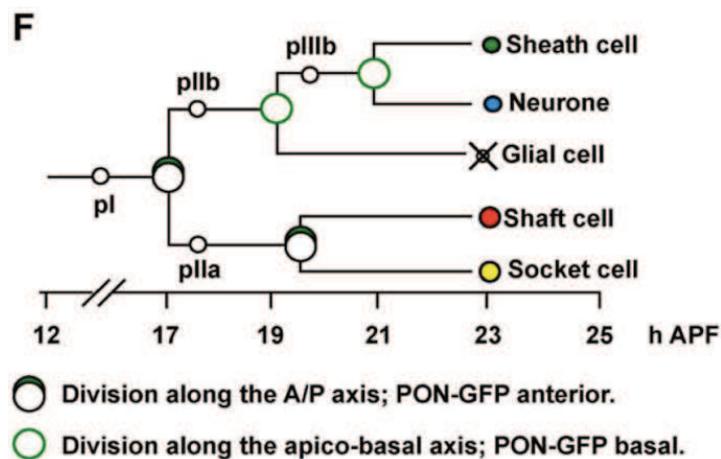


Figure 46. Modèle hiérarchique du lignage cellulaire conduisant à la formation des soies chez la drosophile, selon Fichelson & Gho (2004)⁵⁸¹.

Les biologistes Pierre Fichelson et Michel Gho ont montré que la division cellulaire (ici asymétrique) n'était un facteur nécessaire ni pour la détermination d'un destin cellulaire ni pour le changement d'identité des cellules. En effet, dans des conditions d'arrêt de la division cellulaire, la cellule pI se différencie néanmoins en l'une de ses deux cellules filles. Elle se transforme soit en cellule progénitrice pIIb suite à l'inhibition simple de la division cellulaire (par inhibition du gène *Cdc2*, Figure 47 A), soit en pIIa voir directement en cellule soie si la voie de signalisation N est activée une fois (Figure 47 B et C), ou encore en cellule socle si la voie de signalisation N est activée par deux fois (Figure 47 D). Cet exemple interroge la détermination ontologique du modèle hiérarchique. En effet, les changements d'états sont classiquement associés à la division cellulaire. Or cet exemple

⁵⁸¹ Fichelson P and Gho M (2004) « Mother-daughter precursor cell fate transformation after *Cdc2* down-regulation in the *Drosophila* bristle lineage » *Dev Biol* 276(2): 367-377 (ici, Figure 1 F, p. 369). Légende : « Schematic representation of the wild type bristle lineage. The crosses indicate nucleus fragmentation. Plot showing the polarity of the pI cell division in control specimens ».

montre qu'une cellule individuelle peut se déplacer d'une catégorie à une autre, en fonction de facteurs intrinsèques et extrinsèques⁵⁸².

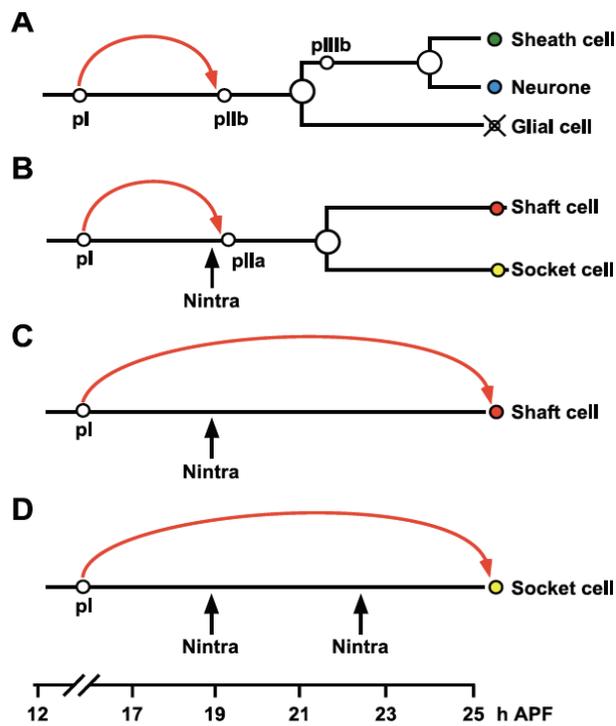


Figure 47. Différenciation et destin cellulaire sans division, selon Fichelson & Gho (2004)⁵⁸³. Légende d'origine : « L'identité adoptée par la cellule pI en cas de régulation négative de Cdc2 dépend de l'activation de la voie de signalisation Notch (N). (A) Lignage cellulaire observé après régulation négative de l'activité de Cdc2. La croix indique la fragmentation de la cellule gliale. La flèche rouge incurvée indique la transformation de l'identité cellulaire en l'absence de mitose. (B) lignage cellulaire observé dans 9% des cas après régulation négative de l'activité de Cdc2 et activation de la voie de signalisation N à 19h APF. La flèche noire indique l'induction de Nintra. (C) transformation du destin observée dans 69% des cas après régulation négative de l'activité de Cdc2 et l'activation de la voie de signalisation N à 19h APF. (D) transformation du destin cellulaire observée après régulation négative de l'activité de Cdc2 et activation de la voie de signalisation N à 19h APF et 22,5h APF ».

⁵⁸² Certaines études suggèrent également que la dédifférenciation pré-régénération pourrait également se produire en l'absence de division cellulaire.

Chez les drosophiles de la lignée de mutants pour les gènes *RB* et *Hippo*, les cellules neuronales de l'œil ne parviennent pas à se stabiliser à l'état différencié et présentent une tendance naturelle à se dédifférencier vers un état plus précoce dans lequel elles se mettent à proliférer. Le blocage de la division cellulaire, toutefois, n'empêche pas le phénomène de dédifférenciation, indiquant que ces deux phénomènes seraient indépendants. Voir Nicolay BN, Bayarmagnai B, Moon NS, Benevolenskaya EV and Frolov MV (2010) « Combined inactivation of pRB and hippo pathways induces dedifferentiation in the *Drosophila* retina ». *PLoS Genet* 6(4): e1000918.

Des conclusions similaires ont été obtenues à propos de la dédifférenciation des cellules de Schwann qui pourraient se différencier et se dédifférencier à volonté sans division suite à l'ajout ou au retrait d'adénosine monophosphate cyclique, une molécule dite « messenger secondaire » permettant la transduction d'un signal provenant de l'extérieur de la cellule vers l'intérieur de celle-ci. Voir : Monje PV, Soto J, Bacallao K and Wood PM (2010) « Schwann cell dedifferentiation is independent of mitogenic signaling and uncoupled to proliferation: role of cAMP and JNK in the maintenance of the differentiated state » *J Biol Chem* 285(40): 31024-31036.

⁵⁸³ Fichelson P and Gho M (2004) « Mother-daughter precursor cell fate transformation after Cdc2 down-regulation in the *Drosophila* bristle lineage » *Dev Biol* 276(2): 367-377 (ici, Figure 5, p. 375). Légende: « The identity adopted by the pI cell upon Cdc2 down-regulation depends on the activation of the N pathway (A) Cell lineage observed after down-regulation of Cdc2 activity. The cross indicates the fragmentation of the glial cell. The curved red arrow indicates the transformation of cell identity without intervening mitosis (B) Cell lineage observed in 9% of the cases after down-regulation of Cdc2 activity and activation of the N pathway at 19 h APF. The black arrows indicate the induction of Nintra. (C) Fate transformation observed in 69% of the cases after down-regulation of Cdc2 activity and activation of the N pathway at 19 h APF. (D) Fate transformation observed after down-regulation of Cdc2 activity and activation of the N pathway at 19 h APF and 22.5 h APF ».

Les espèces naturelles supportent-elles de tels déplacements ? La question a été posée par Stéphanie Ruphy à propos de ce qu'elle appelle le « nomadisme taxinomique » des entités stellaires. Les propriétés sur lesquelles sont basées les classifications des étoiles sont des propriétés transitoires. « Une étoile n'a pas la même température, densité, perte de masse, et ainsi de suite, durant sa vie et, par conséquent, elle n'appartiendra pas à la même catégorie » (les changements de catégorie sont lent puisque le soleil restera au total 8 milliards d'années dans sa catégorie actuelle avant d'en changer)⁵⁸⁴. Si la notion traditionnelle d'espèce naturelle s'accommode mal de ce genre de nomadisme, Stéphanie Ruphy interroge la légitimité de cette notion traditionnelle. Doit-elle être révisée ou doit-on abandonner l'idée que les classifications stellaires désignent des espèces naturelles ? La question mériterait une étude plus approfondie, à l'avenir. En effet, si les cellules peuvent transiter d'une espèce naturelle à une autre sans remettre en question le statut d'espèce naturelle, alors la pertinence de cet outil pour étudier le débat biologique sur les cellules souches serait compromise.

6.4. Conclusion

Les cellules souches ne sont pas définissables par un ensemble de propriétés nécessaires et suffisantes. Aucune signature moléculaire spécifique de la propriété souche (*stemness*) n'a encore été identifiée à ce jour. Par ailleurs, le clonage a montré que la différenciation était un phénomène réversible au niveau du noyau des cellules. La production de cellules souches pluripotentes induites (iPS) en laboratoire a prolongé cette démonstration au niveau de la cellule dans sa globalité en montrant qu'une cellule différenciée peut donner une cellule souche pluripotente. La dédifférenciation semble également se produire naturellement en contexte de régénération. Le dogme (D1) selon lequel la différenciation se fait à sens unique demande à être réévalué. La niche, qui semble pouvoir induire la propriété souche dans des cellules non-souches, joue vraisemblablement un rôle déterminant dans l'induction et/ou la régulation des propriétés d'auto-renouvellement, de différenciation, de division symétrique ou asymétrique et de quiescence par lesquelles sont caractérisées les cellules souches. Enfin, l'observation de transdifférenciations, de métaplasies ou encore de plasticité cellulaire a conduit les

⁵⁸⁴ « A star does not have the same temperature, density, mass loss, and so on, throughout its life and, consequently, will not belong to the same category. » Ruphy S (2010) « Are Stellar Kinds Natural Kinds? A Challenging Newcomer in the Monism/Pluralism and Realism/Antirealism Debates » *Philosophy of Science* 77(5): 1109-1120 (ici p. 1113).

biologistes à interroger les deux dogmes du modèle hiérarchique de la différenciation (sens unique (D1) et détermination irréversibles des destins cellulaires au cours du lignage (D2)) en révélant la porosité de toutes les catégories de la hiérarchie. Ces différentes données ont provoqué de nombreux débats dans la communauté et certains biologistes en sont venus à interroger l'existence d'une espèce naturelle 'cellule souche'. Cette opposition a été présentée à plusieurs reprises par des philosophes sous l'alternative « *entité* » versus « *état* »⁵⁸⁵, une formulation que l'on doit au biologiste Dov Zipori, dans son article intitulé : « La nature des cellules souches : état plutôt que entité »⁵⁸⁶. La prochaine et dernière partie évaluera les conséquences de ces conceptions sur les cellules souches cancéreuses et les stratégies thérapeutiques contre les cancers.

⁵⁸⁵ Leychik Y, Munzer SR and Richardson JL (2009) « What is stemness? » *Stud Hist Philos Biol Biomed Sci* 40(4): 312-320 ; Fagan M (2013) *Philosophy of Stem Cell Biology. Knowledge in Flesh and Blood*. London: Palgrave-Macmillan ; Robert JS (2004) « Model systems in stem cell biology » *Bioessays* 26(9): 1005-1012 ; Brown N, Kraft A and Martin P (2006) « The Promissory Pasts of Blood Stem Cells ». *BioSocieties* 1(03): 329-348, voir p. 343 ; Kraft A (2011) « Converging histories, reconsidered potentialities: The stem cell and cancer ». *BioSocieties* 6: 195-216, en particulier p. 203 et note 13.

⁵⁸⁶ Zipori D (2004) « The nature of stem cells: state rather than entity » *Nat Rev Genet* 5(11): 873-878. Voir également : Zipori D (2009) *Biology of Stem Cells and the Molecular Basis of the Stem State*. Dordrecht, Heidelberg, London, New York : Humana Press.

6.5. *English summary*

Together the three chapters above contributed to point out a number of difficulties related to the general concept of stem cells. This chapter is dedicated to this question. I will show that the very existence of a natural category of stem cell (a stem cell natural kind) is under suspicion, as well as the hierarchic representation associated to stem cell differentiation.

The classical definition of stem cell (self-renewal and differentiation) has been subjected to criticisms. First, self-renewal and differentiation are not specific properties of stem cells. Some lymphocytes are able of long-term self-renewal and some progenitors have the same differentiation potential than the stem cells from which they originate. Second, together, these properties are two exclusive. Some stem cells, like stem cells of the early embryo, do not self-renew in the long-term. Other stem cells, like some germinal stem cells or satellite cells, can only give rise to one type of cells.

It raises the question whether stem cell really is a natural kind. Traditional essentialism defines natural kinds by the sharing of a common essence, definable by a set of necessary and sufficient properties. Self-renewal and differentiation being neither necessary nor sufficient, traditional essentialism leads to the conclusion that the ‘stem cell’ category is artificial rather than natural. However, following Richard Boyd, three philosophers (Robert Wilson, Matthew Barker and Ingo Brigandt) have argued that stem cells (and genes, and species) belong to a true natural kind. Richard Boyd introduced the concept of “homeostatic property cluster” (HPC) to define natural kinds without introducing necessary and sufficient properties. HPC designates a set of homeostatic properties, that is, of properties that, for some reason, are co-expressed. Within a HPC, no properties are necessary and any subset can be sufficient. A HPC can define a natural kind when the entities of the natural kind under study share some properties that are homeostatically and mutually linked to one another. Robert Wilson, Matthew Barker and Ingo Brigandt argued that stem cells were definable by a HPC (which regroup properties such as “morphologically undifferentiated, ability of self-renewal (cell division with at least one daughter cell of the same type) over an extended period of time, ability to give rise to various differentiated cell types (pluripotency, or at least multipotency), developmentally derived from certain cells or tissues, located in specific parts of tissues, particular complex profile of gene expression and presence of transcription factors, found in certain cellular-molecular microenvironment (“niche”), which influences the stem cell’s behavior, low rate

of cell division”). Thus, ‘stem cell’ might be a natural kind, even if not every stem cell possesses both the self-renewal and differentiation properties. However, it is just a proof of principle, since they present no argument to defend the fact that the properties they mention are homeostatic. Furthermore, this definition is of poor empirical help since it does not allow to distinguish between, for example, hematopoietic stem cells and multipotent hematopoietic progenitors. Both answer to the HPC. Thus, how one can know that the multipotent progenitors are not stem cells?

I suggest that a binominal definition could be empirically helpful, both for defining stem cells and for distinguishing stem cells from non-stem cells. I first suggested this solution for the problem of the definition of development. The recurring problem of definition for some biological objects, such as genes is due to a tension between to conflicting requirements: the need for a fuzzy definition for “boundary objects” to allow communication between a variety of specialists, and the need for stringent definition in specific research activities such as counting genes, or annotating the human genome sequences. The concept of stem cell instantiates this tension. As a boundary object, its fuzzy definition is valuable. But as a medical tool or as a medical target, stem cells must be very precisely and carefully characterized. The binominal definition aims to reconciling these two conflicting needs for precision and fuzziness.

The idea of a binomial definition came to my mind from reading an article by Richard Burian, on genes definitions (for the reference, see note 461). In this article, Richard Burian distinguished two successive types of definition. One leaves open the exact reference of the term, which he named “generic”. The other one aggregates several discontinuous definitions of the genes, which he named “specific”. Specific definitions solve the lack of determined reference problem, but at the cost of a conceptual discontinuity. Richard Burian concluded that “what counts as a gene is thoroughly context-dependent [...] this has the consequence that precise definitions of genes must be abandoned, for there are simply too many kinds of genes” (for the reference, see note 462). I conclude in the opposite direction for the case of stem cells (and of development): there is no contradiction in the coexistence of a generic definition with several specific definitions. Furthermore, I argue that both definitions should work together. The generic definition satisfies the condition of boundary object while the specific definitions allow stem cells to be distinguished from non-stem cells in a context-dependent way.

Coupling the two definitions may fit with the HPC definition. Binominal definition could provide a valuable tool for the proponents of the HPC conception to make it more

operational. For example, a generic definition of stem cells could be “stem cells are the cells of origin (*Ursprung* and *Entstehung*) of tissues”. Such a definition would leave the precise referential open and guarantee dialogue between different communities of researchers. Then indefinite numbers of specific definitions could be framed to more precisely characterize particular stem cells in particular contexts. These specific definitions, in the context of a HPC conception, would attribute different sets of properties of the general cluster to different stem cells. For example, hematopoietic stem cells would be defined by properties such as long-term self-renewal, multipotentiality, quiescence, localization in a specific niche, and asymmetric division. Intestinal stem cells could thus be defined by their long-term self-renewal, multipotency, and asymmetric division. And so on, every population of stem cells can be defined by specific characters. Specific definitions would be guided by empirical needs and research data. Thus there could be different levels of specific definitions and these definitions may evolve. Binominal definitions are more or less in use in the current vocabulary of stem cell biologists.

Another criticism against the existence of a stem cell natural kind came through a controversy on the existence of a stemness molecular signature. In the early 2000s, three research groups were independently trying to find out such a signature through the global analysis of gene expression in different kinds of stem cells. This researches were based on two major presuppositions:

(P1) Self-renewal and differentiation properties, that is “stemness”, allow a qualitative distinction between stem cells and non-stem cells.

(P2) Stemness is reducible to a set of molecular properties (gene transcripts, cell surface proteins, etc...)

As explained below, (P1) has been proven wrong by biologists. Thus, even if (P2) is right, stemness molecular definition would not allow a distinction between stem cells and non stem cells. Molecular data tend to confirm this diagnosis.

First, the genes highly expressed in stem cells populations are often expressed in the daughter cells (if not in differentiated cells) (see, for an example, my own researches in Figure 39 and Figure 40).

Second, the results published by three teams engaged in the quest of a stemness signature were disappointing. Each team found a set of more than 200 genes that were over expressed in different kinds of stem cells from different organismal sources. Only one was common to the three studies: alpha 6 integrin, which is not at all specific to stem cells.

A debate followed, which brought about two major interpretations of the failure. For most biologists, the failure is due to experimental limits. But, for some of them, this result suggested that stemness might not be an essential property attributable to all stem cells and exclusively to stem cells. They questioned the very existence of a stem cell natural kind.

Third, even if stemness were specific to stem cells, and reducible to a molecular signature, a number of biologists argue that this signature would not be sufficient to identify all the stem cells of a population. Indeed, self-renewal and differentiation genes are only expressed by dividing stem cells. But some stem cells might be quiescent. These won't express the stemness signature, and consequently, won't be identified by such a characterization.

In the traditional hierarchical model of stem cells, the stem cell natural kind is at the top of a scale of a gradual differentiation occurs, until it gives rise to different types of cells (which also represent natural kinds) (see Figure 41). This model carries two dogmas:

(D1) Differentiation is a one-way street, going from the stem cells to the differentiated cells (pink cells cannot give red cells).

(D2) once engaged, the cell fate is determined (red cells cannot give blue cells).

Notably, these two dogmas are deeply engrained in the mind of biologists. They date back to the germ layer theory, according to which the development is irrevocable and embryogenesis produce a reduction in the possible fate of the cells.

A number of stem cell specialists question these dogmas. First, cloning indicates that differentiation of the nucleus is reversible.

Second, the production of induced pluripotent stem cells (iPS cells) shows that the differentiation of the cell is also reversible.

Third, some kinds of regenerations involve dedifferentiation processes, in the case of heart regeneration in zebrafish for instance.

Fourth, there are also claims that the niche of the stem cell can induce dedifferentiation. I distinguish a weak and a strong version of the stem cell niche hypothesis. Both claim that the niche is a structure containing a stem cell and composed of a supporting cell, to which the stem cell adheres thanks to adhesion molecules, and nearby soluble factors. According to the weak interpretation of the stem cell niche hypothesis, the niche controls the stem cell activities (self-renewal, differentiation, quiescence, symmetric or asymmetric division). It suggests that stemness, as a functional property, is the attribute of the niche-stem cell complex rather than of an individual stem cell. The strongest version

of the stem cell niche hypothesis, which I call the “dedifferentiative hypothesis”, adds that the niche could even induce stemness in non-stem cells. Observations of such phenomena in *Drosophila* germ cells challenge the dogma of the one-way differentiation and the existence of a stem cell natural kind.

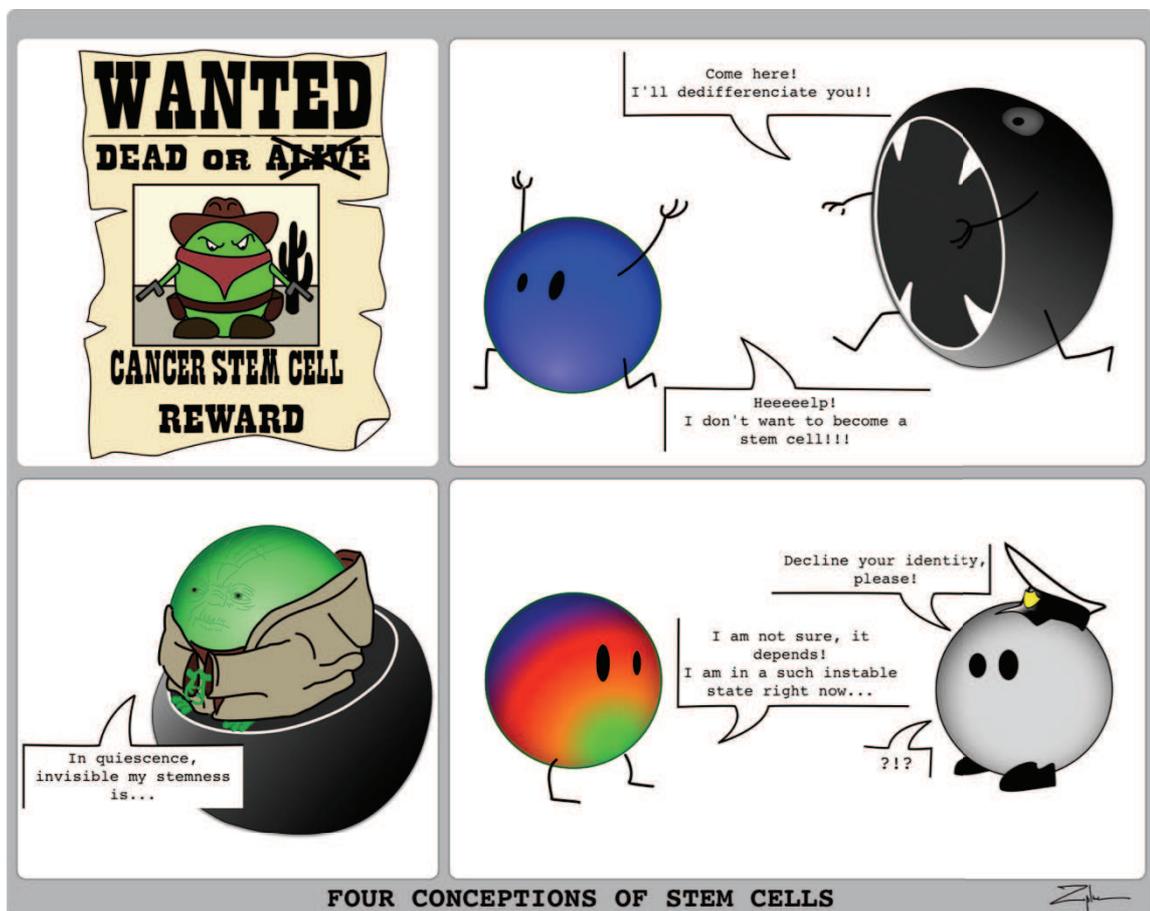
Fifth, the dogma related to the fate of the cell (D2) has also been challenged, by the evidence of transdifférenciation (also referred as metaplasia or cell plasticity). Transdifferentiation is defined as a change of cell fate: a cell from one tissue gives rise to a cell of another tissue. Numerous cells seem to be concerned. These observations have led some biologists to a reinterpretation of the cell category of the hierarchy as “cell state” rather than “cell identity” or natural kinds.

Finally, differentiation, the shift from one cell category to another one, is classically considered as involving cell division. In other terms, it is not the cell that differentiates but a cell daughter happens to be more differentiated than its mother. However, some data show that differentiation could occur in a cell without division. This leads me to tackle the broad question whether natural kinds can tolerate such fluctuations. Stéphanie Rupy already discussed this question about the case of the stellar entities. This question deserves more attention because the existence of a stem cell natural kind might not be right issue to discuss for our purpose.

The stem cell biologist Dov Zipori has reframed the debate under the alternative between “*entity*” and “*state*”. In the classical conception of stem cells, the stem cell concept refers to “entities” whereas in the emerging rival view, it refers to a possible “cell state”. In the next and final Part, I will argue that more than two views should be distinguished. I will suggest four different definitions of stem cells, each having different impacts on anti-CSC therapies.

PARTIE IV

Ontologie et thérapie : de l'importance de déterminer la nature de la propriété souche



Le chapitre 6 a montré que la conception traditionnelle des cellules souches et les dogmes qui l'accompagnent rencontrent quelques résistances au sein de la communauté des spécialistes des cellules souches. Il est devenu coutumier d'analyser ces débats sous le regard d'une alternative, celle entre « *entité* » et « *état* »⁵⁸⁷. La formulation de cette alternative, sous la plume du biologiste Dov Zipori, prend la forme suivante :

Je suggère que l'état transitoire de cellule souche, appelé 'état souche', peut être pris en charge par n'importe quelle cellule et que la recherche de gènes spécifiques, qui seraient exprimés par toutes les cellules souches et qui caractériserait la cellule souche comme un type cellulaire, pourrait être futile⁵⁸⁸.

Elle a été récemment analysée par la philosophe Melinda Fagan comme ceci :

Un certain nombre de chercheurs proposent une révision conceptuelle : remplacer la notion de « cellule souche » comme entité cellulaire par celle d'un *état* cellulaire : l'état souche (la *stemness*). Il est utile de souligner la différence entre l'idée d'état cellulaire et celle de *type* cellulaire. Un type cellulaire est défini par un ensemble de caractères, de telle sorte qu'une cellule est classée comme appartenant à un type particulier parce qu'il possède tous (ou presque tous) les caractères du type. Les caractères [...] sont considérés comme des caractères *de la cellule*. Par contraste, un état correspond au rôle fonctionnel pris par une cellule au sein d'un processus plus large⁵⁸⁹.

L'objectif des deux prochains chapitres est d'analyser les conséquences de cette alternative pour les cellules souches cancéreuses et pour la stratégie thérapeutique qui accompagne la théorie des CSC. Si le concept de CSC représente une *entité* (c'est-à-dire un type cellulaire) ou s'il représente un *état* cellulaire, quelle différence cela fait-il pour la

⁵⁸⁷ Le statut épistémologique de cette alternative reste encore à être déterminé. Elle est généralement considérée comme métant en jeu deux théories. Cependant, cette caractérisation épistémologique a été critiquée par les philosophes Yan Leychkis, Stephen Munzer et Jessica Richardson. Voir : Leychkis Y, Munzer SR and Richardson JL (2009) « What is stemness? » *Stud Hist Philos Biol Biomed Sci* 40(4): 312-320.

⁵⁸⁸ « I suggest that the transient stem cell state, termed the 'stem state', may be assumed by any cell and that the search for specific genes expressed by all stem cells, which would characterize the stem cell as a cell type, might be futile » Zipori D (2004) « The nature of stem cells: state rather than entity » *Nat Rev Genet* 5(11): 873-878, ici p. 873

⁵⁸⁹ « A number of stem cell researchers propose a conceptual revision: replace the notion of "the stem cell" as cellular entity with that of a cell *state*, 'stemness.' The idea of a cell state is usefully contrasted with that of a cell *type*. A cell type is defined by a set of character values, such that a cell is classified as a particular type in virtue of having all (or most) of those character values. Characters in the set vary, ranging from structural to functional, morphological to biochemical, features of the cell as a whole, the cell surface, molecules and internal structures. All, however, are conceived as characters *of the cell*. In contrast, a state is a functional role taken by a cell, within some larger process. » Fagan M (2013) *Philosophy of Stem Cell Biology. Knowledge in Flesh and Blood*. London: Palgrave-Macmillan, p. 70.

Voir aussi l'analyse de Robert JS (2004) « Model systems in stem cell biology ». *Bioessays* 26(9): 1005-1012.

théorie des CSC et, plus précisément, pour le développement de stratégies thérapeutiques spécifiques à cette théorie ?

Toutefois, l'analyse du débat autour de l'ontologie des cellules souches par l'alternative entre 'entité' et 'état' pose deux problèmes. Premièrement, ayant été reprise de Dov Zipori, elle tend à réduire le débat à la position de ce biologiste, ou à percevoir le débat à travers lui⁵⁹⁰. Or, au contraire, le chapitre 6 a montré que les débats autour des cellules souches ont été multiples et ont engagé différents chercheurs, voire différentes communautés de chercheurs. La question de l'existence d'une espèce naturelle 'cellule souche' permettrait une plus grande neutralité et donc une prise en compte plus large des diverses positions. Deuxièmement, la grille d'analyse produite par l'alternative entre 'entité' et 'état' est trop épaisse pour l'analyse des conséquences thérapeutiques. Je montrerai, que chacun des deux pans de cette alternative peut être subdivisé en deux. Les chapitres 7 et 8 montreront que la prise en compte de ces positions peut être heuristique, voire nécessaire à la production et à l'évaluation de ces stratégies thérapeutiques.

Le chapitre 7 porte sur l'alternative de l'entité ou, autrement formulée, sur la conception générale des cellules souches comme appartenant à une espèce naturelle. Je soutiendrai qu'au sein de cette conception, deux alternatives sont possibles :

- 1) La propriété souche peut être considérée comme une propriété catégorique. Selon cette conception, la propriété souche est une propriété intrinsèque et essentielle par laquelle sont définies les entités de l'espèce naturelle 'cellule souche' (section 7.1).
- 2) La propriété souche peut être considérée comme une propriété dispositionnelle. Selon cette conception, la propriété souche dépendrait de bases 'catégoriques' propres aux cellules souches, mais son expression dépendrait de l'action de la 'niche' (la propriété souche n'est pas réductible aux bases catégoriques portées par les cellules souches). Cette conception est propre à la version faible de l'hypothèse de la niche (voir chapitre 6, section 6.3.4) (section 7.3).

⁵⁹⁰ A titre d'exemple, bien que Melinda Fagan mentionne d'autres biologistes partisans de l'alternative de l'état, elle ne définit cette alternative qu'à travers les arguments de Dov Zipori. Elle justifie ce choix par le fait que Dov Zipori a beaucoup plus développé cette position, notamment à travers son livre *Biology of Stem Cells and the Molecular Basis of the Stem State*, que ne l'ont fait les autres biologistes. Pour le projet de l'analyse des conséquences thérapeutiques, ce choix est discutable.

Voir : Fagan MB (2013) *Philosophy of Stem Cell Biology. Knowledge in Flesh and Blood*. London: Palgrave-Macmillan et Zipori D (2009) *Biology of Stem Cells and the Molecular Basis of the Stem State*. Dordrecht, Heidelberg, London, New York : Humana Press.

Le chapitre 8 porte sur l'alternative de l'*état*, selon laquelle il n'existe pas d'espèce naturelle 'cellule souche'. Une fois encore, deux alternatives méritent d'être distinguées pour leurs conséquences en matière de stratégie thérapeutique :

- 1) Une alternative consiste à considérer que l'état souche, ou, plus précisément, la propriété souche, est générée par une relation spécifique à la niche cellulaire. Cette conception est propre à « l'hypothèse dédifférenciative de la niche » (ou la version forte de la l'hypothèse de la niche, voir chapitre 6, section 6.3.4) (section 8.4).
- 2) L'autre alternative consiste à considérer que l'état souche n'est pas spécifique à une relation niche-cellule mais est maintenu au niveau des populations de cellules. A tout instant, indépendamment de toute action de la niche, certaines cellules d'une population donnée sont à l'*état* souche (section 8.5).

Plusieurs remarques doivent être faites à propos des distinctions proposées. Premièrement, elles sont destinées à être révisées et débattues. D'autres distinctions sont certainement possibles. Celles-ci ont été dressées suivant deux objectifs : rendre compte des différentes positions adoptées par les biologistes aujourd'hui et mettre en valeur leurs conséquences pour le développement de stratégies thérapeutiques contre les cancers. Le second critère est d'une importance majeure étant donné qu'il y a potentiellement autant de positions épistémiques que de biologistes se prononçant sur la question. Certaines positions individuelles seront ici unifiées par leurs conséquences thérapeutiques. Pour l'objectif précis de cette thèse, seules les distinctions qui ont des impacts spécifiques en matière de stratégie thérapeutique seront considérées comme pertinentes. Le chapitre 7 fera mention de débats, au sein de la conception catégorique, qui n'ont pas d'impacts sur l'ontologie des cellules souches. Le chapitre 8 indiquera qu'une dichotomie peut être mise en évidence au sein de la conception populationnelle mais que celle-ci n'a aucun impact en matière de stratégies thérapeutiques contre les cancers. La question de l'application plus générale des quatre distinctions ontologiques des cellules souches à la biologie ouvre des horizons de recherches futures en philosophie de la biologie.

Deuxièmement, l'analyse des cellules souches proposée porte sur la propriété souche et sur l'ontologie des cellules souches. En ce sens, il s'agit une analyse métaphysique. Certains outils d'analyse sont d'ailleurs empruntés à la métaphysique, en particulier les notions de propriété catégorique et de disposition. Ces concepts sont très discutés en métaphysique. L'analyse proposée n'a, en aucun cas, prétention à intervenir dans ces débats. Au contraire, ces concepts sont utilisés comme des outils. Pour ce faire, ils

nécessitent une grande clarté et l'évincement des ambiguïtés potentielles qu'ils véhiculent. Leur usage pourra donc sembler biaisé mais sera défini avec précision et accompagné de métaphores illustratives et de données biologiques. Si les concepts choisis pour décrire les conceptions seront toujours discutables, les conséquences qui en seront tirées, elles, ne devraient pas l'être. Autrement dit, le plus important sera de tirer les conséquences de chacune des positions décrites en matière de stratégie thérapeutique contre les cancers. Le reste est sujet à révisions et à débats.

Chapter 6 has shown that the traditional conception of stem cells, and dogmas associated with it, have met some resistances and criticisms inside the scientific community. This debate has been repeatedly analyzed by philosophers of stem cell biology under the alternative between “entity” and “state”.

I avoided founding my analysis of the debate on this alternative for several reasons. First, this alternative has first been framed by a stem cell biologist named Dov Zipori. Adoption of this alternative has led to focus the description of the “state” view on Dov Zipori, which is misleading. On the contrary, chapter 6 has shown that the debates over the stem cells are numerous and involve several researchers, and even several communities of researchers. Second, the analytical grid produced by the alternative between ‘entity’ and ‘state’ is too thick for the analysis of therapeutic implications. I will show that both alternatives can be subdivided. Chapters 7 and 8 will highlight the usefulness of these subdivisions for the production and evaluation of therapeutic strategies.

Chapter 7 focuses on the ‘entity’ view, according to which stem cells belong to a natural species. I will argue that, inside this view, a distinction should be done between two conceptions of stemness:

- 1) Stemness can be seen as a categorical property. According to this conception, stemness is an intrinsic and essential property by which all and only stem cells are defined (section 7.1).
- 2) Stemness can be understood as a disposition. According to this conception, stemness would emerge on categorical bases that are specific to stem cells. However, expression of stemness would be dependent on stimulus from the niche. This conception is engendered by the weak interpretation of the stem cell niche hypothesis (see chapter 6) (section 7.3).

Chapter 8 focuses on the ‘state’ view, according to which there is no stem cell natural kind. Stemness is no more than a possible cell state, with no distinction between some intrinsic properties of cells. Here again, two alternatives deserve to be distinguished for their specific consequences regarding therapeutic strategies:

- 1) Either, the stem state is generated by a specific relation with the niche. This conception fits the dedifferentiative niche hypothesis (strong version of the niche hypothesis, see chapter 6) (section 8.4).
- 2) Or, the stem state is not specific to a niche-cell relationship but is maintained at the cell population level. That is to say, independently of any action of the cell niche, at any given time in a given population, some cells are in the stem state (section 8.5).

Several remarks must be done about these distinctions. First, they are meant to be discussed, and debated. Other distinctions between stem cells conceptions might be possible. These one has been framed following two goals: reflect current conception of stem cells in the scientific community and highlight their consequences for the development of therapeutic strategies against cancers. The second goal is of major importance since there are potentially as many conceptions of stem cells as there are biologists arguing on that

question. Thus only distinctions that impacts on therapeutic strategies will be considered as relevant here. The question whether the same distinctions would be relevant for biology, more generally, should be addressed in the future.

Second, the distinctions suggested concern stem cells ontology. As such, the analysis is, at least partly, metaphysical and uses some metaphysical concepts such as 'disposition' or 'categorical property'. These concepts are subject of extensive debates between philosophers. I have no pretention to intervene in these debates. Here, they will be used as tools. To avoid any ambiguities, each conception will be precisely defined, explained with help of metaphors and based on extensive biological data. Thus, the concepts chosen to describe the four stem cells conceptions are open to debates. However, the therapeutic consequences that will be highlighted should be robust.

CHAPITRE 7. L'alternative de l'entité : la propriété souche comme propriété catégorique ou dispositionnelle

Ce chapitre évaluera l'alternative de l'entité. Il montrera que deux conceptions de la propriété souche peuvent être distinguées. La conception traditionnelle des cellules souches, sur laquelle fut fondée la théorie des CSC, considère la propriété souche comme une 'propriété catégorique' (section 7.1). Le chapitre 6 a montré que cette conception était sujette à de nombreuses critiques. Dans ce chapitre, je montrerai, d'une part, que toutes les critiques à la conception traditionnelle des cellules souches ne sont pas des oppositions à la conception 'catégorique' de la propriété souche (section 7.2) et, d'autre part, que toutes les oppositions à la conception 'catégorique' ne sont pas des oppositions à l'alternative de l'entité. En effet, je distinguerai une autre conception de la propriété souche, comme 'propriété dispositionnelle', interne à l'alternative de l'entité (section 7.3). Ces deux points sont importants. La distinction entre la conception de la propriété souche comme propriété catégorique et comme propriété dispositionnelle a des implications non-négligeables en matière de stratégies thérapeutiques, ce qui justifie cette distinction (section 7.3.3). La présentation de débats sur les cellules souches sans conséquences ontologiques participe également à asseoir la pertinence des distinctions proposée en montrant que celles-ci peuvent regrouper plusieurs chercheurs, en dépit des désaccords qu'ils peuvent avoir sur les cellules souches. Autrement dit, la distinction entre propriété catégorique et propriété dispositionnelle est à la fois plus fondamentale que certains débats sur les cellules souches (évitant le risque d'avoir une conception par chercheurs) et en même temps plus précis et plus subtile que la notion générale d'état.

7.1. La propriété souche comme 'propriété catégorique'

Traditionnellement, le chapitre 6 l'a montré, les biologistes représentent les cellules souches comme des entités discrètes naturelles, c'est-à-dire appartenant à une espèce naturelle, définies par la possession d'un ensemble de propriétés rassemblées sous le nom 'souche'. Généralement, la propriété souche (*stemness*) contient l'ensemble de propriétés suivant : capacité d'auto-renouvellement et potentiel de différenciation. Mais j'ai montré que la définition de la propriété souche par cet ensemble de propriétés était discutable (voir le chapitre 6, section 6.1). A moins de revoir les entités considérées comme des cellules

souches, il faudrait plutôt envisager la propriété souche comme une grappe de propriétés dont l'arrangement serait variable en fonction des populations de cellules souches (ce qu'un ensemble de définitions binominales rend possible, section 6.1.2). Selon la vision traditionnelle, cette grappe serait homéostatique (section 6.1.1), si bien que l'on pourrait parler de *la* propriété souche, une propriété que la métaphysique pourrait décrire comme 'catégorique'⁵⁹¹. Par 'propriété catégorique', j'entends propriété intrinsèque et essentielle⁵⁹². La propriété souche serait donc intrinsèque. Autrement dit, les cellules souches auraient la propriété souche en vertu de ce qu'elles sont et non en vertu d'interactions avec le monde⁵⁹³. Elle serait également essentielle : une cellule est souche si et seulement si elle a la propriété souche.

7.1.1. Stratégie thérapeutique

Le chapitre 2 a montré que la théorie des CSC dérive de l'existence et du rôle causal des cellules souches cancéreuses, une stratégie thérapeutique consistant à cibler spécifiquement les CSC (Figure 48). En effet, rappelons brièvement que les CSC sont définies par la propriété souche, que cette propriété est considérée comme spécifique des CSC (c'est-à-dire absente de toutes les autres cellules cancéreuses) et que cette propriété confère spécifiquement aux CSC la capacité de développer un cancer (initiation, maintien, croissance, métastases). Les partisans de la théorie des CSC (qui sont nombreux, voir chapitre 1) en ont déduit que l'élimination des CSC serait nécessaire et suffisante pour guérir définitivement les cancers. En l'absence de CSC, en effet, la population de cellules cancéreuses ne peut pas s'auto-renouveler et est alors destinée à disparaître.

⁵⁹¹ La notion de propriété catégorique est difficile à définir. Les définitions qui ont été proposées ont souvent été faites par distinction d'autres notions, telle que la notion de disposition, elles-mêmes polysémiques. Pour un exemple, voir : Ellis B (2010) « Causal Powers and Categorical Properties », pp. 133-142. In Marmodoro A (ed.) *The Metaphysics of Powers: Their Grounding and Their Manifestations*. London : Routledge.

⁵⁹² Le fait de décrire les propriétés catégoriques comme des propriétés essentielles est probablement plus discutable encore que de les définir comme des propriétés intrinsèques. Ce sera néanmoins ce que nous entendrons par propriété catégorique à l'égard des cellules souches dans la mesure où nous souhaitons décrire une conception marquée par l'idée que la propriété souche définit les cellules souches comme appartenant à une espèce naturelle.

⁵⁹³ Sur les propriétés intrinsèques, voir, par exemple, Lewis D (1983) « Extrinsic Properties », *Philosophical Studies*, 44: 197-200.

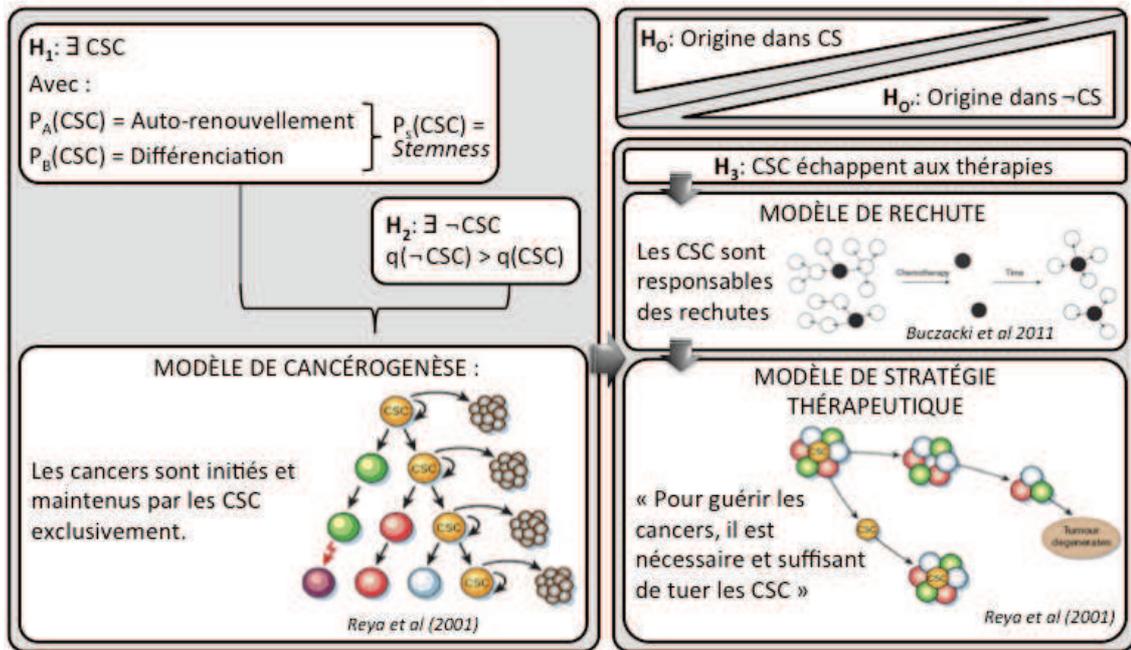


Figure 48. Schéma de la théorie des CSC (rappel de la Figure 16, chapitre 2).

L'efficacité de cette stratégie thérapeutique repose à la fois sur l'existence d'une espèce naturelle 'cellule souche' et sur le dogme (D1) du modèle hiérarchique de différenciation, à savoir que la différenciation est irréversible, ainsi que le montrerons ce chapitre et le suivant. Peut-elle répondre, et comment, aux difficultés internes au concept de CSC, en particulier l'hétérogénéité potentielle des cellules auxquelles il fait référence, que la partie II a mises en évidence ?

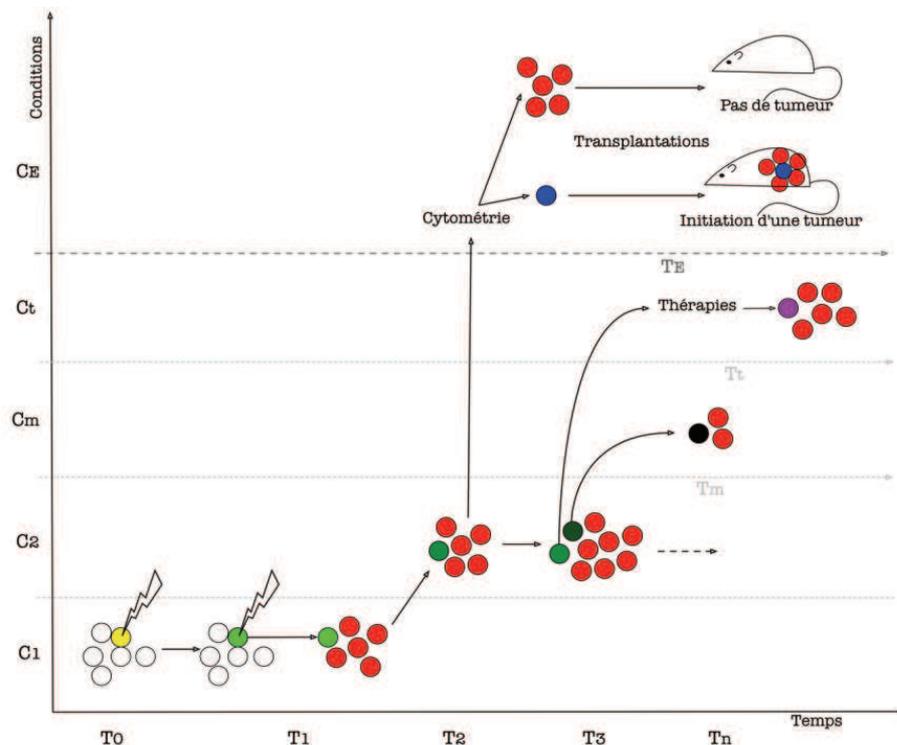


Figure 49. Référents multiples des CSC (rappel Figure 34, chapitre 5).

Le chapitre 5 avait établi que le référent du concept de CSC était plus ouvert que le concept ne le laissait entendre (Figure 49, pour rappel). J'avais montré qu'il pouvait inclure la cellule souche initialement mutée mais encore précancéreuse (cellule jaune), la cellule souche mutée cancéreuse initiant le cancer originel et ses cellules souches cancéreuses filles sujettes à évolution clonale (les différentes cellules vertes), les cellules souches cancéreuses capables de métastaser et d'initier un nouveau cancer dans un organe secondaire (cellule noire) et les cellules souches cancéreuses ayant résisté aux pressions de sélection infligées par des thérapies (cellule fuchsia), toutes pouvant être différentes des cellules souches cancéreuses isolées en laboratoire, capables d'initier des cancers dans des souris immunodéficientes (cellules bleues). La thérapie anti-CSC doit cibler toutes les CSC présentes dans les cancers à traiter, sans quoi elle ne saurait garantir la guérison du patient. Cela implique *a minima* toutes les CSC du cancer d'origine, évolution clonale incluse (les cellules vertes) et les CSC métastatiques, le cas échéant. Les cellules précancéreuses peuvent également représenter une cible importante dans la mesure où elles sont susceptibles d'amorcer un nouveau cancer. Cependant, ce cancer ne saurait être considéré comme une rechute. Par conséquent, il s'agit d'une cible préventive plutôt que curative, au sens strict. Enfin, les CSC résistantes aux thérapies ne devraient pas, en théorie, faire partie du paysage des thérapies ciblant les CSC puisque, par principe, aucune CSC ne doit y résister. Reste, sur le plan pratique, à préciser dans les critères d'inclusion des essais cliniques de phase 3 que les patients doivent être vierges de tout traitement. Autrement, le médicament devra également être capable de cibler les CSC résistantes aux thérapies.

Deux types de solutions doivent être distinguées face à ce problème : les solutions théoriques, d'un côté, et les solutions empiriques de l'autre. Les secondes diffèrent notablement, à l'heure actuelle, des premières. Commençons par la réponse théorique. Si la propriété souche est une propriété catégorique, alors elle représente une identité plus fondamentale qui regroupe toutes les populations de cellules distinguées ci-dessus, en dépit de leurs différences. Pour cibler l'ensemble des CSC il suffirait donc de cibler la propriété souche et le problème de l'hétérogénéité disparaîtrait. Pour cela, il faudrait donc identifier un signature moléculaire (génétique ou épigénétique⁵⁹⁴) de la propriété souche. Cette condition renvoie au problème de la signature moléculaire discuté à propos des cellules souches non-cancéreuses, au chapitre 6, section 6.2. J'ai montré que cette recherche

⁵⁹⁴ Pour les CSC, l'équipe de John Dick a montré que ce portrait pourrait ne pas être génétique mais épigénétique. Notta F, Mullighan CG, Wang JC, Poepl A, Doulatov S, Phillips LA, Ma J, Minden MD, Downing JR and Dick JE (2011) « Evolution of human BCR-ABL1 lymphoblastic leukaemia-initiating cells » *Nature* 469(7330): 362-367.

reposait sur deux présupposés : (P1) les propriétés d'auto-renouvellement et de différenciation, c'est-à-dire la propriété souche, permettent une distinction qualitative entre cellules souches et cellules non-souches et (P2) la propriété souche est réductible à un ensemble de propriétés moléculaires. Or, ces présupposés rencontrent des difficultés. En effet, sauf révision des entités appartenant à la catégorie des cellules souches, P1 est faux. Les propriétés d'auto-renouvellement et de différenciation ne sont pas spécifiques des cellules souches, ni séparément, ni collectivement, ce qui rend P2 inutile (voir chapitre 6, section 6.1). Par extension, au sein des cancers, ni ces propriétés ni leur réduction moléculaire ne seront spécifiques des CSC. Ceci ne représente pas un problème majeur pour la stratégie thérapeutique anti-CSC dans la mesure où le risque qui serait induit par le ciblage de ces deux propriétés est de cibler une population plus large que les seules CSC. L'efficacité de la stratégie repose sur l'élimination de toutes les CSC. Celle-ci n'est pas compromise par le fait d'éliminer aussi des cellules cancéreuses non-souches. En revanche, le challenge majeur, pour les partisans de la théorie des CSC et de ce modèle thérapeutique est de distinguer les CSC des cellules souches non-cancéreuses. En effet, la destruction des cellules souches normales compromettrait la survie du patient. Il faut donc éliminer les CSC tout en préservant les cellules souches non-cancéreuses. Cibler les CSC à travers leur propriété fondamentale 'souche' représente donc une difficulté majeure. Il existe au moins deux solutions théoriques à ce problème. La première serait l'identification d'une cible spécifique aux CSC par distinction des cellules souches normales. C'est la stratégie communément développée par les laboratoires de recherche aujourd'hui. La seconde solution serait de vectoriser les médicaments. Les médicaments vectorisés sont des médicaments encapsulés dans des nanoparticules dont l'objectif est double : préserver la substance active des interactions avec l'organisme jusqu'à ce que la cible soit atteinte et préserver l'organisme du médicament⁵⁹⁵. Les nanovecteurs doivent donc acheminer le traitement jusqu'aux cellules cancéreuses et protéger les cellules souches non-cancéreuses⁵⁹⁶. Si, dans un patient donné, ce but est en effet atteint, qu'il existe une espèce

⁵⁹⁵ Voir l'analyse de Bensaude-Vincent B and Loeve S (2013) « Military and Alternative Metaphors in Nanomedicine: The Case of Targeted Drug Delivery », *Science as Culture*, à paraître.

Pour l'anecdote, l'antigène CD47 est utilisé pour protéger les nanovecteurs eux-mêmes de la phagocytose. Voir : Rodriguez PL, Harada T, Christian DA, Pantano DA, Tsai RK and Discher DE (2013) « Minimal "Self" peptides that inhibit phagocytic clearance and enhance delivery of nanoparticles » *Science* 339(6122): 971-975.

⁵⁹⁶ Cette stratégie est en cours de développement en cancérologie. Voir par exemple : Shapira A, Livney YD, Broxterman HJ and Assaraf YG (2011) « Nanomedicine for targeted cancer therapy: towards the overcoming of drug resistance » *Drug Resist Updat* 14(3): 150-163.

naturelle 'cellule souche' et que le médicament élimine toutes les cellules de cette espèce, alors la théorie des CSC prédit une guérison définitive du patient.

J'en viens à la pratique. Si les discours, et même la recherche fondamentale, suivent la théorie, les pratiques en sont bien loin, dès qu'il s'agit de développer des thérapies. Le laboratoire d'Irving Weissman offre un exemple paradigmatique. Cette équipe conduit actuellement deux essais cliniques (mars 2013). L'un dont l'objectif est d'identifier les CSC des carcinomes et des cancers secondaires métastatiques du poumon à travers une étude du profil génétique d'échantillon⁵⁹⁷. L'autre dont l'objectif est ainsi décrit :

Nous faisons l'hypothèse que tous les cancers humains possèdent une sous-population de CSC qui contrôle le développement de la tumeur et les potentielles récurrences ou métastases de la maladie. L'objectif principal de cette étude est de développer une stratégie d'isolement/enrichissement prospectif des CSC de tumeurs humaines de tissus d'origines diverses. En outre, comme point final de cette étude, nous caractériserons les voies de signalisations moléculaires et/ou les antigènes spécifiques des CSC, afin de cibler spécifiquement ces CSC⁵⁹⁸.

Irving Weissman a, par ailleurs, fondé la société de biotechnologie Cellerant dont l'un des programmes de recherche est « la découverte d'anticorps des CSC de leucémies myéloïdes aiguës, myélomes multiples et syndromes myélodysplasiques »⁵⁹⁹. La recherche est chaque fois présentée sous la forme théorique décrite ci-dessus. Pourtant, dans la pratique, le problème principal auquel l'équipe fait face est celui de la distinction entre les cellules souches normales et les cellules souches cancéreuses. Or, à ce sujet, la signature moléculaire apparaît très aléatoire, fondée de manière empirique mais sans démonstration

Elle est aussi envisagée pour cibler les CSC. Voir par exemple : Vinogradov S and Wei X (2012) « Cancer stem cells and drug resistance: the potential of nanomedicine » *Nanomedicine (Lond)* 7(4): 597-615.

⁵⁹⁷ Voir :

http://med.stanford.edu/profiles/frdActionServlet?choiceId=showClinicalTrial&&studyId=NC_T00568906&fid=4605

⁵⁹⁸ « We hypothesize that all human malignancies harbour a subpopulation of tumor initiating cells/cancer stem cells (CSCs) that drives tumor development and potentially recurrence or metastasis of the disease. The primary aim of this study is to develop strategies for prospective isolation/enrichment of CSCs from human tumors of different tissue origins. In addition, we will characterize the signaling pathways and/or tumor specific antigens that are specific for CSCs, in order to specifically target these CSCs as the endpoint of this study. » Description de l'essai clinique intitulé « A Comprehensive Study to Isolate Tumor-initiating Cells From Human Epithelial Malignancies »

http://med.stanford.edu/profiles/frdActionServlet?choiceId=showClinicalTrial&&studyId=NC_T01060319&fid=4605 (le 27/03/13)

⁵⁹⁹ « The Company also has a Cancer Stem Cell (CSC) antibody discovery program focused on therapies for acute myeloid leukemia, multiple myeloma and myelodysplastic syndrome. » <http://www.cellarant.com/> (le 27/03/13).

du caractère catégorique de cette signature, c'est-à-dire sans démonstration de sa présence dans *toutes* les CSC des cancers examinés. Actuellement, la plus prometteuse en la matière est l'antigène CD47, sur lequel l'équipe travaille déjà depuis une bonne dizaine d'années. CD47 est une protéine transmembranaire connue pour envoyer un signal « ne me mange pas » (*don't eat me signal*) aux macrophages et aux cellules dendritiques du système immunitaire qui permet à la cellule porteuse de cet antigène de ne pas se faire phagocyter⁶⁰⁰. Elle n'est pas spécifique aux CSC. Cependant, elle est devenue particulièrement porteuse d'espoir en 2009, lorsque l'équipe d'Irving Weissman montra qu'elle était surexprimée dans les cellules souches leucémiques par rapport aux cellules souches hématopoïétiques. Dès lors, sa sur-expression était considérée comme une signature moléculaire potentielle des CSC leucémiques à travers lesquelles ces dernières pourraient être ciblées et détruites. Or, en effet, les résultats montraient que le traitement d'échantillons de leucémies avec des anticorps monoclonaux anti-CD47 (c'est-à-dire des anticorps se fixant spécifiquement sur les antigène CD47) aboutissait, *in vitro*, à une augmentation considérable du nombre de CSC phagocytées alors que ce même traitement appliquées aux cellules hématopoïétiques n'augmentait pas le taux de phagocytose des cellules souches hématopoïétiques par rapport aux populations témoins⁶⁰¹. Cet exemple est particulièrement intéressant à deux titres. Premièrement, si la surexpression de l'antigène CD47 distingue les CSC des cellules souches hématopoïétiques, il est en revanche peu spécifique, parmi les cellules cancéreuses, des CSC. La surexpression de cet antigène est un mécanisme de défense contre le système immunitaire développé par de nombreux cancers. C'est d'ailleurs cette observation qui avait poussé le laboratoire d'Irving Weissman à développer des anticorps monoclonaux anti-CD47 en première instance. Il est notable que les articles qui ont été publiés par l'équipe après 2009 sur cette ligne de recherche, sont beaucoup moins focalisés sur les CSC. Ils se contentent de s'assurer que la population des CSC tombe bien dans leur cible thérapeutique, à l'image de l'article de Stephen Willingham *et al* publié dans le journal

⁶⁰⁰ Jaiswal S, Chao MP, Majeti R, Weissman IL (2010) « Macrophages as mediators of tumor immunosurveillance ». *Trends Immunol* 31: 212-219.

Notons que cette protéine transmembranaire est associée à bien d'autres fonctions. Voir : Brown EJ, Frazier WA (2001) « Integrin-associated protein (CD47) and its ligands ». *Trends Cell Biol* 11: 130-135.

⁶⁰¹ Majeti R, Chao MP, Alizadeh AA, Pang WW, Jaiswal S, Gibbs KD, Jr., van Rooijen N and Weissman IL (2009) « CD47 is an adverse prognostic factor and therapeutic antibody target on human acute myeloid leukemia stem cells » *Cell* 138(2): 286-299.

Voir aussi : Jaiswal S, Jamieson CH, Pang WW, Park CY, Chao MP, Majeti R, Traver D, van Rooijen N and Weissman IL (2009) « CD47 is upregulated on circulating hematopoietic stem cells and leukemia cells to avoid phagocytosis » *Cell* 138(2): 271-285 et Ritchie DS and Smyth MJ (2009) « A new therapeutic target for leukemia comes to the surface » *Cell* 138(2): 226-228.

PNAS en janvier 2012 qui ne mentionne les CSC que sur une dizaine de lignes et une figure. Ils montrent que des CSC sont bien phagocytées suite au traitement. Aucune preuve n'est donnée, en revanche, que *toutes* les CSC surexpriment l'antigène CD47. L'inférence repose sur l'homogénéité des CSC. Un argument faible puisque le lien entre cette catégorie de cellules et cet antigène est inconnu. L'exemple des recherches autour de l'anticorps anti-CD47 est également intéressant parce qu'il a fait ressurgir l'espoir perdu d'une thérapie universelle⁶⁰². En effet, l'équipe de Weissman a retrouvé des résultats comparables pour une variété de cancers : cancers de la vessie⁶⁰³, lymphomes non-Hodgkiniens⁶⁰⁴, sarcomes des muscles lisses (léiomyosarcome)⁶⁰⁵, myélomes multiples⁶⁰⁶ ou encore, cancers des ovaires, du sein et du colon⁶⁰⁷. Ce succès, pour l'instant limité à des études *in vitro* et *in vivo* par transplantation dans des souris a permis à Irving Weissman, Arash Alizadeh, Mark Chao et Ravindra Majeti de déposer un brevet⁶⁰⁸ et à l'équipe de recevoir une bourse de 20 millions de dollars du *California Institute for Regenerative Medicine* pour initier un essai clinique

⁶⁰² Voir les postes écrit à ce sujet sur les site des revues scientifiques *Science* et *Nature Reports Stem Cells*, ainsi que sur le site de Stanford :

<http://news.sciencemag.org/sciencenow/2012/03/one-drug-to-shrink-all-tumors.html>

<http://www.nature.com/gate1.inist.fr/stemcells/2009/0908/090827/full/stemcells.2009.116.html#B3>

<http://med.stanford.edu/ism/2012/march/cd47.html>

⁶⁰³ Chan KS, Espinosa I, Chao M, Wong D, Ailles L, Diehn M, Gill H, Presti J, Jr., Chang HY, van de Rijn M, Shortliffe L and Weissman IL (2009) « Identification, molecular characterization, clinical prognosis, and therapeutic targeting of human bladder tumor-initiating cells » *Proc Natl Acad Sci U S A* 106(33): 14016-14021.

⁶⁰⁴ Chao MP, Alizadeh AA, Tang C, Myklebust JH, Varghese B, Gill S, Jan M, Cha AC, Chan CK, Tan BT, Park CY, Zhao F, Kohrt HE, Malumbres R, Briones J, Gascoyne RD, Lossos IS, Levy R, Weissman IL and Majeti R (2010) « Anti-CD47 antibody synergizes with rituximab to promote phagocytosis and eradicate non-Hodgkin lymphoma » *Cell* 142(5): 699-713.

⁶⁰⁵ Edris B, Weiskopf K, Volkmer AK, Volkmer JP, Willingham SB, Contreras-Trujillo H, Liu J, Majeti R, West RB, Fletcher JA, Beck AH, Weissman IL and van de Rijn M (2012) « Antibody therapy targeting the CD47 protein is effective in a model of aggressive metastatic leiomyosarcoma » *Proc Natl Acad Sci U S A* 109(17): 6656-6661.

⁶⁰⁶ Kim D, Wang J, Willingham SB, Martin R, Wernig G and Weissman IL (2012) « Anti-CD47 antibodies promote phagocytosis and inhibit the growth of human myeloma cells » *Leukemia* 26(12): 2538-2545.

⁶⁰⁷ Willingham SB, Volkmer JP, Gentles AJ, Sahoo D, Dalerba P, Mitra SS, Wang J, Contreras-Trujillo H, Martin R, Cohen JD, Lovelace P, Scheeren FA, Chao MP, Weiskopf K, Tang C, Volkmer AK, Naik TJ, Storm TA, Mosley AR, Edris B, Schmid SM, Sun CK, Chua MS, Murillo O, Rajendran P, Cha AC, Chin RK, Kim D, Adorno M, Raveh T, Tseng D, Jaiswal S, Enger PO, Steinberg GK, Li G, So SK, Majeti R, Harsh GR, van de Rijn M, Teng NN, Sunwoo JB, Alizadeh AA, Clarke MF and Weissman IL (2012) « The CD47-signal regulatory protein alpha (SIRPα) interaction is a therapeutic target for human solid tumors » *Proc Natl Acad Sci U S A* 109(17): 6662-6667.

⁶⁰⁸ Brevet US 20120282174 A1 intitulé « Methods for Manipulating Phagocytosis Mediated by CD47 ».

de phase 1⁶⁰⁹. Il a été très médiatisé et abondamment commenté sur le net où l'on retrouve la notion de « boulet magique »⁶¹⁰. Il est à noter que cette notion apparaît à la première ligne de la session « *background* » du brevet déposé par Irving Weissman et ses collègues. En attendant que la démonstration d'un lien entre CD47 et CSC soit établi, la théorie devance largement la pratique.

Pour résumer, la stratégie thérapeutique anti-CSC de la théorie des CSC repose sur la conception traditionnelle des cellules souches. Ainsi, si la propriété souche est une propriété catégorique, la science devrait permettre d'obtenir un ciblage spécifique des CSC et, ce faisant, un traitement efficace des cancers. En l'absence de connaissance rigoureuse à l'égard de cette propriété souche au niveau moléculaire, la pratique s'avère relativement distante de cette théorie.

7.2. Toutes les oppositions au modèle classique ne sont pas des oppositions à la conception 'catégorique' de la propriété souche

Avant de présenter les trois conceptions alternatives de la propriété souche, je voudrai indiquer que toutes les oppositions et critiques de la conception classique des cellules souches et de leur différenciation n'affectent pas le statut ontologique de la propriété souche. Cette section participe ainsi à montrer que les distinctions proposées ont pour objectif de saisir les oppositions portant sur l'ontologie de la propriété souche, parce que ce sont celle-ci seulement qui ont des conséquences pour la stratégie thérapeutique anti-CSC. Deux exemples seront développés afin d'illustrer ce point. Tous deux sont tirés des débats qui animent, aujourd'hui, la communauté des spécialistes du système hématopoïétique.

Pour le système hématopoïétique, le modèle hiérarchique traditionnel, très largement instauré par l'équipe d'Irving Weissman, enseigné dans les universités et connu de tous les hématologues et immunologues, est régulièrement défié. Un certain nombre de

⁶⁰⁹ Voir : <http://planetsave.com/2012/03/27/cancer-treatment-breakthrough-a-single-antibody-drug-found-to-shrink-or-halt-all-tumors/#95bT7fqUMi7avxQU.99>

⁶¹⁰ A titre d'exemples, voir :

<http://www.sciencebasedmedicine.org/index.php/a-universal-anti-cancer-drug/>
<http://vcnwosu.blogspot.de/2012/04/is-cd47-magic-bullet-for-cancer-cure.html>
<http://stanmed.stanford.edu/2012summer/article7.html>
<https://aneyetothefuture.com/node/229>

ces contestations ont porté sur la constitution de la hiérarchie. La Figure 50 représente ainsi quatre modèles hiérarchiques distincts. Ces contestations portent d'une part sur les catégories de progéniteurs et, d'autre part, sur les relations de différenciation entre ces catégories. Ainsi, par exemple, la catégorie des progéniteurs communs myéloïdes (CMP) n'existe pas selon l'équipe de Sten Eirik Jacobsen (Figure 50 B)⁶¹¹. Alors que les progéniteurs des granulocytes et macrophages sont produits exclusivement par les CMP selon la vision traditionnelle (Figure 50 A)⁶¹², il sont produits exclusivement par les progéniteurs multipotents lymphoïdes (LMPP) selon l'équipe de Sten Eirik Jacobsen (Figure 50 B) et peuvent être produits à partir des progéniteurs CMP et LMPP selon l'équipe de Koichi Akashi (Figure 50 D)⁶¹³. Dans ce premier exemple, les débats portent, d'une part, sur les groupements naturels des cellules (ou les espèces naturelles) et, d'autre part, sur la restriction des lignages, avec notamment, l'émergence de l'idée qu'une catégorie de cellules peut être produite par différentes voies développementales⁶¹⁴. Pour autant, ni l'existence d'espèces naturelles de cellules différentes (notamment de cellules souches) ni les dogmes du modèle hiérarchique développemental ne sont remis en question. En effet, quelque soit le modèle hiérarchique défendu, la différenciation s'effectue toujours à science

⁶¹¹ Adolfsson J, Mansson R, Buza-Vidas N, Hultquist A, Liuba K, Jensen CT, Bryder D, Yang L, Borge OJ, Thoren LA, Anderson K, Sitnicka E, Sasaki Y, Sigvardsson M and Jacobsen SE (2005) « Identification of Flt3+ lympho-myeloid stem cells lacking erythro-megakaryocytic potential a revised road map for adult blood lineage commitment » *Cell* 121(2): 295-306.

⁶¹² Kondo M, Weissman IL and Akashi K (1997) « Identification of clonogenic common lymphoid progenitors in mouse bone marrow » *Cell* 91(5): 661-672 ; Akashi K, Traver D, Miyamoto T and Weissman IL (2000) « A clonogenic common myeloid progenitor that gives rise to all myeloid lineages » *Nature* 404(6774): 193-197.

⁶¹³ Arinobu Y, Mizuno S, Chong Y, Shigematsu H, Iino T, Iwasaki H, Graf T, Mayfield R, Chan S, Kastner P and Akashi K (2007) « Reciprocal activation of GATA-1 and PU.1 marks initial specification of hematopoietic stem cells into myeloerythroid and myelolymphoid lineages » *Cell Stem Cell* 1(4): 416-427.

⁶¹⁴ Pour les GMP, voir aussi : Pelus LM and Hoggatt J (2011) « Pleiotropic effects of prostaglandin E2 in hematopoiesis; prostaglandin E2 and other eicosanoids regulate hematopoietic stem and progenitor cell function » *Prostaglandins & Other Lipid Mediators* 96(1-4): 3-9, figure 1 ; Boiko JR and Borghesi L (2012) « Hematopoiesis sculpted by pathogens: Toll-like receptors and inflammatory mediators directly activate stem cells » *Cytokine* 57(1): 1-8, figure 1 ; Panigrahi AK and Pati D (2012) « Higher-order orchestration of hematopoiesis: Is cohesin a new player? » *Experimental Hematology* 40(12): 967-973, figure 1.

Pour le cas des cellules dendritiques voir : Passegue E, Jamieson CH, Ailles LE and Weissman IL (2003) « Normal and leukemic hematopoiesis: are leukemias a stem cell disorder or a reacquisition of stem cell characteristics? » *Proc Natl Acad Sci U S A* 100 (Suppl 1): 11842-11849, figure 1 ; Tan BT, Park CY, Ailles LE and Weissman IL (2006) « The cancer stem cell hypothesis: a work in progress » *Lab Invest* 86(12): 1203-1207, figure 1 ; Rossi L, Lin KK, Boles NC, Yang L, King KY, Jeong M, Mayle A and Goodell MA (2012) "Less is more: unveiling the functional core of hematopoietic stem cells through knockout mice" *Cell Stem Cell* 11(3): 302-317, figure 1.

unique (D1) avec des destins cellulaires déterminés (D2)⁶¹⁵. Ainsi, même dans le modèle défendu par l'équipe de Koichi Akashi atteste de la possibilité d'obtenir le même type cellulaire (les progéniteurs des granulocytes et macrophages) à partir de différentes catégories de progéniteurs CMP et LMP, les possibilités sont déterminées. Les progéniteurs CMP ne peuvent pas donner de progéniteurs communs lymphoïdes (CLP) et les progéniteurs LMP ne peuvent pas donner de progéniteurs des mégacaryocytes et érythrocytes (MEP). Ces modèles sont tous compatibles avec la conception de la propriété souche comme une 'propriété catégorique', la propriété souche y est implicitement considérée comme une propriété intrinsèque propre aux cellules souches.

Ainsi, ce premier exemple montre comment des équipes comme celles d'Irving Weissman, de Sten Eirik Jacobsen et de Koichi Akashi, peuvent être regroupées sous une conception commune, en dépit d'oppositions scientifiques importantes.

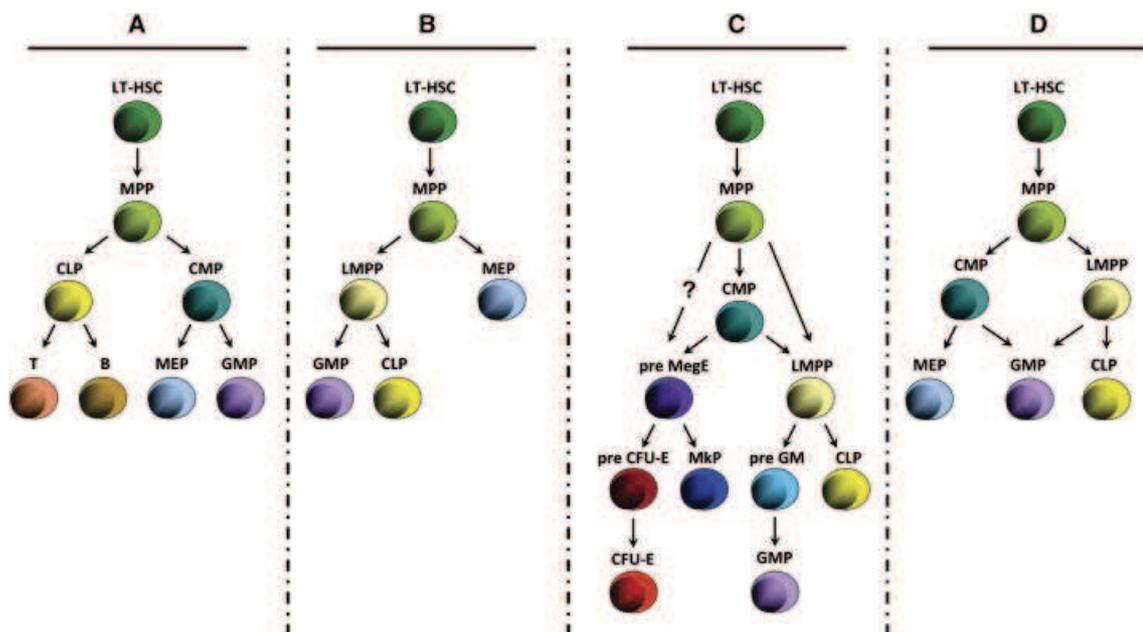


Figure 50. Représentation de quatre modèles hiérarchiques des cellules souches et progéniteurs du système hématopoïétique par Cornelis Murre⁶¹⁶. (A) Modèle traditionnel proposé par l'équipe de Irving Weissman⁶¹⁷; (B) Modèle hiérarchique proposé par l'équipe de Sten Eirik Jacobsen⁶¹⁸; (C) Modèle hiérarchique proposé

⁶¹⁵ Voir chapitre 6 section 6.3 sur ces deux dogmes.

⁶¹⁶ Murre C (2007) « Defining the pathways of early adult hematopoiesis » *Cell Stem Cell* 1(4): 357-358, figure 1 p. 358. Voir aussi Murre C (2009) « Developmental trajectories in early hematopoiesis » *Genes Dev* 23(20): 2366-2370.

⁶¹⁷ Kondo M, Weissman IL and Akashi K (1997) « Identification of clonogenic common lymphoid progenitors in mouse bone marrow » *Cell* 91(5): 661-672; Akashi K, Traver D, Miyamoto T and Weissman IL (2000) « A clonogenic common myeloid progenitor that gives rise to all myeloid lineages » *Nature* 404(6774): 193-197.

⁶¹⁸ Adolfsson J, Mansson R, Buza-Vidas N, Hultquist A, Liuba K, Jensen CT, Bryder D, Yang L, Borge OJ, Thoren LA, Anderson K, Sitnicka E, Sasaki Y, Sigvardsson M and Jacobsen SE (2005) « Identification of Flt3+ lympho-myeloid stem cells lacking erythro-megakaryocytic potential a revised road map for adult blood lineage commitment » *Cell* 121(2): 295-306.

par l'équipe de David Bryder en association avec celle d'Irving Weissman⁶¹⁹ ; (D) Modèle hiérarchique proposé par l'équipe de Koichi Akashi⁶²⁰. LT-HSC : *long-term hematopoietic stem cell* ; MPP : *multipotent progenitor*.

Le deuxième exemple est tiré des recherches les plus récentes. Une équipe hollandaise a très récemment étudié les potentiels de différenciation des progéniteurs multipotents au niveau cellulaire⁶²¹. Les protocoles classiques d'identification des potentiels cellulaires se font au niveau de populations de cellules (voir le chapitre 3). Cette équipe a utilisé la technique du « code-barre cellulaire », consistant à marquer une cellule et sa descendance via la transfection d'une petite séquence d'ADN dans la cellule mère, pour marquer des cellules souches et progéniteurs multipotents hématopoïétiques individuellement. Chaque cellule de l'échantillon de départ est marquée d'un code-barres distinct qu'elle transmet ensuite à toutes ses cellules filles. Cela permet de suivre le destin cellulaire de chaque cellule marquée et de voir quel type de cellules elle est capable de produire, c'est-à-dire d'évaluer ses capacités de différenciation. Les résultats de cette étude remettent en question l'homogénéité de la population des progéniteurs multipotents (MPP, Figure 50 A-D). Ils montrent qu'il s'agit en fait d'une population déjà hétérogène en terme de potentiel de différenciation. Certains progéniteurs ne produisent que des cellules myéloïdes (Figure 51, en bleu) ou que des cellules B (en jaune) ou que des cellules dendritiques (en rouge), d'autres produisent des cellules myéloïdes et des cellules B (en vert) ou des cellule B et de cellules dendritiques (en orange) ou des cellules dendritiques et des cellules myéloïdes (en violet). Très peu sont véritablement multipotentes et produisent à la fois des cellule myéloïdes, des cellules B et des cellules dendritiques (Figure 51, en gris). Si ces résultats remettent en question l'existence d'une catégorie discrète de progéniteurs multipotents, ils ne remettent pas pour autant en cause l'existence d'une espèce naturelle 'cellule souche', ni même de catégories discrètes de progéniteurs. Concernant les cellules souches, les résultats obtenus par l'équipe montrent que les cellules souches hématopoïétiques participent individuellement à la production de tous les types cellulaires différenciés. Ces résultats pourraient donc même renforcer l'idée qu'il existe une catégorie

⁶¹⁹ Pronk CJ, Rossi DJ, Mansson R, Attema JL, Norddahl GL, Chan CK, Sigvardsson M, Weissman IL and Bryder D (2007) « Elucidation of the phenotypic, functional, and molecular topography of a myeloerythroid progenitor cell hierarchy » *Cell Stem Cell* 1(4): 428-442.

⁶²⁰ Arinobu Y, Mizuno S, Chong Y, Shigematsu H, Iino T, Iwasaki H, Graf T, Mayfield R, Chan S, Kastner P and Akashi K (2007) « Reciprocal activation of GATA-1 and PU.1 marks initial specification of hematopoietic stem cells into myeloerythroid and myelolymphoid lineages » *Cell Stem Cell* 1(4): 416-427.

⁶²¹ Naik SH, Perie L, Swart E, Gerlach C, van Rooij N, de Boer RJ and Schumacher TN (2013) « Diverse and heritable lineage imprinting of early haematopoietic progenitors » *Nature* 496(7444): 229-232.

de cellules souches distincte des progéniteurs puisque la multipotence pourrait s'avérer beaucoup plus spécifique des cellules souches hématopoïétiques que ce que l'on pensait. Concernant les progéniteurs multipotents, cette équipe a montré que les divers destins cellulaires qu'ils mettent en évidence semblent scellés : leurs patterns de différenciation est robuste d'une souris à l'autre. Ils parlent à ce sujet d'une empreinte, par opposition à une détermination stochastique ou induite par le microenvironnement. Il existerait donc six catégories naturelles de cellules là où le modèle hiérarchique classique n'en voyait qu'une.

Ainsi, bien que cette équipe se conçoive en oppositions avec la conception Weismanienne, leur conception des cellules souches et de la différenciation est fondamentalement similaire.

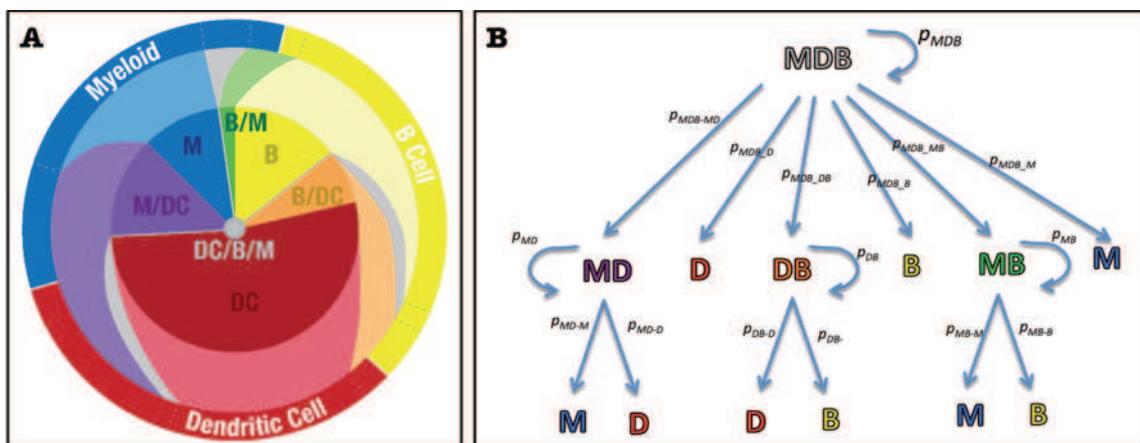


Figure 51. Étude des progéniteurs hématopoïétiques multipotents au niveau cellulaire. Figure A modifiée depuis Naik *et al* (2013)⁶²². Figure B modifiée depuis Périé (2013) non-publié⁶²³. M : cellules myéloïdes, D : cellules dendritiques, B : cellules B.

Dans les deux exemples présentés, les débats, aussi vifs soient-ils, n'ont pas de conséquences sur le statut ontologique de la propriété souche et, ce faisant, ils n'ont pas de conséquence particulière pour la stratégie thérapeutique anti-CSC. En effet, dans tous les cas, la catégorie des cellules souches (et donc des CSC) est une catégorie naturelle définie par la propriété catégorique 'souche'. Ce faisant, les CSC sont éliminables en droit (il doit être possible de les cibler). D'autre part, parvenir à une telle élimination devrait garantir la guérison⁶²⁴.

Ces deux exemples permettent de clarifier la nature des distinctions qui seront présentées dans ce chapitre et dans le suivant : il s'agit de distinctions portant sur

⁶²² Naik SH, Perie L, Swart E, Gerlach C, van Rooij N, de Boer RJ and Schumacher TN (2013) « Diverse and heritable lineage imprinting of early haematopoietic progenitors » *Nature* 496(7444): 229-232, (ici, figure supplémentaire 1b).

⁶²³ Périé L, unpublished. Leïla Périé a présenté ce modèle lors d'une conférence au séminaire « Philosophie et Immunologie » à l'IHPST en février 2013.

⁶²⁴ Ceci sera rendu explicite au chapitre 8.

l'ontologie de la propriété souche. Ces distinctions n'ont donc pas vertu à rendre compte de tous les débats et de toutes les positions adoptées par les biologistes des cellules souches. Ce point étant clarifié, il est maintenant possible de se concentrer sur les débats autour des cellules souches qui font des différences ontologiques et qui ont des conséquences thérapeutiques.

7.3. La propriété souche comme 'propriété dispositionnelle'

Parmi les questions portant sur l'identité des cellules souches examinées au chapitre 6, deux d'entre elles interrogent la propriété souche sans remettre en question l'existence d'une espèce naturelle 'cellules souches'. Elles sont toutes les deux liées. La première s'appuyait sur la quiescence et interrogeait la possibilité d'identifier une signature moléculaire de la propriété souche qui permette de distinguer *toutes* les cellules souches des cellules non-souches (voir chapitre 6, section 6.2). La seconde s'appuyait sur la version faible de l'hypothèse de la niche et interrogeait le rôle de cette dernière dans l'activité de la propriété souche (voir chapitre 6, section 6.3.4). Elles sont liées dans la mesure où la quiescence est régulée par la niche, mais également parce que, dans les deux cas, la propriété souche est alternativement « masquée » ou exprimée dans les cellules souches.

Rappelons brièvement les deux arguments. Le premier consistait à indiquer que même si (P1) et (P2) étaient vraies, c'est-à-dire même si la propriété souche permettait une distinction qualitative entre cellules souches et cellules non-souches et qu'elle était réductible à une signature moléculaire complexe, une telle signature ne permettrait pas d'isoler *toutes* les cellules souches car les cellules souches quiescentes ne l'exprimeraient pas. La propriété souche serait « masquée », sur le plan moléculaire, pour ces cellules. En 2002, Peter Quesenberry, Gerald Colvin et Jean-François Lambert avaient utilisé la métaphore artistique du clair-obscur (*chiaroscuro*) pour décrire le portrait moléculaire des cellules souches. Le clair-obscur est une technique de peinture qui consiste à utiliser de forts contrastes d'ombres et de lumières qui cachent et révèlent l'objet. Le clair et l'obscur sont tous deux nécessaires à la représentation de l'objet, comme l'illustre la Figure 52. L'utilisation de la métaphore du clair-obscur à l'égard des cellules souches sert à indiquer qu'un portrait moléculaire des cellules souches fondé sur leur division cellulaire (auto-renouvellement et différenciation) reviendrait à enlever l'obscur dans un tableau clair-obscur (Figure 52 B), voire à ne peindre que le clair (Figure 52 C).

En essence, l'identité de la cellule souche serait masquée à certains points dans le cycle et, dans une population non-synchronisée de cellules, à tout instant t , un certain nombre de véritables cellules souches ne seraient pas détectables⁶²⁵.

Un véritable portrait moléculaire des cellules souches devrait représenter à la fois le clair et l'obscur, c'est-à-dire l'état moléculaire des cellules souches en division et des cellules souches quiescentes.



Figure 52. Illustration de la métaphore du *chiaroscuro* à partir d'un tableau de Caravaggio (*San Girolamo in meditazione*). (A) Image du tableau original. (B) Image retravaillée du tableau : élimination de l'obscur. (C) Image retravaillée du tableau : représentation des parties claires seulement.

Le second argument consistait à soutenir que les propriétés par lesquelles les cellules souches sont définies sont régulées par la niche.

La section 7.3 tente d'analyser la conception des cellules souches portée par les partisans de la version faible de l'hypothèse de la niche, incluant la prise en compte de l'existence de cellules souches quiescentes. Cette conception, que je propose d'appeler 'dispositionnelle', s'apparente à la 'conception catégorique' dans la mesure où elle adopte la même position à l'égard de l'existence d'une espèce naturelle 'cellule souche'. Je montrerai, cependant, qu'elle gagne à être distinguée de la conception catégorique dans la mesure où elle engage la possibilité de développer d'autres types de stratégies thérapeutiques contre les

⁶²⁵ « In essence, the identity of the stem cell would be masked at certain points in the cycle, and in a nonsynchronized population of cells, at any one point in time, a number of true stem cells would not be detectable ». Quesenberry PJ, Colvin GA and Lambert JF (2002) « The chiaroscuro stem cell: a unified stem cell theory ». *Blood* 100(13): 4266-4271, ici p. 4270

Notons que ces auteurs ont par la suite abandonné la métaphore du clair-obscur, qui était relativement confuse dans leur article. Ajoutons que bien que cette métaphore se prête parfaitement à la conception dispositionnelle des cellules souches, l'équipe de Peter Quesenberry a très clairement adopté par la suite une conception systémique. La métaphore qu'il utilise aujourd'hui est celle du continuum, avec laquelle il interroge la catégorie de cellule souche. Voir, par exemple : Quesenberry PJ, Colvin G, Dooner G, Dooner M, Aliotta JM and Johnson K (2007) « The stem cell continuum: cell cycle, injury, and phenotype lability ». *Ann NY Acad Sci* 1106: 20-29.

cancers. Elle est génératrice de programmes de recherches spécifiques qui seront examinés à la section 7.3.3.

7.3.1. Analyse métaphysique et métaphore

Considérée comme une 'propriété catégorique', la propriété souche est essentielle et intrinsèque. Autrement dit, elle existe en vertu de ce qu'est l'objet et non en vertu d'interactions avec le monde (voir section 7.1). Or, la version faible de l'hypothèse de la niche consiste précisément à intégrer un certain nombre d'interactions avec le monde comme des déterminants indispensables à l'expression de la propriété (voir chapitre 6, section 6.3.4, en particulier la Figure 45 représentant le système cellule souche au sommet de la hiérarchie différenciative). L'outil métaphysique qui me semble le plus adéquat pour saisir ce type de propriété est la notion de 'disposition'. Ce concept est équivoque relativement à un certain nombre de questions métaphysiques que seront laissées de côté parce qu'elles ne sont pas déterminantes pour mon projet⁶²⁶. Cependant, face à cette équivocité, l'utilisation du concept de disposition doit être précisée. Par 'propriété dispositionnelle', j'entends une propriété propre à un objet ou à une classe d'objets dont l'expression dépend de facteurs extérieurs à l'objet (ou classe d'objets) en question. Le

⁶²⁶ Déterminer si les biologistes, dont nous tentons de décrire la position ici, sont catégoricalistes, dispositionnalistes ou adoptent des positions intermédiaires telles que le monisme neutre ou l'essentialisme dispositionnel ne nous semble pas avoir d'enjeu particulier. Nous pouvons toutefois indiquer qu'ils sont réalistes à l'égard de la disposition souche. Le dispositionnalisme rendrait difficile de distinguer leur position de la conception classique et le catégoricalisme a tendance à exclure l'environnement de la perception des bases causales de la propriété souche. Le monisme neutre et l'essentialisme dispositionnel ne permettent pas mieux de prendre en compte le rôle causal de l'environnement et ce faisant ne nous apportent pas de distinction éclairante.

Pour un exemple de catégoricalisme, voir les travaux de David Armstrong. Par exemple : Armstrong DM (1968) *A Materialist Theory of the Mind*. Londres : Routledge & Kegan Paul.

Pour un exemple de dispositionnalisme, voir les travaux de Hugh Mellor. Par exemple : Mellor DH (1974) « In Defense of Dispositions », *The Philosophical Review* 83: 157-181 ; Mellor DH (1982) « Counting Comers Correctly ». *Analysis* 42: 96-97.

Pour le monisme neutre, voir : Mumford S (1998). *Dispositions*. Oxford: Oxford University Press.

Pour l'essentialisme dispositionnel, voir : Ellis B & Lierse C (1994) « Dispositional Essentialism », *Australasian Journal of Philosophy*, 72: 27-45.

Pour une discussion générale des difficultés propres au concept de disposition, voir l'article de la Stanford Encyclopedia of Philosophy : Choi S and Fara M (Spring 2012 Edition) « Dispositions », *The Stanford Encyclopedia of Philosophy*, Zalta EN (ed.)

URL = <http://plato.stanford.edu/archives/spr2012/entries/dispositions/>

Voir aussi les travaux de Claudine Tiercelin, en particulier : Tiercelin C (2003) « Sur la réalité des propriétés dispositionnelles ». *Cahiers de philosophie de l'Université de Caen* (38-39), actes du colloque *Le réalisme des universaux*, Caen 28 février 2001: 127-157.

concept de ‘propriété dispositionnelle’ utilisé a donc deux caractéristiques fondamentales. Premièrement, il se distingue du concept de ‘propriété catégorique’, employé pour décrire la conception traditionnelle de la propriété souche, en ceci qu’une propriété dispositionnelle n’est pas nécessairement exprimée par l’objet. Les cellules souches quiescentes n’expriment pas la propriété souche (elles n’expriment ni leur capacité à s’auto-renouveler, ni leur capacité à se différencier). La notion de disposition doit donc permettre de distinguer l’actuel du potentiel. Deuxièmement, le concept de ‘propriété dispositionnelle’ doit être distingué de notions telles que celle de « capacités », en ceci que l’expression d’une disposition dépend fondamentalement de facteurs extérieurs à l’objet, à l’inverse de ma capacité jouer au football dont l’actualisation dépend, grossièrement, de moi⁶²⁷. La notion de disposition doit donc permettre de considérer le complexe objet-environnement comme « base causale » de la disposition ou, autrement dit, de considérer que l’environnement joue un rôle causal déterminant dans l’expression ou la non-expression de la disposition⁶²⁸.

Prenons pour exemple la fragilité, classiquement employée en métaphysique comme exemple de ‘propriété dispositionnelle’. L’écran du *iPhone* est fragile. En cas de chute, il peut se briser (Figure 53 A), contrairement à l’écran du *Mobile Tout Terrain Fortis X*, conçu pour résister aux chocs (Figure 53 B) ou au tout nouvel écran flexible « et par extension incassable nommé YOUM » développé par *Samsung* (Figure 53 C). La fragilité est considérée comme une propriété dispositionnelle parce qu’elle fait référence à sa manifestation (la vitre brisée manifeste la fragilité) et aux conditions de cette manifestation (la chute). Deux points sont essentiels :

- (1) Sans chute ou choc (ou autres stimulus environnementaux de ce genre), *iPhone* ne se cassera pas. L’expression de la fragilité (la brisure) dépend de l’environnement dont le rôle causal est déterminant et nécessaire.

⁶²⁷ Il est évident que la propriété souche dépend toujours d’un certain nombre de ressources pour être exprimée car une cellule souche ne pourra pas se diviser (et donc s’auto-renouveler/différencier) si elle n’est pas fournie en matière première et en énergie, de la même manière que je ne peux pas jouer au foot sans un ballon ou un équivalent de ballon.

⁶²⁸ Les catégoricalistes, tel que David Armstrong, considèrent que les dispositions sont réductibles à des « bases causales » de l’objet, qui sont elles-mêmes des propriétés catégoriques et non dispositionnelles. La conception des cellules souches que je tente de décrire se distingue de cette position dans la mesure où elle admet l’existence de bases causales catégoriques mais refuse que la disposition soit réductible à ces seules bases. S’il est possible d’envisager une interprétation catégoricaliste de la disposition souche, celle-ci engagerait un changement de point de vue concernant l’objet porteur des bases causales : en lieu et place de la cellule souche, les bases causales de la disposition appartiendraient à un complexe cellule souche-niche.

- (2) Avec les mêmes chutes ou chocs, les écrans *Samsung* ou *Fortis X* ne se briseront pas. La fragilité (la brisure) dépend de caractéristiques (ou bases causales) propres à certaines catégories d'objets prédéterminés.



Figure 53. Fragilité: l'écran du iPhone (A) est fragile, contrairement à celui du Fortis X (B) et à l'écran flexible YOUM développé par Samsung (C)⁶²⁹.

Appliquée aux cellules souches (et aux CSC), la notion de disposition me sert à décrire une conception de ces cellules selon laquelle elles appartiendraient à une espèce naturelle dont la propriété essentielle dépendrait d'interactions avec le microenvironnement pour s'exprimer. Autrement dit, selon les partisans de la conception que je nomme « dispositionnelle », la propriété souche serait une propriété essentielle propre aux cellules souches, comme c'est le cas pour les partisans de la conception catégorique. Elle reposerait sur des propriétés intrinsèques propres aux cellules souches, tels que des protéines de surface qui les rendraient réceptrices aux signaux envoyés par la niche ou des protéines d'adhésion qui les permettrait de rester dans une niche ou d'en intégrer une nouvelle. Mais son expression dépendrait de facteurs extrinsèques, tels que les facteurs présents dans son microenvironnement, l'orientation du fuseau mitotique par la cellule de support lors de la division cellulaire, ou encore l'élasticité de la niche.

⁶²⁹ (A) : <http://www.4iphon.ch/services/134-reparation-ecran-iphone-4s-4-3gs-3g.html> (01/04/13).

(B) : <http://cgi.ebay.fr/TELEPHONE-PORTABLE-GSM-ANDROID-3G-ETANCHE-INCASSABLE-ROBUSTE-ANTICHOC-GPS-CAMERA-/221028333525> (01/04/13).

(C) : « Samsung dévoile un terminal doté d'un écran flexible et par extension incassable nommé YOUM. Alors qu'un écran standard comporte des composés de verre, l'écran YOUM lui n'en a pas du tout ce qui le rend incassable ! » <http://www.largusdumobile.com/actu/article/363/Les-fabricants/YOUM-1%27%C3%A9cran-flexible-de-Samsung#.UVldfYXOuRs> (01/04/13).

7.3.2. La version faible de l'hypothèse de la niche appliquée aux CSC

La version faible de l'hypothèse traditionnelle de la niche des cellules souches, présentée au chapitre 6 (section 6.3.4), trouve également des partisans parmi les spécialistes des CSC. La question de la niche dans les cancers est sujette à débat et on manque encore de données, bien qu'il s'agisse d'un domaine de recherche dynamique⁶³⁰. D'un côté, les cancers sont souvent considérés comme des lignées de cellules ne répondant plus à la régulation de l'environnement, de l'autre un certain nombre d'études tendent à montrer qu'il existent des interactions spécifiques importantes entre les cellules cancéreuses et le microenvironnement.

Les données portant sur la relation entre les cellules souches cancéreuses, spécifiquement, et le microenvironnement sont encore rares. A l'heure actuelle, le manque de données pose des difficultés d'interprétation. L'étude publiée par Christopher Calabrese et ses collègues en 2007 fournit un exemple de cette situation ambiguë⁶³¹. Leurs travaux montraient une dépendance des cellules souches cancéreuses de tumeurs du cerveau à l'égard d'une niche cellulaire spécifique périvasculaire. Les cellules endothéliales de la niche sécrètent des facteurs qui maintiennent, *in vitro*, les CSC en auto-renouvellement. Ils avaient observé que l'augmentation du nombre de cellules endothéliales et/ou de vaisseaux sanguins avait pour conséquence l'accroissement de la fraction de cellules en auto-renouvellement et l'accélération de l'initiation et de la croissance des tumeurs. Inversement, la déplétion en vaisseaux sanguins (par des traitements anti-angiogéniques) semblait conduire à l'arrêt de la croissance de la tumeur et la disparition des CSC. Pourtant, les anti-angiogéniques sont au cœur d'une controverse, depuis que l'équipe de Max Wicha a publié une étude indiquant que le traitement de cancers du sein au Sunitinib ou au Bevacizumab (deux anti-angiogéniques) augmentait la population des CSC. Notons, toutefois, que cette

⁶³⁰ Il existe un journal spécialement dédié à l'étude de la niche dans les cancers : *Cancer Microenvironment*, lancé en 2008 par la *International Cancer Microenvironment Society*.

⁶³¹ Calabrese C, Poppleton H, Kocak M, Hogg TL, Fuller C, Hamner B, Oh EY, Gaber MW, Finklestein D, Allen M, Frank A, Bayazitov IT, Zakharenko SS, Gajjar A, Davidoff A and Gilbertson RJ (2007) « A perivascular niche for brain tumor stem cells » *Cancer Cell* 11(1): 69-82.

Une étude menée par Barbara Blouw avait produit des résultats similaires pour une classe de tumeurs du cerveau (les astrocytomes), mais sans faire mention du concept de CSC. Blouw B, Song H, Tihan T, Bosze J, Ferrara N, Gerber HP, Johnson RS and Bergers G (2003) « The hypoxic response of tumors is dependent on their microenvironment » *Cancer Cell* 4(2): 133-146.

seconde étude tend à mettre en valeur le rôle d'une autre niche : une niche hypoxique qui mènerait à l'enrichissement en CSC grâce aux facteurs de transcription HIF-1 α (Hypoxia-Inducible Factors-1 alpha)⁶³². En ce sens, elle tendrait plus à indiquer que les CSC peuvent habiter différentes niches qu'à montrer leur indépendance. Mais, d'autres études ont apporté des arguments en faveur de l'acquisition par les CSC de l'indépendance à la niche⁶³³.

Selon l'impressionnante revue de littérature de Stéphanie Cabarcas, Lesley Mathews et William Farrar, l'activité des CSC pourrait être régulée par les cellules endothéliales *via* le facteur de croissance VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), par les cellules souches mésenchymateuses qui produisent des cytokines telles que SDF-1 (Stromal Derived Growth Factor) ou IL-6 et 8 (deux interleukines), qui interagissent avec les protéines de surface des CSC, par les facteurs solubles présents dans la matrice extracellulaire des CSC tels que ROS (Reactive Oxygen Species), HIF- α (Hypoxia-Inducible Factors-alpha) ou TGF- β (Transforming Growth Factor-beta), ou encore par les lymphocytes *via* TNF α (Tumor Necrosis Factor-alpha) ou NF κ B (Nuclear Factor kappa beta), deux cytokines inflammatoires (voir Figure 54⁶³⁴).

⁶³² Conley SJ, Gheordunescu E, Kakarala P, Newman B, Korkaya H, Heath AN, Clouthier SG and Wicha MS (2012) « Antiangiogenic agents increase breast cancer stem cells via the generation of tumor hypoxia » *Proc Natl Acad Sci U S A* 109(8): 2784-2789.

⁶³³ Voir par exemple : Lane SW, Wang YJ, Lo Celso C, Ragu C, Bullinger L, Sykes SM, Ferraro F, Shterental S, Lin CP, Gilliland DG, Scadden DT, Armstrong SA and Williams DA (2011) « Differential niche and Wnt requirements during acute myeloid leukemia progression » *Blood* 118(10): 2849-2856.

⁶³⁴ Cabarcas SM, Mathews LA and Farrar WL (2011) « The cancer stem cell niche--there goes the neighborhood? » *Int J Cancer* 129(10): 2315-2327.

La Figure 54 représente la Figure 2, p. 2318. Légende : « The cancer stem cell extracellular environment contains multiple sources of cytokine production. Endothelial cells produce vast amounts of VEGF which bind to the VEGFR on the CSC. Activated lymphocytes produce TNF α and utilize the NF κ B pathway to confer downstream signaling in the CSC. Additionally, integrins, ROS, hypoxia/HIF-1 α and TGF- β also utilize the NF κ B pathway to confer downstream signaling. Bone marrow derived mesenchymal stem cells produce a variety of cytokines which regulate CSCs, including SDF-1, IL-6 and IL-8. The stem cell pathways Wnt, Notch and SHH is all active in the CSC, yet the effect from the extracellular environment is complex and not well defined ».

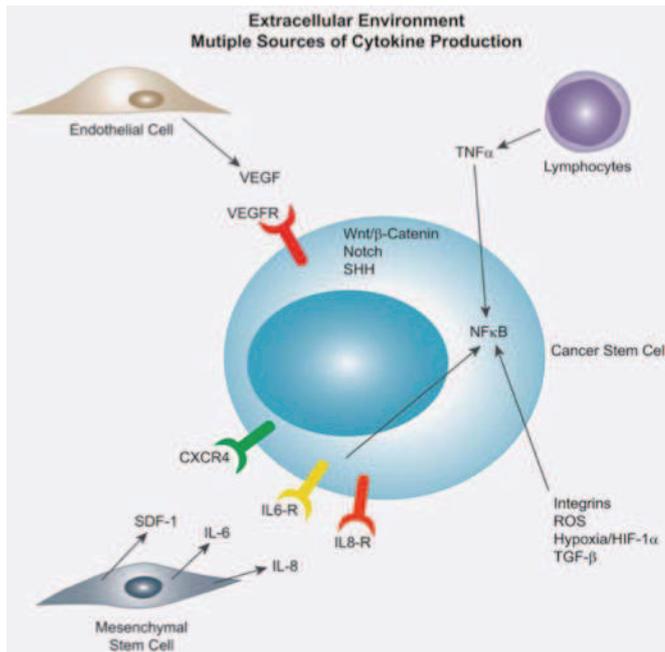


Figure 54. La niche putative des cellules souches cancéreuses selon Cabarcas *et al* (2011).

Ilaria Malanchi et ses collègues ont montré en 2008 que la β -catenin aurait un rôle essentiel dans le maintien des CSC dans les cancers de la peau (carcinomes épidermoïdes)⁶³⁵. En 2012, ils ont montré que la Periostin sécrétée par les fibroblastes stromales des poumons était nécessaire à la production de métastases, c'est-à-dire au développement de tumeurs secondaires, par les CSC en circulation. Leurs données indiquent que sans l'expression de la Periostin, les CSC ne parviennent pas à initier de tumeurs secondaires⁶³⁶. Comme pour les cellules souches non-cancéreuses, les CSC seraient maintenues dans une niche qui contrôlerait leur division cellulaire (auto-renouvellement *versus* différenciation) et leurs capacités développementales. La niche semble également pouvoir déterminer le destin développemental (c'est-à-dire la différenciation des CSC). Des études sur la leucémie ont ainsi montré qu'un même clone de cellules souches leucémiques peut, en fonction du microenvironnement, se développer soit en une leucémie myéloïde aiguë, soit en une leucémie lymphoïde aiguë⁶³⁷.

Concernant les cancers, les recherches sur la compétition cellulaire entre les populations de cellules cancéreuses et les populations de cellules non-cancéreuses ont

⁶³⁵ Malanchi I, Peinado H, Kassen D, Hussenet T, Metzger D, Chambon P, Huber M, Hohl D, Cano A, Birchmeier W and Huelsken J (2008) « Cutaneous cancer stem cell maintenance is dependent on beta-catenin signalling » *Nature* 452(7187): 650-653.

⁶³⁶ Malanchi I, Santamaria-Martinez A, Susanto E, Peng H, Lehr HA, Delaloye JF and Huelsken J (2012) « Interactions between cancer stem cells and their niche govern metastatic colonization » *Nature* 481(7379): 85-89 ; Wang Z and Ouyang G (2012) « Periostin: a bridge between cancer stem cells and their metastatic niche » *Cell Stem Cell* 10(2): 111-112.

⁶³⁷ Wei J, Wunderlich M, Fox C, Alvarez S, Cigudosa JC, Wilhelm JS, Zheng Y, Cancelas JA, Gu Y, Jansen M, Dimartino JF and Mulloy JC (2008) « Microenvironment determines lineage fate in a human model of MLL-AF9 leukemia » *Cancer Cell* 13(6): 483-495.

également attiré l'attention sur la capacité des CSC à agir sur la niche. Selon Bin Zhang et ses collègues, les cellules leucémiques produiraient des cytokines qui modifieraient l'environnement de manière à conférer un avantage de croissance aux cellules souches leucémiques, par rapport aux cellules souches hématopoïétiques⁶³⁸. La modification de l'environnement interviendrait aussi dans la production de niches métastatiques, d'après les résultats obtenus par l'équipe d'Ilaria Malanchi. L'expression de la Periostin, nécessaire au maintien des CSC, serait induite, dans les niches métastatiques, par des CSC infiltrantes⁶³⁹. Les CSC ne seraient donc pas passives dans leur relation à leur niche. L'hypothèse que les CSC pourraient construire leur niche, produire un microenvironnement qui leur soit favorable, représente un argument important en faveur de la conception dispositionnelle de la propriété souche, dans la mesure où elle pointe du doigt l'existence de bases causales intrinsèques aux CSC.

7.3.3. Conséquences thérapeutiques

La 'conception dispositionnelle' de la propriété souche dans les cellules souches cancéreuses ne remet pas en question la stratégie thérapeutique anti-CSC élaborée par la théorie des CSC. En effet, au sein de cette conception, comme dans la 'conception catégorique', l'élimination de *toutes* les CSC est nécessaire et suffisante à l'élimination définitive d'un cancer dans la mesure où seules les CSC sont tumorigènes (c'est-à-dire capables d'initier, maintenir et développer un cancer). Elle offre également les mêmes réponses au problème du référent du concept de CSC : l'identification d'une signature moléculaire propre à la catégorie naturelle des cellules souches devrait permettre leur élimination.

Toutefois, la conception dispositionnelle attire l'attention sur le fait que les cellules souches pourraient présenter différentes signatures moléculaires au cours du temps, en fonction de leur activité (quiescence ou division). Le modèle du clair-obscur indique ainsi que le portrait moléculaire d'une population de cellules souches pourrait faire intervenir

⁶³⁸ Zhang B, Ho YW, Huang Q, Maeda T, Lin A, Lee SU, Hair A, Holyoake TL, Huettner C and Bhatia R (2012) « Altered microenvironmental regulation of leukemic and normal stem cells in chronic myelogenous leukemia » *Cancer Cell* 21(4): 577-592 ; Huang MM and Zhu J (2012) « The regulation of normal and leukemic hematopoietic stem cells by niches » *Cancer Microenviron* 5(3): 295-305.

⁶³⁹ Malanchi I, Santamaria-Martinez A, Susanto E, Peng H, Lehr HA, Delaloye JF and Huelsken J (2012) « Interactions between cancer stem cells and their niche govern metastatic colonization » *Nature* 481(7379): 85-89.

plusieurs grappes de propriétés moléculaires (voir Figure 52). Par conséquent, le ciblage des CSC pourrait faire intervenir non pas une mais deux cibles (voire plus). Précisons toutefois que le modèle du clair-obscur poursuit le projet d'un portrait précis des cellules souches. Il constitue, ainsi, une objection à l'analyse selon laquelle l'amélioration des techniques actuelles et la persévérance permettront de passer du « portrait impressionniste actuel des cellules souches » à un portrait « réaliste » (voir chapitre 6, section 6.2)⁶⁴⁰. Sans la distinction entre cellules souches quiescentes et cellules souches en division, l'amélioration des techniques ne permettra pas, selon le modèle du clair-obscur, d'obtenir un tableau réaliste complet des cellules souches. Mais l'obtention d'un portrait précis n'est pas nécessaire en soi au ciblage des CSC. Ce ciblage nécessite la découverte d'une (ou plusieurs) caractéristique moléculaire du portrait qui soit absolument ubiquitaire dans une population donnée de CSC, aussi partielle soit la représentation qu'elle dresse de ces cellules. L'identification d'une signature moléculaire propre aux bases catégoriques sur lesquelles reposent, sans s'y réduire, la disposition 'souche', pourrait être une cible ubiquitaire (indépendante de l'état d'activité cellulaire) bien qu'elle n'offre qu'une représentation très partielle du portrait des cellules souches⁶⁴¹. Dans la pratique, donc, la conception dispositionnelle attire l'attention sur la possibilité de cibler les CSC à travers une signature spécifique ou à travers plusieurs signatures, chacune spécifique d'un état particulier d'activité cellulaire, si cela s'avérait plus facile⁶⁴². Dans tous les cas, il apparaît nécessaire de vérifier l'ubiquité des signatures moléculaires sur lesquelles sont et seront basées les thérapies ciblées anti-CSC.

⁶⁴⁰ Burns CE and Zon LI (2002) « Portrait of a stem cell ». *Dev Cell* 3(5): 612-613, ici p. 613.

⁶⁴¹ Par exemple, la représentation des interactions entre les CSC et leur niche proposée par Stéphanie Cabarcas, Lesley Mathews et William Farrar, indique que la présence des récepteurs VEGFR, CXCR4, IL-6 et IL-8 à la surface des CSC pourrait être une signature moléculaire propre aux bases causales de la disposition souche dans la mesure où ils rendent les CSC réceptrices aux stimuli envoyés par la niche. Voir Figure 54.

Cabarcas SM, Mathews LA and Farrar WL (2011) « The cancer stem cell niche--there goes the neighborhood? » *Int J Cancer* 129(10): 2315-2327.

⁶⁴² La recherche d'une signature moléculaire propre aux cellules souches quiescentes a déjà été entreprise pour les cellules souches hématopoïétiques.

Voir : Venezia TA, Merchant AA, Ramos CA, Whitehouse NL, Young AS, Shaw CA and Goodell MA (2004) « Molecular signatures of proliferation and quiescence in hematopoietic stem cells » *PLoS Biol* 2(10): e301 ; Collier HA, Sang L and Roberts JM (2006) « A new description of cellular quiescence » *PLoS Biol* 4(3): e83 ; Forsberg EC, Passegue E, Prohaska SS, Wagers AJ, Koeva M, Stuart JM and Weissman IL (2010) « Molecular signatures of quiescent, mobilized and leukemia-initiating hematopoietic stem cells » *PLoS One* 5(1): e8785. Noter que cette dernière études distingue les cellules souches hématopoïétique quiescentes de celles qui sont mobilisées mais ne fait aucune distinction parmi les cellules souches leucémiques.

En effet, prenons l'exemple de la cible CD47 identifiée par l'équipe d'Irving Weissman. Cette cible est peu spécifique des CSC. L'expression relativement large de cet antigène à la surface des cellules cancéreuses souches et non-souches indique qu'il ne s'agit pas d'une signature propre aux bases catégoriques de la propriété souche. Dès lors, le modèle du clair-obscur attire l'attention sur la possibilité que cet antigène ne soit exprimé que dans certaines CSC. L'exemple est particulièrement pertinent dans la mesure où ce phénomène a été observé pour les cellules souches hématopoïétiques : ces cellules expriment CD47 lorsqu'elles sont activement recrutées par le système hématopoïétiques, mais pas ou peu lorsqu'elles sont dans leur niche, où elles se trouvent justement souvent à l'état quiescent. Par conséquent, si les CSC aussi sont susceptibles d'entrer en quiescence, ce que plusieurs études suggèrent⁶⁴³, il existe un risque important que ces CSC quiescentes n'expriment pas CD47⁶⁴⁴. Si tel est le cas, ces CSC échapperaient à une thérapie ciblée anti-CD47. La théorie des CSC prédirait alors un risque élevé de rechute.

La 'conception dispositionnelle' de la propriété souche a un second intérêt en matière de thérapie. Elle attire l'attention sur la possibilité de développer d'autres stratégies thérapeutiques adaptées à la théorie des CSC. Le concept de disposition est utile à ce titre. En effet, les débats portant sur la notion de disposition, en particulier concernant les tentatives d'analyses des dispositions en terme de conditionnels contrefactuels⁶⁴⁵,

⁶⁴³ Voir la revue de littérature à ce sujet : Moore N and Lyle S (2011) « Quiescent, slow-cycling stem cell populations in cancer: a review of the evidence and discussion of significance » *J Oncol* 2011(article ID : 396076).

Voir aussi : Aguirre-Ghiso JA (2007) « Models, mechanisms and clinical evidence for cancer dormancy » *Nat Rev Cancer* 7(11): 834-846 ; Dembinski JL, Krauss S (2009) « Characterization and functional analysis of a slow cycling stem cell-like subpopulation in pancreas adenocarcinoma ». *Clin Exp Metastasis* 26: 611-623 ; Gao MQ, Choi YP, Kang S, Youn JH and Cho NH (2010) « CD24+ cells from hierarchically organized ovarian cancer are enriched in cancer stem cells » *Oncogene* 29(18): 2672-2680 ; Pece S, Tosoni D, Confalonieri S, Mazzarol G, Vecchi M, Ronzoni S, Bernard L, Viale G, Pelicci PG and Di Fiore PP (2010) « Biological and molecular heterogeneity of breast cancers correlates with their cancer stem cell content » *Cell* 140(1): 62-73 ; Roesch A, Fukunaga-Kalabis M, Schmidt EC, Zabierowski SE, Brafford PA, Vultur A, Basu D, Gimotty P, Vogt T and Herlyn M (2010) « A temporarily distinct subpopulation of slow-cycling melanoma cells is required for continuous tumor growth » *Cell* 141(4): 583-594 et Buczacki S, Davies RJ and Winton DJ (2011) « Stem cells, quiescence and rectal carcinoma: an unexplored relationship and potential therapeutic target » *Br J Cancer* 105(9): 1253-1259.

⁶⁴⁴ Un risque qui n'a pas, à notre connaissance, été évalué par l'équipe d'Irving Weissman, jusqu'à présent.

⁶⁴⁵ Le conditionnel contrefactuel consiste à formuler une proposition conditionnelle (si... alors...) indiquant ce qui serait vrai si l'antécédent était vrai. En logique classique $p \rightarrow q$ (si p alors q) est toujours vrai quand p est faux. Cette valeur de vérité pose un problème évident pour l'analyse des dispositions. Par exemple, si l'on exprime la disposition de l'écran du

représentent une richesse d'une grande créativité en matière de recherche de contre-exemples. L'attention doit être attirée sur l'un d'entre eux, qui me semble pertinent pour la recherche de traitements contre les cancers. L'article de Michael Fara et Sungho Choi pour l'*Encyclopédie de Philosophie de Stanford* offre une analyse précieuse du débat⁶⁴⁶. Le contexte de ce débat est la difficulté à formuler ce qu'est une disposition, c'est-à-dire dans quelles conditions il est possible de dire d'une propriété particulière qu'elle est une disposition. La proposition la plus classique à cet égard, dite « analyse contrefactuelle simple », a été énoncée sous la forme suivante :

Un objet est disposé à *M* quand *C* si et seulement si il réaliserait *M* si *C* avait lieu⁶⁴⁷.

Ou :

Un objet *x* est disposé, à un temps *t*, à donner une réponse *r* au stimulus *s* ssi, si *x* rencontrait le stimulus *s* au temps *t*, *x* donnerait la réponse *r*⁶⁴⁸.

Ainsi, on pourrait dire, par exemple, que la fragilité de l'écran du *iPhone* est une disposition de l'*iPhone*, c'est-à-dire que l'écran du *iPhone* (l'objet *x*) est disposé, à un temps *t*, à se briser (réponse *r*) en cas de chute (stimulus *s*), dans la mesure où si l'*iPhone* chutait à un temps *t*, son écran se briserait.

Parmi les contre-exemples identifiés par les philosophes, il en est un qui me semble particulièrement pertinent. Il s'agit de « l'antidote » de Alexander Bird⁶⁴⁹, parfois appelé

iPhone en disant « s'il chute (*p*), alors son écran se brise (*q*) », la valeur de vérité de la proposition implique que l'écran pourrait se briser (*q* vrai) sans que l'*iPhone* ne chute (*p* faux). Or, si tel était le cas, la fragilité ne serait pas une disposition au sens où je l'entends puisque son expression ne ferait pas nécessairement intervenir de facteurs extérieurs. Le conditionnel contrefactuel doit permettre de résoudre cette difficulté en indiquant ce qui serait vrai si l'antécédent avait lieu (*p* vrai). La proposition contrefactuelle « si l'*iPhone* chutait (*p*) alors l'écran se briserait (*q*) » n'est vrai que si *p* et *q* sont vraies.

⁶⁴⁶ Choi S and Fara M (Spring 2012 Edition) « Dispositions », *The Stanford Encyclopedia of Philosophy*, Zalta EN (ed.)

Voir aussi l'analyse historique de Alexander Bird : Bird A (2012) « Dispositional Expressions », pp. 729-740. In Russell G and Fara DG (eds.), *Routledge Companion to the Philosophy of Language* Abingdon: Routledge.

⁶⁴⁷ « SCA. An object is disposed to M when C iff it would M if it were the case that C. » Choi S and Fara M (Spring 2012 Edition) « Dispositions », *The Stanford Encyclopedia of Philosophy*, Zalta EN (ed.)

⁶⁴⁸ « Something *x* is disposed at time *t* to give response *r* to stimulus *s* iff, if *x* were to undergo stimulus *s* at time *t*, *x* would give response *r* ».

On trouve, par exemple, cette formulation dans : Lewis D (1997) « Finkish Dispositions », *The Philosophical Quarterly* 47(187): 143-158, p. 143 ; ou encore, Bird A (1998) « Dispositions and Antidotes », *The Philosophical Quarterly* 48(191): 227-234, p. 227.

⁶⁴⁹ Bird A (1998) « Dispositions and Antidotes », *The Philosophical Quarterly* 48(191): 227-234.

Voir aussi : Choi S (2003) « Improving Bird's Antidotes », *Australasian Journal of Philosophy* 81: 573-580.

« masqueur » (*masker*)⁶⁵⁰. Appliqué à l'écran du *iPhone*, ce contre-exemple prend la forme suivante : on dit que l'écran du *iPhone* est fragile dans la mesure où il se briserait si une chute avait lieu. Mais si le *iPhone* était protégé par une coque et que l'écran était recouvert d'un de ces films plastiques destinés à protéger les écrans, l'énoncé conditionnel deviendrait faux, car à chute moyenne égale, l'écran du *iPhone* ne se briserait plus. L'appareillage du *iPhone* brise la chaîne causale menant du stimulus *s* (la chute) à la réponse *r* (la rupture de l'écran). Ce contre-exemple est intéressant dans la mesure où « l'antidote » offre un modèle analogique intéressant pour le développement de thérapies contre les cancers⁶⁵¹. Ainsi, de la même manière que la coque et le film de protection d'écran représentent des « antidotes » contre l'expression de la fragilité du *iPhone*, des appareillages thérapeutiques brisant la chaîne de causalité entre le stimulus *s* et la réponse *r* pourraient représenter des « antidotes » contre l'expression de la propriété souche dans les CSC. Or, selon la théorie des CSC, c'est très précisément l'expression de la propriété souche qui permet aux CSC d'initier, de maintenir et de développer les cancers (voir chapitre 2). Sans ces propriétés, pas de cancers, ni de métastases. Reste à préciser les terme *s* et *r*, ce que la version faible de l'hypothèse de la niche permet de faire, puis à trouver un « antidote ». Selon la version faible de l'hypothèse de la niche, la disposition 'souche' (*r*) ne se réalise que si elle rencontre un ensemble de stimuli (*s*) produit par la niche. La difficulté pour développer une thérapie qui occuperait la place d'un « antidote » dans la relation de *r* à *s* est le manque de données concernant les stimuli produits par la niche qui seraient nécessaires à la réalisation de la disposition souche des CSC. Si bien que ce genre de stratégie thérapeutique reste souvent très théorique dans les publications⁶⁵².

⁶⁵⁰ Voir, par exemple : Johnston M (1992) « How to Speak of the Colors », *Philosophical Studies* 68: 221-263.

⁶⁵¹ Alexander Bird emploie la métaphore de l'antidote en référence à la capacité d'un antidote tel que le dimercaprol à empêcher un poison tel que l'arsenic d'entraîner l'empoisonnement après ingestion. Voir Bird A (1998) « Dispositions and Antidotes », *The Philosophical Quarterly* 48(191): 227-234, en particulier p. 228.

⁶⁵² Voir, par exemple : Clarke MF and Fuller M (2006) « Stem cells and cancer: two faces of eve » *Cell* 124(6): 1111-1115 ; Sneddon JB and Werb Z (2007) « Location, location, location: the cancer stem cell niche » *Cell Stem Cell* 1(6): 607-611 ; Federici G, Espina V, Liotta L and Edmiston KH (2011) « Breast cancer stem cells: a new target for therapy » *Oncology (Williston Park)* 25(1): 25-28 ; Huang MM and Zhu J (2012) « The regulation of normal and leukemic hematopoietic stem cells by niches » *Cancer Microenviron* 5(3): 295-305, notamment p. 301 : « There are accumulating evidences that the microenvironmental factors confer the leukemia cells the resistance to the clinical treatments. Therefore, mobilization of LSCs from these sanctuary niches represents a potential strategy to sensitize LSCs to differentiation or clearance by therapeutic reagents, such as by interfering SDF-1-CXCR4 axis. Nevertheless, as AML LSCs may distribute differently within BM from normal HSCs, they might also respond distinctly to a given environmental regulatory cue. It is important to explore into these unknown differences and using them to design safe LSCs-targeting therapies. »

On trouve toutefois, dans la littérature scientifique, quelques pistes intéressantes. Marieke Essers et Andreas Trumpp suggèrent, par exemple, un protocole en deux temps permettant d'éliminer les CSC quiescentes et non-quiescentes⁶⁵³. La première étape consisterait à activer les CSC quiescentes et la seconde à effectuer une thérapie ciblée anti-CSC⁶⁵⁴. Pour activer les CSC quiescentes, ils envisagent plusieurs solutions consistant à produire des stimuli s , à la place de la niche, de manière à obtenir le résultat r escompté, à savoir, l'activation des CSC quiescentes. Ainsi, on sait que dans la moelle osseuse, la mobilisation des cellules souches hématopoïétiques peut être induite par le relargage, par les neutrophiles⁶⁵⁵, d'enzymes protéolytiques⁶⁵⁶ qui clivent et dégradent les protéines d'adhésion qui retiennent les cellules souches dans leur niche, aboutissant à la libération des cellules souches⁶⁵⁷. Un traitement équivalent pour les CSC permettrait l'activation des CSC quiescentes. Plusieurs études indiquent qu'un traitement à la G-CSF (*Granulocyte-Colony Stimulating Factor*) pourrait permettre d'obtenir de tels résultats pour certaines leucémies⁶⁵⁸. Ils suggèrent également la possibilité d'un traitement au trioxyde d'arsenic (As_2O_3) qui cible le facteur de transcription PML (*promyelocytic leukemia protein*), dont l'inhibition conduit à

⁶⁵³ Essers MA and Trumpp A (2010) « Targeting leukemic stem cells by breaking their dormancy » *Mol Oncol* 4(5): 443-450.

⁶⁵⁴ Notons que les deux auteurs insistent sur l'importance du modèle à deux étapes, par opposition à une thérapie combinée qui ne prendrait pas bien en compte le temps menant du stimuli à la réponse. La question du temps menant de s à r a justement fait partie des avancées importantes produites par les contre-exemple à l'analyse contrefactuelle simple des dispositions.

⁶⁵⁵ Les neutrophiles sont des cellules du système immunitaire. Ils font parties des leucocytes, ou « globules blancs ».

⁶⁵⁶ Par exemple les MMP (*matrix metalloproteinases* ou métalloprotéinase matricielle, en français), les élastases ou les cathepsin G.

Les enzymes protéolytiques sont des enzymes capables de couper des protéines en plusieurs fragments. Ici, en l'occurrence, elles s'attaquent aux protéines d'adhésion qui maintiennent les cellules souches dans leur niche.

⁶⁵⁷ Heissig B, Hattori K, Dias S, Friedrich M, Ferris B, Hackett NR, Crystal RG, Besmer P, Lyden D, Moore MA, Werb Z and Rafii S (2002) « Recruitment of stem and progenitor cells from the bone marrow niche requires MMP-9 mediated release of kit-ligand » *Cell* 109(5): 625-637 ; Petit I, Szyper-Kravitz M, Nagler A, Lahav M, Peled A, Habler L, Ponomaryov T, Taichman RS, Arenzana-Seisdedos F, Fujii N, Sandbank J, Zipori D and Lapidot T (2002) « G-CSF induces stem cell mobilization by decreasing bone marrow SDF-1 and up-regulating CXCR4 » *Nat Immunol* 3(7): 687-694.

⁶⁵⁸ Pour les leucémies myéloïdes chroniques voir : Drummond MW, Heaney N, Kaeda J, Nicolini FE, Clark RE, Wilson G, Shepherd P, Tighe J, McLintock L, Hughes T and Holyoake TL (2009) « A pilot study of continuous imatinib vs pulsed imatinib with or without G-CSF in CML patients who have achieved a complete cytogenetic response » *Leukemia* 23(6): 1199-1201. Pour les leucémies myéloïdes aiguës, voir : Saito Y, Uchida N, Tanaka S, Suzuki N, Tomizawa-Murasawa M, Sone A, Najima Y, Takagi S, Aoki Y, Wake A, Taniguchi S, Shultz LD and Ishikawa F (2010) « Induction of cell cycle entry eliminates human leukemia stem cells in a mouse model of AML » *Nat Biotechnol* 28(3): 275-280.

l'activation des CSC de leucémies⁶⁵⁹. Enfin, ils suggèrent un traitement à base d'interférons α (INF α). Les INF α étaient utilisés pour le traitement des CML avant d'être remplacés par l'Imatinib, en 2001. Marieke Essers et Andreas Trumpp avaient montré, avec leurs collègues, qu'ils activaient la division des cellules souches hématopoïétiques⁶⁶⁰. L'effet des INF α sur les CSC n'a pas encore été directement étudié. Toutefois, le cas de l'essai clinique portant sur l'Imatinib, conduit en France, peut susciter quelques espoirs. En effet, six patients montraient une rémission complète sur plus de deux ans. Or, ces patients avaient tous été traités aux INF α avant d'entrer dans l'essai clinique et d'être traité à l'Imatinib⁶⁶¹.

Un autre exemple est apporté par Ilaria Malanchi et ses collègues. Ils ont montré que la β -caténine, une protéine de liaison, est nécessaire au maintien des CSC dans les carcinomes à cellules squameuses. Rompre l'activation de cette voie de signalisation par la niche devrait permettre l'épuisement du stock de CSC et ainsi la disparition définitive du cancer.

Comme le notent Christopher Calabrese et ses collègues, ces travaux sont tous confrontés aux mêmes difficultés empiriques que l'équipe d'Irving Weissman, ils risquent la destruction de cellules souches non-cancéreuses :

Le développement de thérapies anti-CSC, pour chaque type de cancer, exigera probablement l'identification de facteurs qui maintiennent les CSC mais pas les cellules souches normales, dans chaque tissu⁶⁶².

Ce problème, très sensible, est toutefois pris en considération dans la plus grande partie des travaux. Ainsi, Ilaria Malanchi *et al* ont montré, d'une part, que la β -caténine est préférentiellement exprimée par la population de cellules cancéreuses CD34⁺ qui contient

⁶⁵⁹ Voir : Ito K, Bernardi R, Morotti A, Matsuoka S, Saglio G, Ikeda Y, Rosenblatt J, Avigan DE, Teruya-Feldstein J and Pandolfi PP (2008) « PML targeting eradicates quiescent leukaemia-initiating cells » *Nature* 453(7198): 1072-1078 ; Ito K, Bernardi R and Pandolfi PP (2009) « A novel signaling network as a critical rheostat for the biology and maintenance of the normal stem cell and the cancer-initiating cell » *Curr Opin Genet Dev* 19(1): 51-59.

⁶⁶⁰ Essers MA, Offner S, Blanco-Bose WE, Waibler Z, Kalinke U, Duchosal MA and Trumpp A (2009) « IFN α activates dormant haematopoietic stem cells in vivo » *Nature* 458(7240): 904-908.

⁶⁶¹ Rousselot P, Huguet F, Rea D, Legros L, Cayuela JM, Maarek O, Blanchet O, Marit G, Gluckman E, Reiffers J, Gardembas M and Mahon FX (2007) « Imatinib mesylate discontinuation in patients with chronic myelogenous leukemia in complete molecular remission for more than 2 years » *Blood* 109(1): 58-60.

⁶⁶² « However, the development of anti-CSC therapies for each type of cancer is likely to require the identification of factors that maintain CSCs, but not normal stem cells, in each tissue. » Calabrese C, Poppleton H, Kocak M, Hogg TL, Fuller C, Hamner B, Oh EY, Gaber MW, Finklestein D, Allen M, Frank A, Bayazitov IT, Zakharenko SS, Gajjar A, Davidoff A and Gilbertson RJ (2007) « A perivascular niche for brain tumor stem cells » *Cancer Cell* 11(1): 69-82, ici p. 69.

les CSC et, d'autre part, que son élimination n'affecte pas l'homéostasie de l'épiderme sain. De même, Marieke Essers et Andreas Trumpp prennent soin d'indiquer que les molécules thérapeutiques qu'ils évoquent produisent préférentiellement leurs effets sur les CSC.

Par ailleurs, plusieurs molécules semblent aujourd'hui indiquer que l'élimination spécifique des CSC (par distinction des cellules souches non-cancéreuses) est possible. La Rapamycine, un immunosuppresseur inhibant la protéine mTOR, a été ainsi considérée comme une preuve de concept⁶⁶³. L'équipe de Sean Morrison a montré que le gène suppresseur de tumeur *Pten*, dont la délétion mène à une activation accrue des protéines Akt et mTOR, régule différemment les cellules souches hématopoïétiques et les CSC leucémiques et représentait une cible thérapeutique spécifique aux CSC leucémiques. Dans un modèle murin Cre-Lox pour le gène *Pten* (c'est-à-dire de souris dans lesquels il est possible d'induire la délétion du gène au moment voulu et à l'endroit voulu), cette équipe a montré que la délétion de *Pten* menait à la déplétion des cellules souches hématopoïétiques, et promouvait la génération de CSC leucémiques. Ils ont également montré que le traitement de ces souris à la Rapamycine inhibe la génération et le maintien de CSC leucémiques et, à l'inverse, restaure les cellules souches hématopoïétiques. Bien que le traitement à la Rapamycine ne se soit pas montré suffisant pour guérir les leucémies, une fois développées, ces résultats « démontrent qu'il est possible d'identifier – et de cibler thérapeutiquement – des voies de signalisation qui ont des effets distincts sur les cellules souches normales et sur les CSC d'un même tissu »⁶⁶⁴.

Un autre exemple est fourni par le financement d'un essai clinique de phase II pour une thérapie à deux étapes, combinant les médicaments Xeloda et le Celebrex, qui doit permettre l'activation des CSC quiescentes de manière à ce qu'elles n'échappent plus à la chimiothérapie⁶⁶⁵.

⁶⁶³ Par exemple par Sneddon JB and Werb Z (2007) « Location, location, location: the cancer stem cell niche » *Cell Stem Cell* 1(6): 607-611.

⁶⁶⁴ « These data demonstrate that it is possible to identify and to target therapeutically pathways that have distinct effects on normal stem cells and cancer stem cells within the same tissue. » Yilmaz OH, Valdez R, Theisen BK, Guo W, Ferguson DO, Wu H and Morrison SJ (2006) « Pten dependence distinguishes haematopoietic stem cells from leukaemia-initiating cells » *Nature* 441(7092): 475-482, ici p. 481.

⁶⁶⁵ L'essai clinique est mené par le Dr Edward Lin (Université de Washington) et financé par la société à but non-lucratif Gateway for Cancer ResearchSM.

Voir : <http://www.reuters.com/article/2012/07/06/idUS183359+06-Jul-2012+BW20120706>

7.4. Conclusion

La conception traditionnelle des cellules souches, sur laquelle est fondée la stratégie thérapeutique anti-CSC de la théorie des CSC, considère la propriété souche comme une 'propriété catégorique', c'est-à-dire comme une propriété essentielle et intrinsèque aux cellules de l'espèce naturelle 'cellule souche'. J'ai montré comment les partisans de cette conception, appliquée aux CSC, répondent, sur les plan théoriques et pratiques, aux difficultés soulevées par les chapitres précédents. Si la propriété souche est une 'propriété catégorique', il doit être possible de la cibler et, ce faisant, d'éliminer toutes les CSC, indépendamment des différences qui pourraient exister entre les CSC initiatrices, propagatrices ou encore métastatiques (voir Figure 55 A). Par ailleurs, la non-spécificité des marqueurs n'est pas un problème tant qu'elle assure l'élimination de toutes les CSC. En revanche, la difficulté principale est de distinguer les CSC des cellules souches non-cancéreuses, ce qui pourrait se faire par des thérapies vectorisées. Dans la pratique, l'isolement de marqueurs pour cibler les CSC semble plus aléatoire.

Ce chapitre a ensuite indiqué, sur la base d'exemples tirés des débats sur les hiérarchies hématopoïétiques, que toutes les oppositions au modèle hiérarchique des cellules souches ne sont pas des oppositions à cette 'conception catégorique' de la propriété souche. En revanche, je soutiens que certaines d'entre elles sont des oppositions ontologiques à la 'conception catégorique' sans être des oppositions à l'alternative de l'*entité*.

J'ai réuni, sous le label 'conception dispositionnelle', les partisans de l'hypothèse de la niche dans sa version faible. Selon cette conception, la propriété souche repose sur des bases catégoriques propres aux cellules souches mais dépend également, dans son expression, de l'intervention de facteurs extérieurs, à savoir la niche. Cette conception a des conséquences intéressantes en matière de stratégies thérapeutiques, pour les partisans de la théorie des CSC. En effet, si la propriété souche est une 'propriété dispositionnelle', alors :

- (1) Les CSC pourraient être plus facilement ciblées à l'aide de deux signatures moléculaires (une pour les CSC quiescentes et l'autre pour les CSC en division).
- (2) La niche ou, plus précisément, les interactions niches-CSC, représente une cible potentielle d'intervention thérapeutique. Une thérapie capable d'interrompre ces interactions rendrait les CSC incapables d'exprimer la propriété souche et, ce faisant, non tumorigène. Ainsi, le ciblage de la niche pourrait, en théorie, obtenir des résultats semblables au ciblage direct des CSC, à savoir des traitements définitifs (voir Figure 55 B).

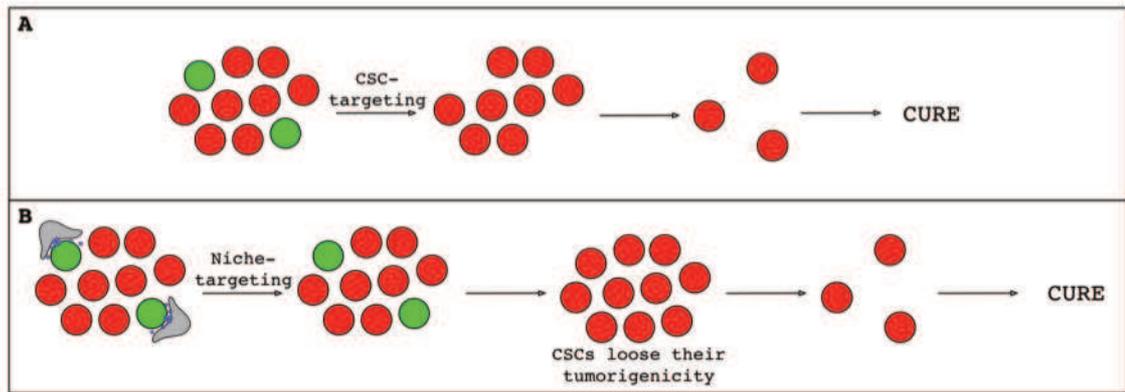


Figure 55. Stratégies thérapeutiques et propriété souche. Au sein de l'alternative de l'entité, si la théorie des CSC est correcte, alors il est possible de guérir les cancers en éliminant les CSC (A) ; si la propriété souche est une disposition, alors il est également possible de guérir les cancers en ciblant les interactions niche-CSC (B).

7.5. *English summary*

This chapter evaluates the '*entity*' alternative. It shows that two conceptions of the stemness property can be distinguished. The traditional conception of stem cells, on which relies the CSC theory, considers stemness as a categorical property. Chapter 6 has shown that numerous critics can be addressed to this conception. In this chapter, I show that (1) not every criticism to the traditional conception of stem cells is an opposition to the categorical conception of the stemness property, and that (2) not every opposition to the categorical conceptions are opposition to the '*entity*' view. The latter is important because I will show that the distinction between stemness as a categorical property and stemness as a disposition has consequences for therapeutic strategies against cancers. The former shows that not every individual disagreement has such consequences.

The traditional conception of stem cells considers stem cells as discrete natural entities that share some intrinsic fundamental properties united under the general 'stemness' property. According to this conception, all and only stem cells possesses this intrinsic property, which is considered as a 'categorical property'. By categorical property, I mean that stemness is intrinsic and essential. That is to say that stem cells have stemness because of what they are and not because of some interactions with the world.

The CSC theory, and more precisely the anti-CSC therapeutic model, is based on this conception of stem cells. According to the CSC theory, it is necessary and sufficient to kill CSCs in order to cure cancers. This relies on the existence of CSC as a discrete natural category of cells, defined by their unique stemness property. As stemness is specific to CSCs, and as stemness is necessary to initiate, develop and grow cancers, elimination of all and only CSCs must be sufficient to cure cancers (see Figure 48).

Can this conception answer to the difficulties highlighted in part III? Chapter 5 has showed that the CSC referential was rather open (see Figure 49). Anti-CSC therapy must target every CSC to warrant cure. Two kinds of solutions must be distinguished concerning this difficulty: theoretical solutions and empirical solutions. For now, the empirical solutions notably differ from the theoretical one.

The theoretical solutions are quite simple: if stemness is a categorical property, then it guarantees a more fundamental identity to the plurality of CSCs distinguished in chapter 5. Thus, targeting stemness would resolve the problem of heterogeneity among CSCs. Targeting stemness relies on the identification of some kind of molecular signature (either genetic or epigenetic). Such a signature has been shown to be controversial because neither

self-renewal nor differentiation properties are specific to stem cells. However, this does not represent a major problem for CSC-targeting strategies as far as the molecular reduction of stemness allows to targets every stem cells of a given cancers. This goal is not compromised, neither is the predicted cure, by targeting more than only the CSC, in a given cancer. By contrast, the major challenge, for proponents of the CSC theory, is to distinguish CSC from normal stem cells (i.e. non-cancerous stem cells). Destruction of the patient' stem cells would seriously compromised his survival. Thus targeting CSC through their stemness presents important challenges. Two theoretical solutions are possible. First, a specific target must distinguish CSC from normal stem cells. It is the more classical strategy currently under development. Second, nanovectors can be designed in order to deliver the anti-stemness drug at the site of the tumor, so that the rest of the organism is protected against the drug.

Empirically, things are quite different. Researches done by Irving Weissman team provide a good example. Irving Weissman is probably the best example of the conception of stemness as a categorical property and he is also one of the leaders in the CSC field of research and a strong proponent of the anti-CSC therapeutic strategy. His team is currently conducting two clinical trials (march 2013). Both concern CSCs, one being described as follow:

We hypothesize that all human malignancies harbour a subpopulation of tumor initiating cells/cancer stem cells (CSCs) that drives tumor development and potentially recurrence or metastasis of the disease. The primary aim of this study is to develop strategies for prospective isolation/enrichment of CSCs from human tumors of different tissue origins. In addition, we will characterize the signaling pathways and/or tumor specific antigens that are specific for CSCs, in order to specifically target these CSCs as the endpoint of this study (see note 598 for the reference).

However the higher challenge they face is not to distinguish CSC from cancer non-stem cells, but to distinguish CSCs from normal stem cells. There, researches are quite hazardous. Currently, they put hopes on the antigen CD47. CD47 is a cell surface protein known for sending a “don't eat me” signal to the immune cells. It is not specific to CSCs and it is a well-known phenomenon in cancers. However, it has bring hopes when Irving Weissman team demonstrated that it was over expressed in leukemic CSCs compared to hematopoietic stem cells. *In vivo*, treatments of leukemia samples with CD47 monoclonal antibodies result in a considerable raise of phagocytized CSCs. The same treatment applied to hematopoietic cells does not raise the level of phagocytosis compared to control

populations. Overexpression of CD47 then appeared as a potential molecular signature of leukemic CSCs. Notably, no experiment conducted by the team has ever brought any proof that *all* CSCs overexpress CD47 antigen. The development of CD47 monoclonal antibodies is expected to fulfill the anti-CSC therapeutic strategy. Such hope relies on the assumption that CSCs represent a homogeneous population, at least in regard of this character. But it remains a very weak assumption as far as the relationship between CSCs and the CD47 antigen is unknown.

This traditional conception of stem cells, which support the anti-CSC therapeutic strategy when applied to cancer stem cells, has been subject of much criticism (see chapter 6). However, not all criticisms concern stemness ontology and not all have consequences for therapeutic strategies against cancers. Two examples can illustrate this.

Irving Weissman model of hematopoietic stem cell and its differentiation incarnate the traditional conception of stem cells. He sees stemness as a categorical property and supports the two dogmas of differentiation. His model is subject of ongoing criticism. I will present two debates with no ontological consequences for the stemness property. Figure 50 shows four models of hematopoiesis. Debates over Irving Weissman model of hematopoiesis presented in this figure question the divers progenitors types and the differentiation paths. There is no “common myeloid progenitors” (CMP) according to Sten Eirik Jacobsen team. Granulocytes and macrophages progenitors (GMP), which are exclusively produced by CMP in Irving Weissman model, are produced by lymphoid-primed multipotent progenitor (LMPP) in Sten Eirik Jacobsen model. Koichi Akashi team argues that GMP can be produced either by LMPP or by CMP. These debates concern existence of natural kinds of some progenitors and on the restriction of differentiation to linear lineages (with the idea that two lineages could produce a common kind of cells. However, in all these models, differentiation appears as a one-way street (D1) and cell fate is determined. Even in the case where LMPP and CMP can produce GMP, the possibility are settled and predetermined, no CMP can give CLP and LMP cannot produce MEP. Furthermore, they are all compatible with the conception of stemness as a categorical property. Indeed, stemness property is often implicitly considered as an intrinsic property specific to stem cells.

The second example is also a critic of Irving Weissman model of hematopoiesis. Ton Schumacher team used a new technology (cellular barcoding) to trace the fate of hematopoietic stem cells and LMPP at the single cell level (whereas in the previous

example, fate and differentiation is studied at a cell population level). They argue that the “multipotent progenitor” is not a homogenous natural kind. They show that the cells of this population are already heterogeneous in their differentiation potential. Some of them are only able to produce myeloid cells, others are only able to produce B cells and others dendritic cells (see Figure 51, blue, yellow, and red, respectively). Some can give rise to myeloid and B cells (green), some can give rise to dendritic and B cells (orange), and some can give rise to dendritic and myeloid cells (violet). But very few of the so-called multipotent progenitors actually are multipotent (grey). These results do question the MPP category, but they do not question the question of a stem cell natural kind or the existence of some progenitors natural kind. Indeed, their results support the existence of a stem cell natural kind defined by intrinsic ability for self-renewal and differentiation since, at the single cell level, the hematopoietic stem cells differentiate in all the lineages. Furthermore, they argue that fates observed in the MPP are determined since their pattern of differentiation is robust from one mouse to another (thus, fate determination is neither stochastic neither induced by the microenvironment).

In both examples, some biologists are opponents to Irving Weissman classical conception of hematopoietic stem cells and differentiation without being opponents to Irving Weissman fundamental conception of stemness ontology. As intense as they are, debates over stem cells do not necessarily affect ontology of the stemness property. So doing, they do not have specific consequences for anti-CSC therapeutic strategy. Indeed, in these examples, stem cells belong to a natural kind defined by stemness, and as such, they can be targeted. Furthermore, as far as the differentiation is considered as a one-way street, elimination of CSC should guarantee a definitive cure.

Ontological level basis of my distinctions being acknowledged, I can now focus on the disputes that do have consequences for stemness ontology and cancer therapies. Among the debates reported in chapter 6, two of them question the nature of the stemness property without questioning the existence of a stem cell natural kind. I argue that these criticisms against the classical conception of stem cell, which are internal to the so-called ‘entity’ conception, matter for therapeutic strategy against cancers. The first criticism was the questioning of a stemness molecular signature, based on the existence of quiescent stem cells. The second is based on the weak interpretation of the niche hypothesis and question the role of the niche in stemness activities. These two criticisms are tightly related

since quiescence is considered to be controlled by the niche. In both cases, stemness is alternatively expressed and “masked” in stem cells.

For a brief recall, the first argument was that even if (P1) and (P2) were true, that is, even if stemness would allow qualitative distinction between stem cells and non-stem cells and would be reducible to some molecular signature, such a signature would not be sufficient to isolate every stem cell of a given population because quiescent stem cells would not express it (see note 625). Thus, stem cells might have two distinct molecular signatures according to their cycling or quiescent state. The second argument was that the niche would regulate the properties by which the stem cells are defined. I suggest that the metaphysical notion of ‘disposition’ can help to capture this general conception of stem cells and its consequences for therapeutic strategies against cancers.

The classical conception of stem cells sees the stemness as a ‘categorical property’, that is, as an essential and intrinsic property. Stemness exists in virtue of what are stem cells, without any references to any kind of interactions stem cells can have with the world. This framework does not fit with the weak interpretation of niche hypothesis (neither does it fit with the strong interpretation, as will show chapter 8). Indeed, the niche hypothesis precisely integrates interactions between stem cells and their niches as determinants that are necessary for stemness expression. The notion of disposition is helpful if we agree to understand dispositions as properties of objects whose expression depends on extrinsic factors. Thus, the notion of disposition is to be understood here as having two properties:

- (a) The object might express or not its disposition, depending on some particular interactions with the world. Fragility is a classical example of disposition. Consider the *iPhone* screen, which is known to be fragile (see Figure 53). The *iPhone* screen cannot break without any impact. Thus, the stem cell-niche complex should be considered as a causal basis of the stemness disposition.
- (b) Dispositions are specific to some particular objects. The *iPhone* screen breaks when it receives a shock, whereas the flexible screen developed by *Samsung* does not. Thus, the stemness disposition should be understood as specific to stem cells.

The weak interpretation of the niche hypothesis has partisans among the CSC specialists. The existence and role of niches in cancers is debatable. The current lack of data does not allow any firm conclusion yet. However, some data began to suggest the possible existence and role of CSC niches (see Figure 54).

This ‘dispositional conception’ of the stemness property does not challenge the CSC-targeting strategy. Indeed, the elimination of *every* CSC in a given cancer is necessary and sufficient to definitively cure this cancer, since only the CSCs are tumorigenic. However, this conception of the stemness property has two consequences.

First, it draws attention to the fact that the CSCs might express different molecular signature over time, depending on their activity (quiescence or division). Thus, it might be more efficient to target separately the quiescent and the cycling CSCs. It is to be noticed, though, that as a disposition, stemness might rely on some intrinsic characters (to which it cannot be reduced). Thus, at least in theory, it is possible that a single complex signature allows a distinction between CSCs and cancer non-stem cells. In any case, as mentioned with the ‘categorical conception’, the most important point is to verify the ubiquity of the chosen signature(s), in order to guarantee a definitive cure.

Second, the ‘dispositional conception’ raises another possibility in order to cure cancers. The notion of disposition is very useful in this regard. There have been numerous debates over how to frame what is a disposition. The more classical solution, named the “simple counterfactual analysis”, follows:

Something x is disposed at time t to give response r to stimulus s iff, if x were to undergo stimulus s at time t , x would give response r (see note 648).

For example, fragility of the *iPhone* screen can be said to be a disposition of the *iPhone*, that is to say that the *iPhone* (x) is disposed at time t to break (response r) in case of some impacts (stimulus s), because if the *iPhone* were to undergo such impacts at time t , its screen would break. Among the counterexamples suggested by philosophers, one is particularly interesting. That is the “antidote” of Alexander Bird, also called maskers. Applied to the *iPhone* screen example, this counter-example takes the following form: *iPhone* screen is said fragile because it would break if impacted. But if a shell and a plastic film were protecting the *iPhone*, then the simple conditional counterfactual analysis would become false. Thus, the equipment of the iPhone breaks the causal chain leading from the stimulus s (impact) to the response r (screen breaking). This counter-example is interesting in that it offers a pertinent analogical model for the development of anti-cancer therapies. Indeed, any therapy that would break the causal chain leading from the niche stimuli to the expression of stemness would represent a good “antidote”. According to the CSC theory, CSCs are tumorigenic (i.e. can initiate, maintain, and develop cancers) because of their stemness disposition. Without the expression of stemness there would be neither cancers, nor metastases.

The weak interpretation of the niche hypothesis claims that the expression of stemness (response r) follows stem cell niche stimuli (s). Thus, targeting the stem cell-niche relationship would make the CSCs non-tumorigenic, as the cancer non-stem cell. Such a strategy should have the same outcome than the CSC-targeting therapies, that is, a definitive cure (see Figure 55). Data are currently lacking but one can find some interesting tracks in the scientific literature (see notes 653, 658, 659, and 663).

In conclusion, the traditional conception of stem cells, on which relies the CSCs-targeting therapeutic strategies, considers the stemness property as a 'categorical property'. In other words, stemness is a property that is essential and intrinsic to the cells of the 'stem cell' natural kind. Applied to the CSCs, if stemness is, indeed, a categorical property, then it must be possible to target it, and thus, to eliminate the CSCs, independently of plausible differences between initiating, propagating of metastatic CSCs highlighted in chapter 5. Furthermore, lack of specificity of the markers is not a problem as far as they allow elimination of all the CSCs. The major empirical difficulty ended being the distinction between CSCs and normal stem cells rather than between CSCs and cancer non-stem cells.

This chapter has highlighted that not every opposition to the hierarchical model of stem cells is an opposition to this 'categorical conception' of the stemness property. However, some of them represent ontological disagreement on the stemness property while agreeing on the general *entity* alternative (i.e. agreeing that stem cell refers to *entity* rather than cell *state*). I argue that this ontological disagreement matters because it has consequences for therapeutic strategies against cancers. I named this opposing view 'dispositional'.

The 'dispositional conception' gathers together the proponents of the weak version of the niche hypothesis. According to this conception, the stemness property relies on some categorical bases that are specific to stem cells. But its expression depends on the intervention of external factors, that is, stemness also depends on the niche. If stemness is, indeed, a dispositional property, then:

- (1) CSCs might be more easily targeted through two distinct molecular signatures (one for the quiescent CSCs, the other one for the cycling CSCs).
- (2) CSC-niche interactions represent another interesting target for therapies. By disrupting this relationship, a therapy would make the CSCs non tumorigenic, as the other cancer non-stem cells. This should have the same outcome than directly targeting the niche, that is a definitive cure.

CHAPITRE 8. L'alternative de l'état : la propriété souche comme propriété relationnelle-extrinsèque ou systémique

Le chapitre précédent a montré que l'alternative de *l'entité* pouvait être subdivisée en deux, certains biologistes considérant la propriété souche comme une 'propriété catégorique' et d'autres comme une 'propriété dispositionnelle'. Ces deux conceptions soutiennent la stratégie thérapeutique anti-CSC proposée par la théorie des CSC. Au contraire, le présent chapitre montrera que l'alternative de *l'état* a des conséquences fondamentalement contradictoires, par rapport à l'alternative de *l'entité*, concernant cette stratégie thérapeutique.

Après avoir présenté l'alternative de *l'état*, en se fondant sur l'analyse de Melinda Fagan, je montrerai qu'elle rend caduque la stratégie thérapeutique anti-CSC, qui ne peut tenir ses promesses (section 8.1). L'analyse des données venant soutenir cette alternative pour les cancers (section 8.2), ainsi que des options thérapeutiques qui s'offrent à elle (section 8.3), rendra sensible la possibilité de distinguer entre deux conceptions de la propriété souche : l'une selon laquelle la propriété souche (ou *l'état* souche) est induite par la niche, l'autre selon laquelle l'acquisition de la propriété souche n'est pas nécessairement dépendante de l'action d'une niche (section 8.4). La première repose sur la version forte de l'hypothèse de la niche et considère la propriété souche comme une 'propriété relationnelle-extrinsèque'. Tandis que la seconde, qui est définie comme le négatif de la première considère la propriété souche comme une 'propriété populationnelle' ou 'système'. Malheureusement, la rareté des données, concernant les CSC, rend difficile le travail d'analyse et de distinction conceptuelle. Par conséquent, la distinction entre 'propriété populationnelle/système' et 'propriété relationnelle-extrinsèque', leur analyse et leurs conséquences en matières de stratégies thérapeutiques, sont proposées à titre de pistes d'investigations futures.

8.1. L'alternative de la cellule souche comme *état* cellulaire et ses conséquences sur le modèle thérapeutique de la théorie des CSC

La distinction de la 'conception dispositionnelle' par rapport à la 'conception catégorique' des cellules souches était basée sur la version faible de l'hypothèse de la niche et sur le modèle du clair-obscur engagés par les recherches de signatures moléculaires. Les

autres critiques dirigées à l'encontre de la conception classique des cellules souches, ayant une incidence sur la conception de la propriété souche⁶⁶⁶, se rejoignent sur une thèse déterminante : la possibilité de la dédifférenciation (voir chapitre 6). Cette thèse conduit à concevoir la notion de cellule souche comme décrivant un *état* cellulaire possible plutôt qu'une *entité*. Melinda Fagan consacre un chapitre de son livre *Philosophy of Stem Cell Biology*, paru en 2013, à la description de l'alternative de l'état. En se fondant sur les travaux de Dov Zipori, elle décrit cette alternative comme ceci :

Premièrement, l'état souche est *transitoire*, c'est une « pause » dans le processus de différenciation cellulaire. En le quittant, une cellule « choisit » une des multiples voies développementales possibles. Il ne s'agit pas d'une décision consciente, bien entendu, mais d'un choix déterminé par une combinaison de facteurs internes et externes, ou de « signaux » reçus par la cellule. Deuxièmement, ces choix sont, par principe, *réversibles*. De la même manière qu'une cellule peut être induite à sortir de l'état souche par des signaux, elle peut être induite à y entrer. Plus généralement, la 'topologie' des voies développementales est déterminée par la probabilité qu'une cellule transite d'un état initial à d'autres états. Le développement cellulaire est conçu comme un continuum, au sein duquel différentes positions correspondent à différents rôles fonctionnels que la cellule peut occuper. Les cellules occupent des rôles fonctionnels en vertu des états particuliers dans lesquels elles sont. Chaque cellule, au sein d'un organisme multicellulaire, a une certaine probabilité d'assumer chaque état, y compris l'état souche. En général, cette probabilité décline à mesure que les cellules se différencient mais, par principe, il n'y a pas de frontière nette ou de barrière à la fonction de cellule souche. Les cellules souches sont justes toutes les cellules, et seulement les cellules qui occupent les états qui ont de nombreuses voies développementales pour option⁶⁶⁷.

⁶⁶⁶ Par distinction à celles qui n'ont pas d'incidence. Voir chapitre 7, section 7.2.

⁶⁶⁷ « Zipori's 'plasticity' definition entails several important consequences. First, the stem state is *transient*, a "pause" in the process of cell differentiation. In leaving it, a cell "chooses" one of many possible developmental pathways. This choice is, of course, not a conscious decision, but determined by a combination of internal and external factors, or "signals," impinging on the cell. Second, such choices are, in principle, *reversible*. Just as cells can be induced by signals to leave a stem state, so can they be induced to enter such a state. More generally, the 'topology' of developmental pathways is determined by the probability that a cell transitions from an initial state to other states. Cell development is conceived as a continuum, different positions on which correspond to different functional roles that cells can occupy. Cells occupy functional roles in virtue of being in particular states. Every cell in a multicellular organism has some probability of assuming each state, including the stem state. In general, this probability declines as cells differentiate, but there is no sharp boundary or, in principle, barrier to stem cell function. Stem cells are just all and only those cells occupying states with the option of many different developmental pathways. So a third consequence of Zipori's stemness account is that stem cells are *interchangeable*, not relative to organismal sources or experimental methods. » Fagan M (2013) *Philosophy of Stem Cell Biology. Knowledge in Flesh and*

Melinda Fagan ajoute d'autres caractéristiques à sa description de l'alternative de l'*état*, telle que la plasticité et l'interchangeabilité des cellules souches. Mais ces caractéristiques sont tributaires du focus de son analyse sur la conception de Dov Zipori. Ce dernier considère, en s'appuyant sur les données portant sur les transdifférenciations et métaplasies (voir chapitre 6, section 6.3.5), que toutes les cellules souches sont pluripotentes. Les cellules souches adultes seraient donc bien plus plastiques qu'on ne le soupçonne. Par conséquent, les cellules souches adultes devraient être substituables les unes aux autres, en matières de développement et de thérapies cellulaires⁶⁶⁸.

Deux propriétés caractérisent donc l'alternative de l'*état* : l'état souche est « transitoire » et « réversible ». Ces deux propriétés ont une conséquence dramatique pour le modèle de stratégie de thérapie ciblée proposé par la théorie des CSC. Pour bien le comprendre, je propose une métaphore mettant en jeu l'alternative de l'*état*, définie par son caractère transitoire et réversible : les Agents dans la trilogie *Matrix*, réalisée par les Wachowski.

Dans cette trilogie, les humains sont « cultivés » dans des tours leur fournissant oxygène et liquide nutritif, afin d'alimenter les machines en bioélectricité. Pour les maintenir vivants et productifs en énergie, un programme informatique complexe, appelé la Matrice, leur permet une forme de vie virtuelle sur Terre qui leur donne l'illusion de liberté. Au sein de la Matrice, des agents (dont le plus connu est l'Agent Smith) assurent la stabilité du programme et lutte contre les humains qui tenteraient de le pirater. A chaque instant, ils peuvent intégrer n'importe lequel des corps humains câblés au Programme. L'humain se transforme alors, durant un temps t , en Agent, endossant sa fonction et les propriétés qui vont avec (comme une plus grande mobilité et rapidité de mouvement, voir Figure 56).



Figure 56. Un humain ayant endossé la fonction d'Agent dans *Matrix*.

Blood. London: Palgrave-Macmillan, p. 72, italique dans le texte. Voir l'ensemble du chapitre 4, intitulé : "A State of Uncertainty: Stemness and the Roles of Theory".

⁶⁶⁸ Voir : Zipori D (2009) *Biology of Stem Cells and the Molecular Basis of the Stem State*. Humana Press, Dordrecht Heidelberg London New York, en particulier le chapitre 6.

Ces Agents représentent donc un *état* possible, réversible et transitoire, pour les humains dans la matrice. Dans cette métaphore, « Agent » est, pour les humains de la matrice, l'équivalent de ce que serait « souche » pour les cellules cancéreuses d'un cancer donné. Imaginons, maintenant, l'équivalent métaphorique d'une thérapie ciblant les CSC qui tuerait spécifiquement les Agents de la matrice. Que se passe-t-il, dans *Matrix*, lorsqu'un Agent est tué ? L'humain qui était à l'*état* Agent, à ce moment là, meurt. Mais la propriété « Agent » n'est pas éliminée du système (la Matrice). En effet, chaque fois qu'ils sont tués, les Agents « changent de corps » et c'est un autre humain de la matrice qui se retrouve à l'*état* « Agent ». Si, de la même manière, « souche » représente un *état* transitoire et réversible, alors l'élimination spécifique de toutes les CSC dans un cancer donné à un temps t ne pourrait plus assurer la guérison du patient. En effet, à tout instant, une cellule cancéreuse non-souche pourrait retourner à l'*état* souche et induire une rechute (ou simplement le maintien et la croissance du cancer) (voir Figure 57).

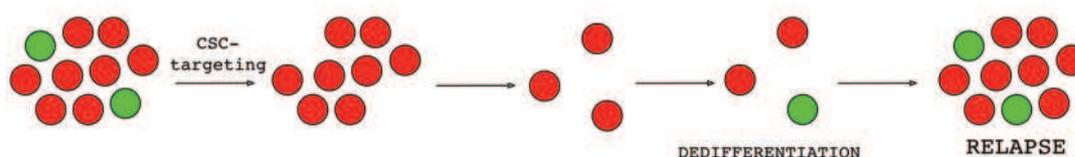


Figure 57. Alternative de l'état: le risque de rechute. Les CSC sont représentées en vert et les cellules cancéreuses non-souches en rouge. L'élimination de toutes les CSC d'un cancer donné permet d'obtenir une décroissance de la tumeur. Cependant, à tout instant, une cellule cancéreuse non-souche est susceptible de se dédifférencier et de conduire à une rechute.

On comprend donc que loin d'être une querelle de chapelle attirant les philosophes amateurs de conflits conceptuels, la question de la nature de la propriété souche pourrait s'avérer déterminante en matière de stratégie thérapeutique. Les milliards de dollars dépensés pour développer des médicaments ciblant les CSC seraient bien dérisoires si la propriété souche définissait un *état* transitoire et réversible. La question mérite donc d'être posée et gagnerait à être résolue, en particulier pour l'avenir des patients atteints de cancers, mais aussi pour les chercheurs et les financeurs, notamment les industries pharmaceutiques qui financent les essais cliniques et vendent les médicaments.

Deux questions se posent alors. Premièrement, est-ce un phénomène plausible dans les cancers ? Autrement formulé, les phénomènes de dédifférenciation sont-ils anecdotiques ou bien représentent-ils un risque important de rechute après élimination des CSC ? Deuxièmement, si les risques de rechutes après élimination des CSC sont importants, quelles sont les options thérapeutiques pour lutter contre les cancers ?

8.2. Les cellules cancéreuses non-souches peuvent-elles se dédifférencier ?

La première occurrence claire de l'alternative de l'*état* dans la littérature remonte à 2006. Il s'agit d'une hypothèse formulée par le biologiste Janusz Rak et publiée dans *Medical Hypotheses*. On y retrouve les deux caractéristiques de réversibilité et de transitoire par lesquelles Melinda Fagan décrit l'alternative de l'*état*.

Premièrement, il devrait être considéré que la '*stemness*' de la sous-population putative de cellules initiatrices de cancers pourrait ne pas être une propriété permanente mais pourrait au contraire peut-être être une propriété acquise de manière transitoire⁶⁶⁹.

Notons que, sur la base de l'observation de l'influence qu'un certain nombre de facteurs⁶⁷⁰ peuvent exercer sur la capacité des cellules cancéreuses transplantées à produire des tumeurs, Janusz Rak émet l'hypothèse que la propriété souche n'ait pas été attribuée à la bonne unité. Selon lui, cette propriété ne devrait pas être attribuée à des cellules individuelles particulières mais à des « unités multicellulaires cancéreuses interactives » (Figure 58). Il précise, à ce sujet :

Le circuit interne de telles unités (qui ne sont pas constituées d'un type cellulaire en particulier) serait, de ce fait, responsable de la prise de greffe des tumeurs et de leur capacité à se développer et se maintenir⁶⁷¹.

Ce modèle est très proche de celui proposé par Ray Schofield en 1970, à propos des cellules souches hématopoïétiques (voir chapitre 6, section 6.3.4). Dans les deux cas, la propriété souche n'est pas attribuée à des cellules, individuellement, mais à un complexe cellule-environnement. Dans les deux cas également, la perte de la propriété souche est réversible. C'est ce que j'ai appelé la version faible ou hypothèse « dédifférenciative » de la niche.

⁶⁶⁹ « It should be considered (and it has been in the literature), that the '*stemness*' of the putative subset of cancer initiating cells may not be permanent, but rather could possibly be a transiently acquired property » Rak J (2006) « Is cancer stem cell a cell, or a multicellular unit capable of inducing angiogenesis? » *Med Hypotheses* 66(3): 601-604, ici p. 602.

⁶⁷⁰ Il cite le lieu d'injection, le fait que cette dernière soit orthotopique ou ectopique et la co-injection de Matrigel, de facteurs de croissance ou encore de cellules cancéreuses irradiées.

⁶⁷¹ « This property could be attributed to interactive multicellular cancer stem units. The inner circuitry of such units (not of one cell type, in particular) would, therefore, be responsible for tumor take, repopulation and maintenance. » Rak J (2006) « Is cancer stem cell a cell, or a multicellular unit capable of inducing angiogenesis? » *Med Hypotheses* 66(3): 601-604, ici p. 603.

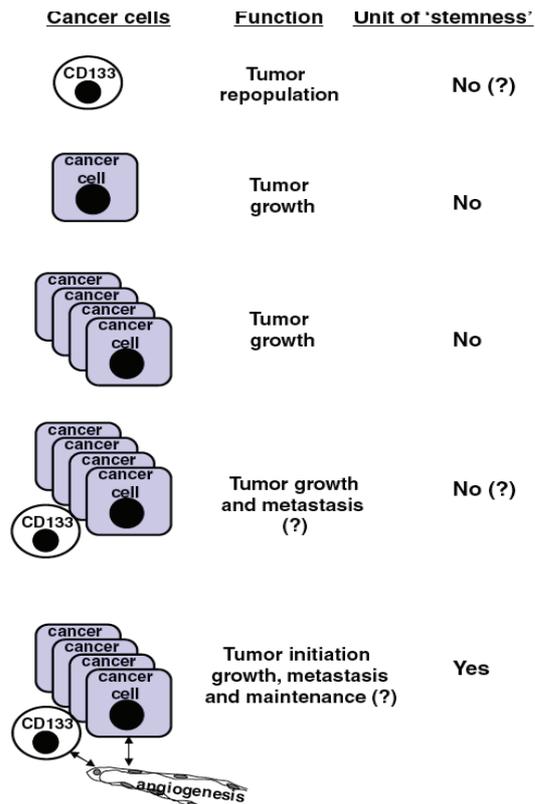


Figure 58. Modèle de Janusz Rak (2006)⁶⁷². Légende d'origine : « Le modèle proposé de la nature multicellulaire et angiogénique de la 'stemness' dans le cancer. Le texte soutient que les cellules cancéreuses qui expriment des marqueurs de cellules souches (par exemple, CD133) pourraient ne pas constituer elles-mêmes l'unité tumorigène. Pas plus leurs cellules filles (désignées comme 'cellules cancéreuses'). Ni individuellement, ni collectivement. Il propose que la capacité à initier et à soutenir la croissance d'une tumeur (c'est-à-dire la 'stemness' du cancer) devrait plutôt être attribuée aux interactions impliquant de multiples cellules cancéreuses et stromales. Cette capacité requerrait la manifestation de propriétés angiogéniques (flèches) par ces unités multicellulaire interactives souches ».

Des données plus concrètes en faveur de l'alternative de l'état ont émergé des travaux menés par quelques laboratoires dissidents, en particulier celui du très renommé Robert Weinberg, au MIT, et celui de Jan Paul Medema, Le LEXOR, à Amsterdam.

L'équipe de Robert Weinberg a identifié une sous-population de cellules épithéliales basales mammaires chez l'humain capable de dédifférenciation spontanée. Plus pertinent encore, cette équipe a montré que la probabilité de telles dédifférenciations est accrue dans les cancers du sein⁶⁷³.

⁶⁷² Rak J (2006) « Is cancer stem cell a cell, or a multicellular unit capable of inducing angiogenesis? » *Med Hypotheses* 66(3): 601-604 (ici, Figure 1, p. 603). Légende : « The proposed model of multicellular and angiogenesis-related nature of 'stemness' in cancer. It is argued in the text that cancer cells expressing stem cell markers (e.g., CD133) may not by themselves constitute true units of tumorigenicity, neither do single, or multiple cells of their progeny (designated as 'cancer cells'). It proposed that the capacity to initiate and sustain tumor growth (i.e. cancer 'stemness') should instead be attributed to interactions involving multiple cancer and stromal cells, and requires manifestation of angiogenic properties (arrows) by these interactive multicellular stem units. »

⁶⁷³ Chaffer CL, Brueckmann I, Scheel C, Kaestli AJ, Wiggins PA, Rodrigues LO, Brooks M, Reinhardt F, Su Y, Polyak K, Arendt LM, Kuperwasser C, Bieri B and Weinberg RA (2011) « Normal and neoplastic nonstem cells can spontaneously convert to a stem-like state » *Proc Natl Acad Sci USA* 108(19): 7950-7955.

Notons que l'idée que la dédifférenciation pourrait être un phénomène accru dans les cas de cancers est régulièrement présente dans la littérature sur la dédifférenciation. Voir par exemple : Theise ND and Wilmot I (2003) « Cell plasticity: flexible arrangement » *Nature* 425(6953): 21.

De plus, cette équipe avait également montré que les transitions épithélio-mésenchymateuses⁶⁷⁴, durant lesquelles des cellules de type épithélial se transformaient en cellules de type mésenchymateux, pouvaient également induire l'émergence de caractéristiques souches dans les tissus mammaires normaux et dans les cancers du sein. En effet, les cellules (cancéreuses ou non) ayant subi une transition expriment des marqueurs moléculaires propres aux cellules indifférenciées. Elles présentent une capacité accrue à produire des mammosphères, la capacité fonctionnelle par laquelle on identifie actuellement les cellules souches mammaires (parce qu'elle indique une bonne capacité d'auto-renouvellement et de différenciation). Enfin, dans les cancers du sein, les cellules ayant subi une transition épithélio-mésenchymateuse présentent une tumorigénicité (c'est-à-dire une capacité à produire des tumeurs) dix fois plus élevée que les cellules cancéreuses non-souches témoins *in vitro* ; mais également *in vivo*, si les signaux induisant la transition épithélio-mésenchymateuses sont maintenus⁶⁷⁵. Ces données ont été corroborées, à la même période, par les travaux de l'équipe lyonnaise dirigée par Alain Puisieux. Cette équipe a généré des CSC à partir de cellules épithéliales mammaires en activant la voie de signalisation Ras-MAPK, qui rend les cellules plus sensibles à l'induction d'une transition épithélio-mésenchymateuses⁶⁷⁶.

L'équipe de Jan Paul Medema étudie, depuis quelques années déjà, le rôle de la voie Wnt dans les cancers colorectaux et, plus spécifiquement, dans leurs CSC. Ils ont montré que cette voie de signalisation était régulée par des facteurs produits par la niche des CSC, plus précisément, par le facteur de croissance hépatocytaire (HGF) produit par les myofibroblastes. Mais, plus encore, leurs résultats indiquent la possibilité d'une

⁶⁷⁴ Ce phénomène est courant durant le développement embryonnaire. Voir : Hay ED (1995) « An overview of epithelio-mesenchymal transformation » *Acta Anat (Basel)* 154(1): 8-20 ; Perez-Pomares JM and Munoz-Chapuli R (2002) « Epithelial-mesenchymal transitions: a mesodermal cell strategy for evolutive innovation in Metazoans » *Anat Rec* 268(3): 343-351; Thiery JP and Sleeman JP (2006) « Complex networks orchestrate epithelial-mesenchymal transitions » *Nat Rev Mol Cell Biol* 7(2): 131-142.

Il a également été observé dans les cancers, au sein desquels il a été impliqué dans la production des métastases. Voir : Thiery JP (2003) « Epithelial-mesenchymal transitions in development and pathologies » *Curr Opin Cell Biol* 15(6): 740-746.

⁶⁷⁵ Mani SA, Guo W, Liao MJ, Eaton EN, Ayyanan A, Zhou AY, Brooks M, Reinhard F, Zhang CC, Shipitsin M, Campbell LL, Polyak K, Brisken C, Yang J and Weinberg RA (2008) « The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells » *Cell* 133(4): 704-715.

Voir aussi : Scheel C, Eaton EN, Li SH, Chaffer CL, Reinhardt F, Kah KJ, Bell G, Guo W, Rubin J, Richardson AL and Weinberg RA (2011) « Paracrine and autocrine signals induce and maintain mesenchymal and stem cell states in the breast » *Cell* 145(6): 926-940.

⁶⁷⁶ Morel AP, Lievre M, Thomas C, Hinkal G, Ansieau S and Puisieux A (2008) « Generation of breast cancer stem cells through epithelial-mesenchymal transition » *PLoS One* 3(8): e2888.

dédifférenciation des cellules cancéreuses non-souches en CSC par les HGF produit par les myofibroblastes (voir Figure 59⁶⁷⁷) :

Nous montrons que les cellules cancéreuses différenciées, qui ont perdu la capacité à former des tumeurs et qui ne sont plus clonogéniques, peuvent être reprogrammées pour exprimer les marqueurs des CSC et peuvent réacquérir leur capacité tumorigène lorsqu'elles sont stimulées par des facteurs dérivés de myofibroblastes. Cela suggère que la propriété souche dans les cancers (*cancer stemness*) n'est pas une caractéristique rigide mais peut être modulée et même instaurée par le microenvironnement⁶⁷⁸.

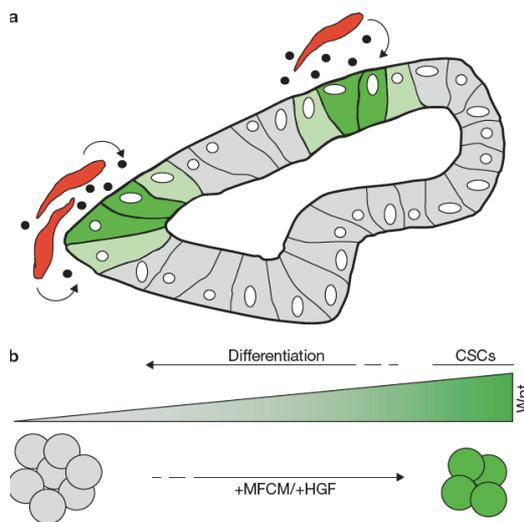


Figure 59. Modèle de Vermeulen *et al* (2010). Légende d'origine: « Représentation schématique du modèle proposé. (a) Les cellules avec une activité élevée de la voie Wnt (en vert) résident à côté de myofibroblastes stromales (en rouge) dans les cancers colorectaux. Les cellules avec une activité relativement faible de Wnt sont représentées en gris. Les myofibroblastes associées à la tumeur sécrètent des facteurs tels que HGF (points noirs) qui stimulent la voie Wnt. (b) La stimulation de la cascade de signalisation de la voie Wnt dans les cellules différenciées du cancer du colon, caractérisées par une activité faible de Wnt, restaure les caractéristiques des CSC. Celles-ci incluent l'expression des marqueurs des CSC et la tumorigénicité. Pris ensemble, ces résultats suggèrent un rôle pivot de l'environnement dans la détermination des caractéristiques des CSC dans les cellules du cancer du colon. »

Sur cette base, ils ont proposé de substituer au modèle hiérarchique des CSC ce qu'ils appellent le « modèle dynamique des CSC ». Selon ce modèle, non seulement la niche

⁶⁷⁷ Vermeulen L, De Sousa EMF, van der Heijden M, Cameron K, de Jong JH, Borovski T, Tuynman JB, Todaro M, Merz C, Rodermond H, Sprick MR, Kemper K, Richel DJ, Stassi G and Medema JP (2010) « Wnt activity defines colon cancer stem cells and is regulated by the microenvironment » *Nat Cell Biol* 12(5): 468-476, (ici, Figure 8, p. 475). Légende: « Schematic representation of the proposed model. (a) Cells with a high Wnt signal activity (depicted in green) reside close to stromal myofibroblasts (red) in colorectal cancer tissue. Cells with a relatively low Wnt activity are depicted in grey. Tumour-associated myofibroblasts secrete factors such as HGF (black dots) that stimulate Wnt signalling. (b) Stimulation of the Wnt signalling cascade in differentiated colon cancer cells, characterized by low Wnt signalling activity, restores CSC characteristics. These include expression of CSC markers and tumorigenicity. Taken together, these results suggest a pivotal role for the environment in determining CSC features of colon cancer cells. »

⁶⁷⁸ « Moreover, we show that differentiated cancer cells, which have lost the capacity to form tumours and are no longer clonogenic, can be reprogrammed to express CSC markers and regain their tumorigenic capacity when stimulated with myofibroblast-derived factors. This suggests that cancer stemness is not a rigid feature but can be modulated and even installed by the microenvironment. » Vermeulen L, De Sousa EMF, van der Heijden M, Cameron K, de Jong JH, Borovski T, Tuynman JB, Todaro M, Merz C, Rodermond H, Sprick MR, Kemper K, Richel DJ, Stassi G and Medema JP (2010) « Wnt activity defines colon cancer stem cells and is regulated by the microenvironment » *Nat Cell Biol* 12(5): 468-476, ici p. 468.

contrôle le comportement des CSC, mais elle peut également induire la dédifférenciation des cellules cancéreuses non-souches (voir Figure 60).

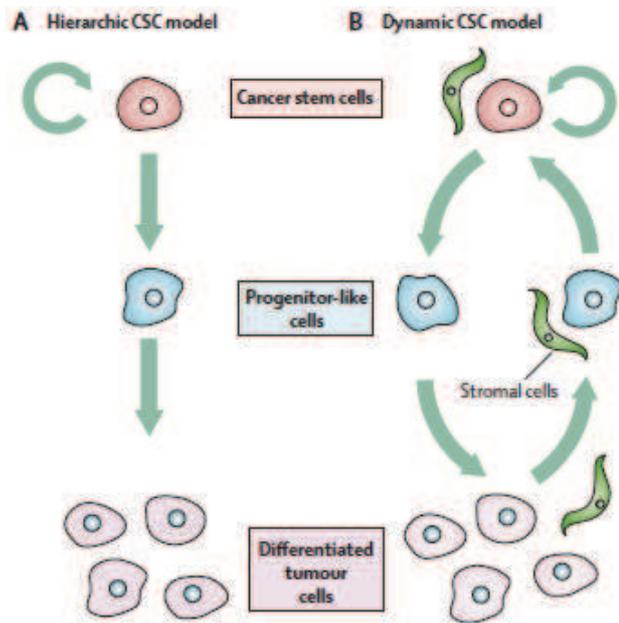


Figure 60. Le modèle dynamique des CSC selon Vermeulen *et al* (2012)⁶⁷⁹. Légende d'origine : « Le modèle des CSC en développement. (A) Le modèle initial, strictement hiérarchique des CSC. Les CSC se différencient en cellules progénitrices qui donnent des cellules différenciées qui ont perdu la capacité de s'auto-renouveler et de contrôler la croissance de la tumeur. (B) le modèle émergent dynamique des CSC ; les CSC se différencient et donnent naissance aux populations de cellules différenciées au sein de la tumeur. Les CSC sont dépendantes des signaux du microenvironnement formé par les cellules stromales. La dédifférenciation de cellules tumorales différenciées se produit sous l'influence du microenvironnement. Les cellules stromales (en vert) représentent des myofibroblastes, des cellules endothéliales, des cellules souches mésenchymateuses ou encore des cellules immunitaires infiltrées ».

Par ailleurs, l'équipe d'Eric Lander, collègue de Robert Weinberg au MIT, a produit une étude de la dynamique des sous-populations cancéreuses dans une lignée de cellules de cancers du sein indiquant des phénomènes stochastiques de dédifférenciation. Cette équipe a conduit l'expérience suivante (illustrée par la Figure 61 A) : ils ont trié, par FACS, les cellules de lignées de cancers du sein en trois sous-populations pures sur le plan phénotypique : une population enrichie en CSC (en rouge), une population de cellules basales (en vert), et une population de cellules luminales (en bleu). Puis ils ont cultivé séparément ces sous-populations de cellules cancéreuses. Ils observent que chacune des sous-populations retourne à l'équilibre, c'est-à-dire reproduit une population équivalente à la population initiale, présentant des cellules basales, luminales et souches.

⁶⁷⁹ Vermeulen L, de Sousa e Melo F, Richel DJ and Medema JP (2012) « The developing cancer stem-cell model: clinical challenges and opportunities » *Lancet Oncol* 13(2): e83-89 (ici, Figure 1, p. e84). Légende : « The developing cancer stem-cell model. (A) The initial, strictly hierarchically organised cancer stem-cell (CSC) model. CSCs differentiate into progenitor-like cells that give rise to terminally differentiated cells, which have lost the capacity to self-renew and drive tumour growth. (B) The emerging dynamic CSC model; CSCs differentiate and give rise to the differentiated cell population within the tumour. CSCs are dependent on signals from the microenvironment shaped by stromal cells. Dedifferentiation of differentiated tumour cells occurs under the influence of the microenvironment. Stromal cells (green) represent myofibroblasts, endothelial cells, mesenchymal stem cells, or infiltrating immune cells. »

On trouve un modèle similaire dans un article de l'équipe de Sean Morrison : Magee JA, Piskounova E, Morrison SJ (2012) « Cancer Stem Cells: Impact, Heterogeneity, and Uncertainty » *Cancer Cell* 21: 283-296.

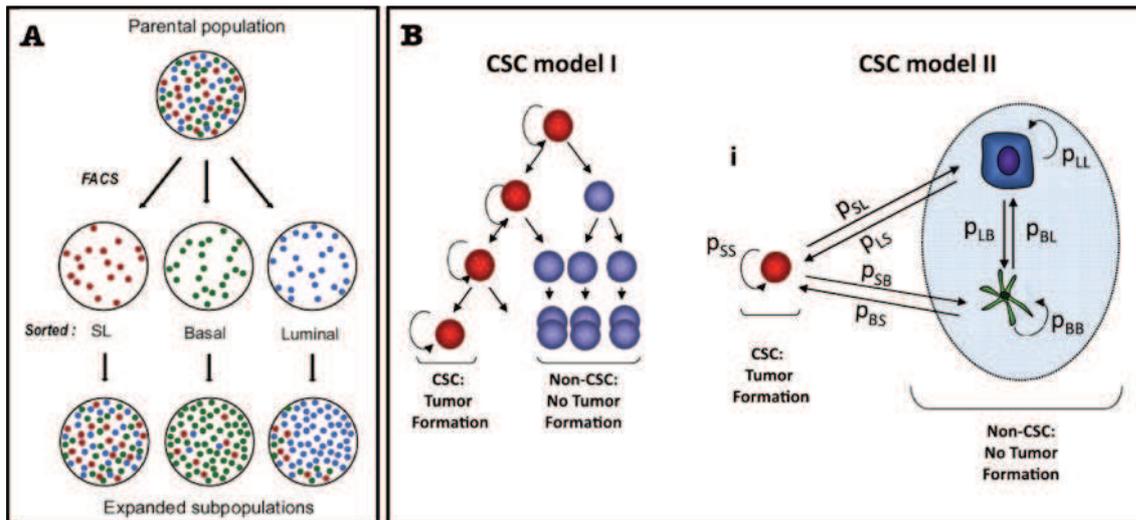


Figure 61. Modèle de Gupta *et al* (2011). (A) Représentation schématique de la procédure expérimentale. Extrait de la figure 2, p. 636. (B) Deux modèles de la propriété souche dans les CSC. Extrait de la figure 5 p. 641. Légende d'origine : « deux modèles distincts des populations de cellules cancéreuses. Dans le paradigme existant (modèle I), les CSC donnent naissance aux non-CSC mais pas l'inverse, ce qui résulte en un lignage cellulaire de structure hiérarchique reflétant la biologie des tissus normaux. Nous proposons un scénario alternatif (modèle II) au sein duquel il y a une interconversion bidirectionnelle entre l'état CSC et l'état non-CSC. Le tau de transition entre les états cellulaires, qui varient entre différentes populations de cellules cancéreuses, peut être calculé avec l'approche du modèle de Markov décrit dans le texte »⁶⁸⁰.

Ils offrent une explication du phénomène par le modèle de Markov de transition stochastique entre les *états*. Ce modèle permet deux prédictions, toutes les deux corroborées par les résultats des expériences :

Une prédiction de ce modèle est que, sous certaines conditions, toute sous-population de cellules retournera à l'équilibre des proportions phénotypiques au cours du temps. Une seconde prédiction est que des CSC du cancer du sein sont produites *de novo* à partir de cellules non-souches⁶⁸¹.

Ceci les mène à proposer un nouveau modèle du développement cellulaire des cancers, au sein duquel des « interconversions bidirectionnelles » sont possibles (et prédictibles) entre « état » souche et non-souche (voir Figure 61 B).

⁶⁸⁰ « Figure 5. Two Distinct Models of Cancer. Cell Populations In the existing paradigm (model I), CSCs give rise to non-CSCs but not vice versa, resulting in a hierarchical cell-lineage structure reflective of normal tissue biology. We propose an alternative scenario (model II) in which there is bidirectional interconversion between CSC and non-CSC states. The rates of transition between cell states, which vary across distinct cancer cell populations, can be computed with the Markov modeling approach described in the main text and Experimental Procedures. » Gupta PB, Fillmore CM, Jiang G, Shapira SD, Tao K, Kuperwasser C and Lander ES (2011) « Stochastic state transitions give rise to phenotypic equilibrium in populations of cancer cells » *Cell* 146(4): 633-644, ici p. 641.

⁶⁸¹ « A prediction of this model is that, given certain conditions, any subpopulation of cells will return to equilibrium phenotypic proportions over time. A second prediction is that breast cancer stem-like cells arise *de novo* from non-stem-like cells. » Gupta PB, Fillmore CM, Jiang G, Shapira SD, Tao K, Kuperwasser C and Lander ES (2011) « Stochastic state transitions give rise to phenotypic equilibrium in populations of cancer cells » *Cell* 146(4): 633-644, ici p. 633.

L'équipe de Thomas Tüting, à l'Université de Bonn, a récemment rapporté des résultats troublants concernant l'étude de la résistance des mélanomes aux thérapies par « transfert adoptif de cellules ». Ces thérapies consistent à transférer des cellules immunitaires dans un patient (ici des lymphocytes T) pour augmenter la réponse immunitaire contre le cancer. Elles permettent d'obtenir des rémissions dans des patients atteints de mélanomes métastatiques. Cependant, les rechutes sont fréquentes⁶⁸². L'équipe de Thomas Tüting a montré que la résistance des cellules de mélanomes à cette thérapie était due à un phénomène de dédifférenciation réversible des cellules du mélanome. Cette dédifférenciation serait induite par le microenvironnement inflammatoire produit par les lymphocytes T, en particulier via les facteurs proinflammatoires tels que le TNF- α ⁶⁸³.

Par ailleurs, le débat sur l'origine des CSC dans des cellules souches ou non-souches offre également des données pertinentes pour l'alternative de l'état. Le chapitre 6 a déjà analysé ce débat (voir section 6.2). Rappelons simplement que plusieurs expériences avaient montré que les CSC pouvaient provenir de la transformation de cellules non-souches. La conclusion que l'on peut tirer de ces travaux est, s'ils sont correctes, que dans le contexte du cancer, des cellules non-souches peuvent se transformer en (ou donner naissance à des) cellules souches (cancéreuses).

Le débat sur l'origine des CSC dans les cellules souches s'est fait indépendamment de toute question portant sur la possibilité de la dédifférenciation. Une équipe allemande a cependant proposé un modèle de dédifférenciation dans les cancers fondé, en partie, sur la base des résultats de ce débat. Ulf Rapp, Fatih Ceteci et Ralf Schreck suggèrent que les CSC ne seraient pas le moteur, mais le produit de la cancérogenèse. Plus précisément, les oncogènes induisent une plasticité (« *oncogene induced-plasticity* ») qui aurait pour résultat l'acquisition de la propriété souche par certaines cellules cancéreuses (Figure 62⁶⁸⁴). Le rôle

⁶⁸² Rosenberg SA, Yang JC, Sherry RM, Kammula US, Hughes MS, Phan GQ, Citrin DE, Restifo NP, Robbins PF, Wunderlich JR, Morton KE, Laurencot CM, Steinberg SM, White DE and Dudley ME (2011) « Durable complete responses in heavily pretreated patients with metastatic melanoma using T-cell transfer immunotherapy » *Clin Cancer Res* 17(13): 4550-4557 ; Restifo NP, Dudley ME and Rosenberg SA (2012) « Adoptive immunotherapy for cancer: harnessing the T cell response » *Nat Rev Immunol* 12(4): 269-281.

⁶⁸³ Landsberg J, Kohlmeyer J, Renn M, Bald T, Rogava M, Cron M, Fatho M, Lennerz V, Wolfel T, Holzel M and Tüting T (2012) « Melanomas resist T-cell therapy through inflammation-induced reversible dedifferentiation » *Nature* 490(7420): 412-416.

⁶⁸⁴ Rapp UR, Ceteci F and Schreck R (2008) « Oncogene-induced plasticity and cancer stem cells » *Cell Cycle* 7(1): 45-51, (ici, Figure 1, p. 46). Légende: « Induction of a state of plasticity in type II lung cells, e.g. by a combination of oncogenic RAF and E-cadherin impairment, allows reversal of differentiation of the type II cells to earlier points in their ontogenic history. This may lead to other lung cell types (1,2) or to cells mimicking the phenotype of cells from the primitive gut tube (3,4). Upon evasion from the primary tumor these cells home to tissues,

des proto-oncogènes comme c-Myc dans la production des cellules iPS offre un argument important pour leur modèle.

Nous proposons une vision alternative : dans les tissus à renouvellement lent, en particulier, les mutations initiatrices de tumeurs pourraient se produire dans des progéniteurs fonctionnels matures ou même dans des cellules différenciées terminales. Ces cellules deviennent ensuite phénotypiquement instables et acquièrent les propriétés des progéniteurs ou des cellules souches tissus-spécifiques voir même de cellules souches embryonnaires. La dédifférenciation de cellules initiatrices de tumeurs par des oncogènes se produit vraisemblablement également dans des tumeurs se développant dans des tissus à renouvellement rapide. C'est par exemple le cas quand les premières mutations touchent les progéniteurs et cela peut constituer un stade critique dans la progression vers une maladie généralisée et la production de métastases, si la dédifférenciation dépasse le stade des cellules souches tissus-spécifiques⁶⁸⁵.

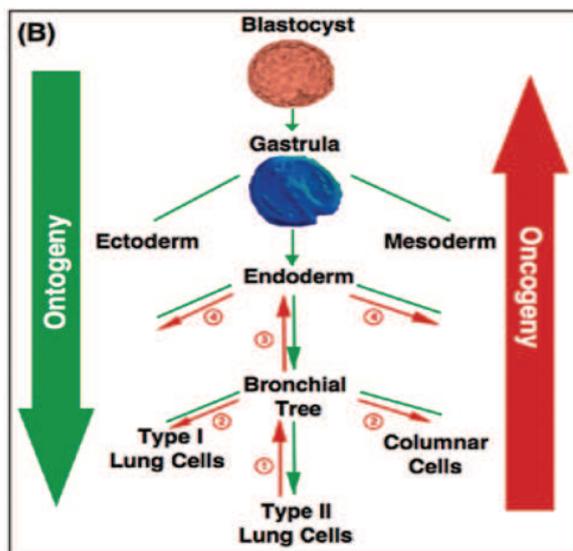


Figure 62. Modèle de Rapp UR, Ceteci F and Schreck R (2008). Légende d'origine : « Induction d'un stade de plasticité dans des cellules cancéreuses de type II de cancers du poumon, par exemple par combinaison une déficience oncogénique en RAF ou E-cadherin, permet dédifférenciation des cellules de type II à un stade antérieur de leur histoire ontogénique. Ceci peut mener à la production de cellules pulmonaires d'autres types (flèches 1 et 2) ou à des cellules mimant le phénotype des cellules du tube de l'intestin primitif (3 et 4). Après évaison de la tumeur primaire, ces cellules peuvent migrer vers des tissus qui ressemblent le plus à leur phénotype, par exemple le foie. La dédifférenciation s'accompagne d'un gain en cibles métastatiques potentielles et accroît la malignité de la tumeur. »

Les travaux de l'équipe de Marie-Pierre Junier et Hervé Chneiweiss, en collaboration avec d'autres laboratoires d'Île-de-France, ont apporté des données

which most closely resembles their phenotype, e.g. liver. Dedifferentiation is accompanied by a gain of novel potential metastatic targets and increase in malignancy of the tumor. ».

⁶⁸⁵ « Therefore we propose an alternative view: especially in tissues with slow turnover rates tumor initiating mutations may occur in functionally mature progenitor or even terminally differentiated cells. These cells subsequently become unstable with respect to their phenotypes and acquire features of progenitor or stem cells corresponding to organ-specific or even embryonic stem cells. Dedifferentiation of tumor initiating cells by oncogenes presumably also occurs in tumors arising in tissues with rapid turnover. This is for example the case when the first mutations hit progenitor cells and may constitute the critical step in progression to generalized disease and metastasis, if it extends beyond the stage of organ specific stem cells ». Rapp UR, Ceteci F and Schreck R (2008) « Oncogene-induced plasticity and cancer stem cells » *Cell Cycle* 7(1): 45-51.

compatibles avec cette idée d'oncogénie dédifférenciative, pour les tumeurs pédiatriques du cerveau⁶⁸⁶. Leurs recherches montrent une association entre la propriété souche (capacité d'auto-renouvellement à long terme et plasticité/potentiel de différenciation) et le stade des cancers, indiquant, d'une part, que le développement de certaines tumeurs du cerveau pourrait se passer des CSC et, d'autre part, que la progression de ces cancers pourrait induire l'apparition de cellules souches cancéreuses⁶⁸⁷. Rappelons, par ailleurs, que cette équipe avait montré que les astrocytes pouvaient se dédifférencier sous l'action du facteur de croissance TGF α , dont la présence a été observée à une fréquence élevée dans les gliomes⁶⁸⁸.

Il y a donc de bonnes raisons de croire que la dédifférenciation est un phénomène naturel et, plus précisément, que son occurrence peut être élevée dans les contextes de cancers. Il est d'ailleurs notable que l'idée que la dédifférenciation cellulaire serait fréquent dans les cancers n'est pas nouvelle. Au contraire, il était classique, dans les années 1970 d'expliquer les caractéristiques indifférenciées des cellules cancéreuses par des phénomènes de dédifférenciation (voir le chapitre 4, la section 4.2.3, concernant Barry Pierce). Aujourd'hui, les transitions épithélio-mésenchymateuses, plus fréquentes dans les cancers que dans les contextes sains, l'influence du microenvironnement (parfois induit par les thérapies elles-mêmes), les transitions stochastiques, qui pourraient régénérer le stock de CSC après son élimination par une stratégie thérapeutique anti-CSC, les mutations génétiques qui peuvent transformer des cellules non-cancéreuses non-souches en CSC, la plasticité induite par les oncogènes, sont autant de phénomènes qui rendent la

⁶⁸⁶ Thirant C, Bessette B, Varlet P, Puget S, Cadusseau J, Tavares Sdos R, Studler JM, Silvestre DC, Susini A, Villa C, Miquel C, Bogeas A, Surena AL, Dias-Morais A, Leonard N, Pflumio F, Bieche I, Boussin FD, Sainte-Rose C, Grill J, Daumas-Duport C, Chneiweiss H and Junier MP (2011) « Clinical relevance of tumor cells with stem-like properties in pediatric brain tumors » *PLoS One* 6(1): e16375.

⁶⁸⁷ Voir en particulier p. 10 : « Alternatively, the fact that such cells were not systematically found in all tumors within a given category, opens the possibility that they are not present at all time-points of the tumor development. The exceptional plasticity of normal somatic cells, exemplified by the ability of glial progenitors, and the ability of mature glial cells to be converted into stem-like cells in response to defined environmental conditions could suggest that brain cancer cells can acquire properties of progenitor cells or of stem cells in response to permissive environmental pressure. » Thirant C, Bessette B, Varlet P, Puget S, Cadusseau J, Tavares Sdos R, Studler JM, Silvestre DC, Susini A, Villa C, Miquel C, Bogeas A, Surena AL, Dias-Morais A, Leonard N, Pflumio F, Bieche I, Boussin FD, Sainte-Rose C, Grill J, Daumas-Duport C, Chneiweiss H and Junier MP (2011) « Clinical relevance of tumor cells with stem-like properties in pediatric brain tumors » *PLoS One* 6(1): e16375.

⁶⁸⁸ Dufour C, Cadusseau J, Varlet P, Surena AL, de Faria GP, Dias-Morais A, Auger N, Leonard N, Daudigeos E, Dantas-Barbosa C, Grill J, Lazar V, Dessen P, Vassal G, Prevot V, Sharif A, Chneiweiss H and Junier MP (2009) « Astrocytes reverted to a neural progenitor-like state with transforming growth factor alpha are sensitized to cancerous transformation » *Stem Cells* 27(10): 2373-2382.

dédifférenciation hautement plausible dans les cancers. Ceci permet de répondre à l'objection possible selon laquelle les exceptions sont la règle en biologie. Selon cette objection, la dédifférenciation serait certes plausible mais si peu probable qu'elle ne mériterait pas d'être prise en compte dans la production et l'évaluation des stratégies thérapeutiques. Au contraire, un nombre grandissant de données montre que la dédifférenciation pourrait sérieusement limiter l'efficacité de stratégies thérapeutiques ciblant spécifiquement les CSC. Dans ces conditions, quelles seraient les options thérapeutiques ?

8.3. Quelles options thérapeutiques ?

La première option est d'envisager la stratégie thérapeutique anti-CSC comme une stratégie thérapeutique adjuvante. L'objectif des thérapies contre les cancers serait donc, à nouveau, d'éliminer le plus grand nombre possible de cellules cancéreuses. Les médicaments ciblant les CSC permettraient de mieux réaliser cet objectif, dans la mesure où ils permettraient l'élimination des cellules qui résistent habituellement mieux aux thérapies classiques. Cette solution soulève, toutefois, un certain nombre de difficultés. Hormis le fait que le ciblage des CSC n'est pas évident, la difficulté la plus importante d'une telle thérapie combinée est le risque de rechute toujours présent. En effet, la moindre cellule cancéreuse épargnée pourrait, en théorie, être à l'origine d'une rechute. Or, on n'a aucune garantie, en cumulant une thérapie classique et une thérapie anti-CSC, d'éliminer *toutes* les cellules cancéreuses d'un cancer donné. D'autre part, le coût de ces thérapies pourrait s'avérer considérable, à la fois pour l'organisme (à cause de la multiplication potentielle des effets secondaires) et pour le système de santé. Cette question du coût reste sous-considérée aujourd'hui et mériterait sans doute plus d'attention. Tito Fojo et Christine Grady avaient publié, en 2009, un article dans le *Journal of National Cancer Institute* portant sur le coût des *smart-drugs*. Dans cet article, ils indiquent, à titre d'exemple, que le bevacizumab (Avastin), un anti-angiogénique, le 9^{ème} médicament le plus vendu en Amérique, coûte environ 8000\$ par mois par patient. Pour un patient atteint d'un cancer colorectal, la moyenne de survie étant de 18 mois, le coût du traitement au bevacizumab peut être estimé à 144000\$, pour une prolongation de la survie d'environ 4 mois. Le coût pour l'organisme est également

potentiellement considérable : risque de perforations gastro-intestinales, saignements graves, hypertension artérielle sévère, formation de caillots et cicatrisation retardée⁶⁸⁹.

Une autre option thérapeutique qui se dégage des données en faveur de l'alternative de *l'état* est l'intervention au niveau de la relation entre la niche et les CSC. Les partisans de la version faible comme de la version forte de l'hypothèse de la niche considèrent que celle-ci a un rôle majeur dans le rôle fonctionnel que prennent les CSC dans le développement des cancers. Éliminer les divers stimuli envoyés par la niche pourrait permettre d'induire la différenciation, mais aussi d'éviter les phénomènes de dédifférenciation, dans le cadre de la théorie dédifférenciative de la niche.

Il est clair que la dédifférenciation peut facilement se produire dans les contextes de tumeurs. C'est-à-dire que sous l'influence de myofibroblastes stromales, des cellules plus différenciées peuvent acquérir les caractéristiques des CSC [...]. Une telle flexibilité remet en question l'idée que cibler les CSC serait un moyen suffisant pour un contrôle efficace de la tumeur [...]. Comme les CSC sont plus résistantes aux thérapies, il n'est pas difficile d'apprécier comment l'induction de CSC par le microenvironnement influence directement l'issue du traitement. Les recherches futures de conceptions de nouvelles stratégies thérapeutiques devraient donc se concentrer sur les interactions microenvironnementales, qui pourraient s'avérer être le talon d'Achille des cancers⁶⁹⁰.

Jan Paul Medema et Louis Vermeulen indiquent, pour les cancers du colon, plusieurs espaces d'interventions thérapeutiques possibles (voir la légende de la Figure 63). En particulier, leurs travaux suggèrent que l'inhibition du récepteur c-Met pourrait empêcher la dédifférenciation (voir Figure 63 B). Cela représente une stratégie de thérapie adjuvante qui devrait venir s'ajouter soit à une stratégie de thérapie ciblée sur les CSC (ils proposent de cibler les CSC via le récepteur à la BMP), soit à une double stratégie de différenciation (en bloquant l'auto-renouvellement, par exemple grâce à des inhibiteurs de la voie Wnt ou de la voie Notch) suivie d'une chimiothérapie classique (on opérerait alors

⁶⁸⁹ Fojo T and Grady C (2009) « How much is life worth: cetuximab, non-small cell lung cancer, and the \$440 billion question » *J Natl Cancer Inst* 101(15): 1044-1048.

⁶⁹⁰ « It is clear that dedifferentiation can easily occur in tumour settings. That is, under the influence of stromal myofibroblasts, more differentiated tumour cells can reacquire CSC features [...] Such flexibility challenges the idea that targeting CSCs would be sufficient for efficient tumour control [...]. As CSCs are more resistant to therapy, it is not difficult to appreciate how the induction of CSCs by the microenvironment directly influences treatment outcome. Future research to devise new therapeutic strategies should therefore focus on these microenvironmental interactions, which could prove to be the Achilles' heel of cancer » Medema JP and Vermeulen L (2011) « Microenvironmental regulation of stem cells in intestinal homeostasis and cancer » *Nature* 474(7351): 318-326, ici p. 324, 325.

pour une triple thérapie). Notons que chacune de ces options est confrontée à des risques d'effets secondaires importants dans la mesure où le récepteur à la BMP n'est pas spécifique des CSC et les voies Wnt et Notch jouent des rôles importants dans l'auto-renouvellement des cellules souches non-cancéreuses. Le développement des nanovecteurs représenterait alors un domaine de recherche majeur pour le développement de thérapies ciblées contre les cancers.

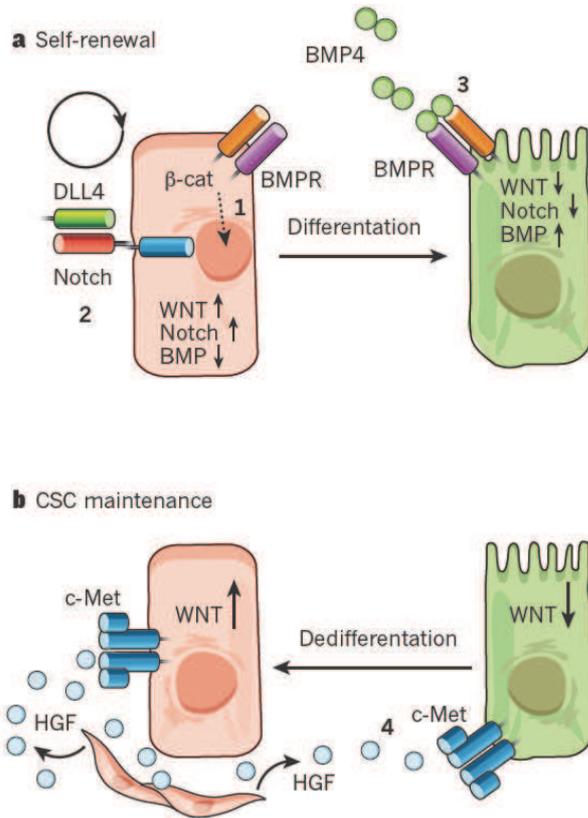


Figure 63. Stratégie thérapeutique associée à l'hypothèse dédifférenciative de la niche, d'après Medema & Vermeulen (2011). Légende d'origine : « Les signaux régulant les CSC des cancers du colon offrent une nouvelle cible thérapeutique. A, les CSC des cancers du colon reçoivent de multiples informations de l'environnement. Les signaux qui aident au maintien des CSC incluent Notch et Wnt. DLL4 stimule le récepteur Notch des cellules avoisinantes et, avec la β -caténine (β -cat), ils dirigent un profil de transcription immature qui promeut l'auto-renouvellement. BMP4 neutralise cette activité d'auto-renouvellement en se liant aux récepteurs BMP des CSC, interférant ainsi avec la voie de signalisation Wnt ce qui promeut ensuite la différenciation. B, Les CSC des cancers du colon sont, in vivo, intimement associées à des myofibroblastes sécrétant des HGF. Les HGF maintiennent les CSC des cancers du colon dans un état souche et empêchent la différenciation. De plus, les HGF produits par les myofibroblastes peuvent upréguler la cascade Wnt dans des cellules plus différenciées de la tumeur, réinstallant ainsi les caractéristiques des CSC (dédifférenciation) [...] »⁶⁹¹.

⁶⁹¹ Medema JP and Vermeulen L (2011) « Microenvironmental regulation of stem cells in intestinal homeostasis and cancer » *Nature* 474(7351): 318-326 (ici, Figure 3, p. 323). Légende: « Regulatory signals of colon CSCs provide new therapeutic targets. a, Colon CSCs receive a multitude of environmental cues. Signals that help to maintain CSCs include Notch and WNT. DLL4 stimulates Notch receptors on neighbouring cells and, together with β -catenin (β -cat), directs an immature transcription profile that promotes self-renewal. BMP4 counteracts this self-renewal activity by binding to BMP receptors on CSCs, thereby interfering with WNT signalling and subsequently promoting differentiation. b, Colon CSCs *in vivo* are found intimately associated with HGF-producing myofibroblasts. HGF maintains colon CSCs in a stem-cell state and prevents differentiation. In addition, HGF produced by myofibroblasts can upregulate the WNT cascade in more differentiated tumour cells, thereby reinstalling CSC features (dedifferentiation). These signals that govern CSC behaviour have great therapeutic potential. Several possibilities to interfere with the self-renewal capacities of CSCs exist. These include inhibitors of the WNT pathway that prevent β -catenin-dependent transcription (1); Notch inhibitors, preventing either the ligand from interacting with the receptor or the activation of the receptor (γ -secretase inhibitors), which are currently under evaluation (2); BMPR agonists that activate differentiation programs and could be used to target CSCs (3); and inhibitors of the receptor kinase c-Met that could modulate the interaction between stromal cells and CSCs to prevent dedifferentiation (4) ».

L'hypothèse dédifférenciative de la niche, cependant, ne saisit pas l'ensemble des possibilités contenues dans l'alternative de l'*état*. Pour les cellules cancéreuses, le modèle stochastique, développé par Piuish Gupta *et al*, semble indiquer que les transitions entre *état* (notamment la dédifférenciation), pourraient se produire indépendamment du microenvironnement. Le laboratoire de Robert Weinberg envisage également cette possibilité :

Nous avons montré que les cellules épithéliales mammaires différenciées peuvent se convertir à un état souche (*stem-like*), et semblent le faire de manière stochastique *in vitro*⁶⁹².

Selon eux, les transitions épithélio-mésenchymateuses, également source de différenciation, cette fois induite par le microenvironnement, viennent s'ajouter aux conversions spontanées⁶⁹³.

Dans la littérature sur les cellules souches non-cancéreuses, on peut également trouver des conceptions plus populationnelles ou « systémiques » de la dédifférenciation, notamment chez Arthur Lander (le frère d'Eric Lander, mentionné plus haut) :

La propriété souche est une propriété de systèmes, plutôt que de cellules. Un système étant, au minimum, une lignée cellulaire et, plus probablement, une lignée cellulaire plus un environnement. Un système avec la propriété souche est, typiquement, un système capable d'atteindre une taille contrôlée, de maintenir son homéostasie et de se régénérer quand cela est nécessaire⁶⁹⁴.

⁶⁹² « We have shown that differentiated mammary epithelial cells can convert to a stem-like state, doing so in an apparent stochastic manner in vitro. » Chaffer CL, Brueckmann I, Scheel C, Kaestli AJ, Wiggins PA, Rodrigues LO, Brooks M, Reinhardt F, Su Y, Polyak K, Arendt LM, Kuperwasser C, Bieri B and Weinberg RA (2011) « Normal and neoplastic nonstem cells can spontaneously convert to a stem-like state » *Proc Natl Acad Sci U S A* 108(19): 7950-7955, ici p. 7954.

⁶⁹³ « Given the present findings, the known ability of microenvironmental signals to provoke epithelial mesenchymal transitions (EMTs) and the close connection between passage through an EMT and entrance into a stem-cell state, we suspect that the presently observed spontaneous conversion in vitro may be augmented in vivo by contextual signals in the tumor microenvironment, such as those that drive the EMT. » Chaffer CL, Brueckmann I, Scheel C, Kaestli AJ, Wiggins PA, Rodrigues LO, Brooks M, Reinhardt F, Su Y, Polyak K, Arendt LM, Kuperwasser C, Bieri B and Weinberg RA (2011) « Normal and neoplastic nonstem cells can spontaneously convert to a stem-like state » *Proc Natl Acad Sci U S A* 108(19): 7950-7955, ici p. 7955.

⁶⁹⁴ « Stemness is a property of systems, rather than cells, with the relevant system being, at minimum, a cell lineage, and more likely a lineage plus an environment. A system with stemness is typically one that can achieve a controlled size, maintain itself homeostatically, and regenerate when necessary ». Lander AD (2009) « The 'stem cell' concept: is it holding us back? » *Journal of Biology* 8(8): 70.

Un système (une lignée cellulaire avec ou sans microenvironnement) régulerait donc sa population cellulaire, son homéostasie par des voies diverse qui peuvent impliquer ou non des signaux envoyés par une niche putative.

L'implication de phénomènes stochastiques dans la détermination de l'émergence de la propriété souche pourrait mettre en péril l'efficacité d'interventions thérapeutiques au niveau des relations niches-cellules cancéreuses. En effet, si des cellules cancéreuses non-souches sont susceptibles d'acquérir la propriété souche indépendamment de toute niche, alors, ni les thérapies ciblant les CSC ni celle ciblant la relation cellule souche-niche ne peuvent garantir la guérison des patients atteints de cancers.

Il faudrait donc distinguer deux alternatives concernant la propriété souche, au sein de l'alternative de l'état : soit la propriété souche est spécifiquement induite par une relation avec la niche, soit elle peut être induite par d'autres facteurs. Dans le premier cas, la propriété souche serait une 'propriété induite par la niche'. Je propose de désigner cette conception de la propriété souche comme une 'conception relationnelle-extrinsèque' (section 8.4). Dans le second cas, la propriété souche serait une 'propriété systémique' maintenue, au niveau d'un système donné, par des facteurs intrinsèques et/ou extrinsèques (section 8.5).

8.4. Dédifférenciation par la niche : la propriété souche comme 'propriété relationnelle-extrinsèque'

Si la niche est un facteur nécessaire à l'acquisition de la propriété souche, alors la stratégie thérapeutique de ciblage de la niche (au sens large) est une alternative tout à fait plausible. Je propose de désigner alors la propriété souche comme une 'propriété induite par la niche'. Sur le plan métaphysique, ce type de propriété pourrait s'apparenter à une 'propriété relationnelle-extrinsèque'. Les notions de propriété relationnelle et de propriété extrinsèque sont souvent considérées comme équivalentes et opposées à la notion de propriété intrinsèque. Cela est du au fait que la distinction entre propriété intrinsèque et extrinsèque est relative à l'identité de l'objet par rapport à lui-même où à d'autres. Ainsi, en 1983, David Lewis considérait les notions de propriété relationnelle et de propriété extrinsèque comme équivalentes et les définissaient comme ceci :

Les propriétés intrinsèques de quelque chose dépendent seulement de cette chose ; alors que les propriétés extrinsèques [ou relationnelles] de quelque chose peuvent

dépendre, entièrement ou en partie, de quelque chose d'autre⁶⁹⁵.

Toutefois, cette équivalence a été critiquée depuis, notamment par Lloyd Humberstone⁶⁹⁶. Certaines propriétés intrinsèques sont également relationnelles. Cela pourrait notamment être le cas de la propriété souche selon la 'conception dispositionnelle'. En effet, si l'on accepte la définition suivante des propriétés relationnelles proposée par Edward Khamara :

P est une propriété relationnelle positive si et seulement si, pour tout individu *x*, la possession de *P* consiste en le fait que *x* a une certaine relation à au moins un individu *y*⁶⁹⁷.

Alors, en un sens, la possession de la disposition souche peut être dite relationnelle dans le mesure où il ne peut y avoir ni auto-renouvellement ni différenciation (propriété souche) sans une certaine relation avec une niche cellulaire. Autrement dit, la version faible et la version forte de l'hypothèse de la niche font toutes deux de la propriété souche une 'propriété relationnelle'. Toutefois, la distinction proposée par David Lewis entre propriété intrinsèque et propriété extrinsèque offre un critère de distinction :

Si quelque chose a une propriété intrinsèque, alors il en va de même de tout duplicata parfait de cette chose ; alors que les duplicatas situés dans différents environnements différeront dans leurs propriétés extrinsèques⁶⁹⁸.

⁶⁹⁵ « The intrinsic properties of something depend only on that thing; whereas the extrinsic properties of something may depend, wholly or partly, on something else ». Lewis D (1983) « Extrinsic Properties » *Philosophical Studies* 44(2): 197-200, ici p. 197.

Voir aussi Lewis D (1986) *On the Plurality of Worlds*. Oxford: Basil Blackwell, p. 61 : « We distinguish intrinsic properties, which things have in virtue of the way they themselves are, from extrinsic properties, which they have in virtue of their relations or lack of relations to other things ».

Pour un autre exemple d'équivalence entre les notions de propriété relationnelle et de propriété extrinsèque, voir Khamara EJ (2006) *Space, Time, and Theology in the Leibniz-Newton Controversy*. Ontos Verlag, p. 58 : « The first is the traditional distinction between *intrinsic* (non-relational) properties, which individuals have in virtue of the way they themselves are, and *relational* properties, which individuals have in virtue of their relations or lack of relations to other individuals. Thus being green and being spherical are both intrinsic properties ; whereas being a husband, being a teacher, not being a dentist, and being a pupil of Plato are all relational properties. Relational properties may be either positive or negative. A positive relational property is one which is true or false of individuals in virtue of their having relations to other individuals ; whereas a negative relational property is one which is true or false of individuals in virtue of their lack of relations to other individuals. »

⁶⁹⁶ Humberstone IL (1996) « Intrinsic/extrinsic » *Synthese* 108(2): 205-267.

⁶⁹⁷ « *P* is a *positive relational* property if and only if, for any individual, *x*, *x*'s having *P* consists in *x*'s having a certain relation to at least one individual, *y*. » voir Khamara EJ (2006) *Space, Time, and Theology in the Leibniz-Newton Controversy*. Ontos Verlag, p. 58.

⁶⁹⁸ « The intrinsic properties of something depend only on that thing; whereas the extrinsic properties of something may depend, wholly or partly, on something else. If something has an intrinsic property, then so does any perfect duplicate of that thing; whereas duplicates

Si l'on accepte cette distinction entre intrinsèque et extrinsèque, alors la propriété souche dans la version faible de l'hypothèse de la niche est une propriété intrinsèque, alors qu'elle est une propriété extrinsèque dans la version forte de l'hypothèse de la niche. En effet, dans la version faible de l'hypothèse de la niche, tout duplicata a' d'une cellule souche a dispose des bases catégoriques qui lui permettront d'exprimer la propriété souche si elle rencontre les stimuli appropriés. Qu'elles rencontrent ou non ces stimuli, a et a' sont considérées comme des cellules souches. Au contraire, selon la version forte de l'hypothèse de la niche, le duplicata b' d'une cellule b , localisée dans une niche n exprimant la propriété souche à un instant t , n'exprimera pas la propriété souche si elle n'est pas localisée dans une niche n' . Inversement, le duplicata c' d'une cellule non-souche c , pourrait exprimer la propriété souche si elle se situait dans une niche appropriée. Ainsi, dans la version faible de l'hypothèse de la niche ('conception dispositionnelle' de la propriété souche), si a est une cellule souche, alors a' est également une cellule souche. Au contraire, dans la version forte de l'hypothèse de la niche, d'une part, b peut être une cellule souche et b' une cellule non-souche (et inversement), d'autre part, b peut cesser d'être une cellule souche et c peut devenir une cellule souche.

Un exemple illustratif de 'propriété relationnelle-extrinsèque' peut être trouvé dans l'attribution du genre en Mélanésie. D'après les travaux menés par Marilyn Strathern, le genre est une propriété relationnelle attribuée par la relation de don⁶⁹⁹. Un don attribue les propriétés « féminin » et « masculin » au(x) donateur(s) et au(x) donataires, respectivement. Dans cette culture, le genre n'est pas considéré comme un attribut de la personne. Ce n'est ni une 'propriété catégorique', ni une 'propriété dispositionnelle' survenant sur des bases catégoriques. C'est une 'propriété relationnelle-extrinsèque'. Cela se caractérise par une mobilité de la propriété, du point de vue des individus. On peut tantôt être féminin, tantôt masculin, en fonction des relations que l'on entretient avec d'autres⁷⁰⁰. De la même manière, considérer la propriété souche comme une 'propriété relationnelle-extrinsèque' consiste à considérer que ce sont des relations particulières cellules-niches qui déterminent l'entrée, la sortie ou le maintien à l'état souche, de cellules particulières.

situated in different surroundings will differ in their extrinsic properties. » Lewis D (1983) « Extrinsic Properties » *Philosophical Studies* 44(2): 197-200, ici p. 197.

⁶⁹⁹ Voir Strathern M (1988). *The Gender of the Gift : Problems with Women and Problems with Society in Melanesia*. Berkley and Los Angeles: University of California Press.

⁷⁰⁰ Pour une analyse du genre comme propriété relationnelle, voir : Strathern M (1988). *The Gender of the Gift : Problems with Women and Problems with Society in Melanesia*. Berkley and Los Angeles: University of California Press.

Il n'est toutefois pas évident que la description métaphysique de la propriété souche comme 'propriété relationnelle-extrinsèque' soit plus éclairante que sa description en terme de 'propriété induite par la niche'. Elle à l'avantage de rendre intelligible le fait que la rupture de la relation implique la perte de la propriété et donc qu'une thérapie intervenant sur la relation niche-cellule pourrait garantir un succès thérapeutique. Mais elle a l'inconvénient de ne pas rendre compte de l'aspect fonctionnel de la propriété souche. Cette propriété est tout à fait distincte d'une 'propriété extrinsèque dispositionnelle' telle que « se trouver à 50 km au sud d'une grange en feu »⁷⁰¹. Une description métaphysique adéquate de cette conception devrait permettre à la fois d'indiquer la nature essentiellement relationnelle de la propriété souche et sa nature fonctionnelle, c'est-à-dire le fait qu'elle permette à la cellule qui l'acquière d'agir d'une certaine manière (s'auto-renouveler et/ou se différencier).

8.5. Dédifférenciation indépendante de la niche : la propriété souche comme 'propriété systémique'.

Si la propriété souche peut s'acquérir indépendamment de toute niche cellulaire, comme le suggère, par exemple, les travaux menés par l'équipe d'Eric Lander⁷⁰², alors de quel type de propriété s'agit-il ? La difficulté est double. Premièrement, les données manquent car l'alternative de *l'état* est globalement sous-étudiée. Deuxièmement, les facteurs pouvant induire la dédifférenciation semblent pouvoir être hétérogènes. Deux classes de facteurs sont susceptibles d'être distingués : les événements stochastiques affectant l'expression des gènes et les régulations à l'échelle des populations de cellules. Il est toutefois peu probable que l'expression stochastique des gènes, seule, puisse expliquer la totalité des phénomènes de dédifférenciations et, plus généralement, de transitions d'état cellulaire. En effet, les cellules disposent d'importants appareillages d'interactions via de nombreuses molécules de surfaces et récepteurs transmembranaires dont on aurait du mal à rendre compte si la totalité des transitions d'état cellulaire était déterminée par l'expression stochastique des gènes. Par conséquent, ces deux classes de facteurs ne

⁷⁰¹ Exemple proposé par Kim J (1973) « Causation, Nomic Subsumption and the Concept of Event ». *Journal of Philosophy* 70(8): 217-236, (p. 231) repris par de nombreux philosophes. Voir par exemple, Hoffmann-Kolss V (2010). *The Metaphysics of Extrinsic Properties*. Ontos Verlag (p. 118) ; Kistler M (2002) « L'identité des propriétés et la nécessité des lois de la nature ». *Cahier de Philosophie de l'Université de Caen*, 38/39: 249-273 (p. 249).

⁷⁰² Gupta PB, Fillmore CM, Jiang G, Shapira SD, Tao K, Kuperwasser C and Lander ES (2011) « Stochastic state transitions give rise to phenotypic equilibrium in populations of cancer cells » *Cell* 146(4): 633-644, voir la Figure 61.

représentent pas deux conceptions distinctes de l'alternative de l'état mais deux facteurs distincts pouvant agir dans la détermination de l'état souche. Je montrerai qu'il est important de déterminer la part de chacun de ces facteurs dans les phénomènes de dédifférenciations, c'est-à-dire la probabilité qu'ils induisent la propriété souche dans des cellules cancéreuses non-souches, dans un cancer donné.

La conception systémique des états cellulaires, en particulier telle qu'elle a été développée par le biologiste Sui Huang, de l'*Institute for Systems Biology* (Seattle, Washington), permet de rendre compte de ces deux types d'évènements (stochastiques et populationnelles)⁷⁰³. La 'conception systémique' des cellules souches se distingue des trois conceptions décrites précédemment ('propriété catégorique', 'propriété dispositionnelle' et 'propriété induite par la niche' ou 'relationnelle-extrinsèque') en ceci qu'elle vise à comprendre et expliquer la propriété souche au niveau d'un système, là où les précédentes se concentraient sur le niveau unicellulaire, en prenant tout au plus en compte des interactions spécifiques entre deux cellules. La 'conception systémique' de la propriété souche se caractérise donc par un changement d'échelle : « les systèmes sont considéré comme constituant une catégorie ontologique fondamentale », à partir de laquelle il est possible « de comprendre les propriétés émergentes d'interactions entre composants »⁷⁰⁴. Les frontières du système, pour les partisans de cette conception des cellules souches, sont peu, voire pas définies. Pour le biologiste Eric Lander, il s'agit « au minimum d'un lignée cellulaire et, plus probablement, d'une lignée cellulaire plus un environnement » (voir note 694). Sui Huang, quant à lui, se contente d'indiquer que le système comprend toutes les « interactions régulant les gènes » (« *gene-regulatory interactions* »). Parmi ces interactions, se trouvent le « bruit dû à la fluctuation aléatoire de l'expression des gènes » et les « perturbations » (il prend l'exemple de médicaments et se réfère plus généralement aux évènements développementaux au sens large). Sui Huang utilise le paysage épigénétique de

⁷⁰³ Expliquer ou rendre compte des phénomènes de dédifférenciation ne fait pas parti des objectifs de Sui Huang. Il s'intéresse essentiellement à la différenciation. Cependant, en rendant compte des changements d'état, son modèle s'applique aussi bien à la dédifférenciation qu'à la différenciation.

Voir Huang S (2010) « Cell lineage determination in state space: a systems view brings flexibility to dogmatic canonical rules » *PLoS Biol* 8(5): e1000380 ; Huang S (2011) « Systems biology of stem cells: three useful perspectives to help overcome the paradigm of linear pathways » *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 366(1575): 2247-2259 ; Ho HJ, Lin TI, Chang HH, Haase SB, Huang S and Pyne S (2012) « Parametric modeling of cellular state transitions as measured with flow cytometry » *BMC Bioinformatics* 13 Suppl 5(S5).

⁷⁰⁴ « It is crucial, they argue, 'to analyse systems as systems, and not as mere collections of parts' in order to understand the emergent properties of component interactions. Systems are taken to constitute a fundamental ontological category... » O'Malley MA and Dupré J (2005) « Fundamental issues in systems biology » *Bioessays* 27(12): 1270-1276, ici p. 1271.

Conrad Waddington⁷⁰⁵, que l'on voit réémerger dans les recherches sur les cellules souches⁷⁰⁶, pour représenter les états stables (qu'il appelle « attracteurs », le fond des vallées) et instables (le sommet des vallées) ainsi que les transitions d'état que peuvent subir les cellules (voir Figure 64), à la différence que :

Les biologistes des cellules souches interprètent les « unités de stabilité » du modèle comme des états cellulaires plutôt que comme des voies (pathways), de telle sorte que la bille qui roule représente une cellule qui chemine à travers différents états au cours d'un processus de différenciation⁷⁰⁷.

Les interactions qu'expérimente une cellule déterminent sa position, c'est-à-dire son *état* à un temps *t*. Cet état est expliqué par les stimuli externes et internes susceptibles de modifier l'expression des gènes. Les interactions et les boucles de rétroaction sont donc des facteurs incontournables de l'état souche et, plus généralement, de tous les états cellulaires.

Au sein de cette 'conception systémique' de l'*état*, la propriété souche apparaît essentiellement comme une fonction maintenue par le système. A chaque instant, un certain nombre de cellules sont à l'état souche. Ce faisant, elles participent à la fonction générale du système en le rendant « capable d'atteindre une taille contrôlée, de maintenir son homéostasie et de se régénérer quand cela est nécessaire »⁷⁰⁸. Cette attribution de fonction n'est toutefois pas spécifique, en elle-même, à la 'conception systémique' de l'alternative de l'*état*. En effet, dans toutes les conceptions de la propriété souche, que ce soit la 'conception catégorique', la 'conception dispositionnelle' ou la 'conception relationnelle-extrinsèque', la propriété souche est une fonction qui permet à un système de se développer, de maintenir son homéostasie et de se régénérer, le cas échéant. Cette

⁷⁰⁵ Waddington CH (1957). *The strategy of the genes*. London: Taylor & Francis.

Sur le rapport entre Conrad Waddington, la biologie des systèmes et la biologie des cellules souches, voir Fagan M (2012) « Waddington redux: models and explanation in stem cell and systems biology » *Biology & Philosophy* 27(2): 179-213.

⁷⁰⁶ Zhou Q, Melton DA (2008) « Extreme makeover: converting one cell into another ». *Cell Stem Cell* 3:382-388 ; Yamanaka S (2009) « Elite and stochastic models for induced pluripotent stem cell generation ». *Nature* 460: 49-52 ; Hochedlinger K and Plath K (2009) « Epigenetic reprogramming and induced pluripotency » *Development* 136(4): 509-523.

Voir Fagan M (2012) « Waddington redux: models and explanation in stem cell and systems biology » *Biology & Philosophy* 27(2): 179-213, en particulier la note 23.

⁷⁰⁷ « Stem cell biologists interpret the model's 'units of stability' as cell states rather than pathways, such that the rolling ball represents a cell passing through different states in a process of differentiation. » Fagan M (2012) « Waddington redux: models and explanation in stem cell and systems biology » *Biology & Philosophy* 27(2): 179-213, ici p. 201.

⁷⁰⁸ Lander AD (2009) « The 'stem cell' concept: is it holding us back? » *Journal of Biology* 8(8): 70.

Voir aussi, à propos de la biologie des systèmes à ce sujet : Wolkenhauer O (2001) « Systems biology: the reincarnation of systems theory applied in biology? » *Brief Bioinform* 2(3): 258-270.

ambiguïté se voit d'ailleurs dès que l'on se penche sur la notion de fonction, et induit la nécessité de bien préciser ce que l'on entend par 'propriété systémique'.

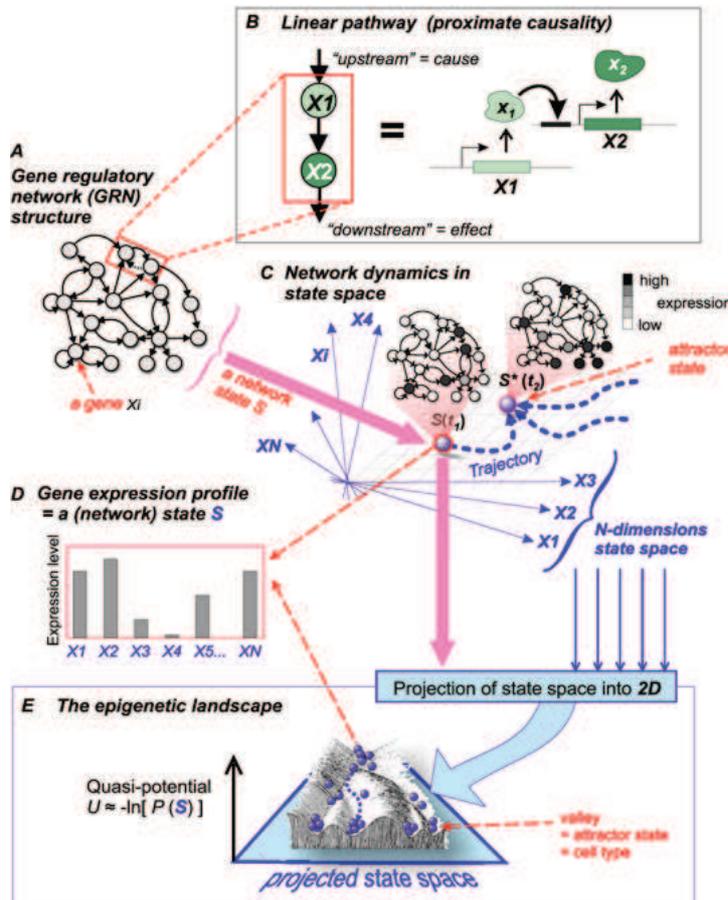


Figure 64. Conception systémique de la propriété souche, d'après Sui Huang (2011)⁷⁰⁹. Légende d'origine : « aperçu schématisé du cadre conceptuel. Cartographie du raisonnement de régulation génétique de N gènes, dont l'architecture est exposée en (A), à travers des dynamiques de raisonnement des états dans un espace à N dimensions (C) au sein duquel chaque point représente un état défini par son profil d'expression des gènes (D) dans un paysage quasi-potentiel (E). Le paysage a donc une fondation formelle et correspond au paysage épigénétique de Waddington (la version de 1957 est utilisée ici de manière symbolique). L'encart (B) présente une interaction unique avec un gène régulateur extraite du network qui représente une cause proche dans la vision réductionniste de la biologie moléculaire ».

La notion de fonction dispose aujourd'hui de deux définitions distinctes. Selon la définition étimologique, attribuer une fonction à une entité revient à expliquer la présence du trait concerné par un avantage sélectif, qui lui aurait permis d'être sélectionné par le passé. Ainsi, selon la conception étimologique de la fonction, dire que la fonction du cœur est de battre, c'est expliquer la présence du cœur (et ses battements) par l'histoire évolutive qui a mené à la sélection de ce trait. Au contraire, la définition systémique des fonctions ne fait pas appel à l'histoire, mais rend compte des fonctions par leur contribution à l'explication des capacités d'un système dont elles font partie. Ainsi, selon la conception systémique des

⁷⁰⁹ Huang S (2011) « On the intrinsic inevitability of cancer: from foetal to fatal attraction ». *Semin Cancer Biol* 21(3): 183-199, (ici, Figure 1, p. 184). « Schematic overview of the conceptual framework. Mapping of the gene regulatory network of N genes, whose architecture is shown in (A), via network dynamics in the N-dimensional state space (C) in which each point is a state defined by its gene expression profile (D), into a quasi-potential landscape (E). The landscape has thus a formal foundation and corresponds to Waddington's Epigenetic landscape (the 1957 version is used here symbolically). Inset (B) shows a single gene regulatory interaction extracted from the network representing a proximate causation in the reductionist view of molecular biology ».

fonctions, dire que la fonction du cœur est de battre, c'est dire que si le sang circule, c'est, entre autre, en vertu du fait que le cœur bat⁷¹⁰. Il est clair, par ce qui est indiqué ci-dessus, que lorsque l'on parle de la fonction « souche », on adopte une définition systémique des fonctions. Pour autant, la théorie systémique des fonctions, telle qu'elle a été élaborée par Robert Cummins, pose deux difficultés. Premièrement, elle n'est pas spécifique de la 'conception systémique' de la propriété souche. Deuxièmement, elle perçoit, dans l'attribution d'une fonction, l'attribution d'une disposition.

L'attribution des fonctions doit répondre à la définition suivante, selon Robert Cummins :

x fonctionne comme un ϕ dans s (ou : la fonction de x dans s est de faire ϕ) par rapport à une explication analytique A de la capacité de s à faire ψ seulement dans le cas où x est capable de ϕ -er dans s et que pour offrir une explication adéquate et appropriée de la capacité de s à faire ψ , A fait appel, en partie, à la capacité de x à faire ϕ dans s ⁷¹¹.

Traduite pour la propriété souche dans les cellules souches cancéreuses, la notion systémique de fonction indique que : pour attribuer la fonction souche (ϕ) aux cellules souches cancéreuses (x) dans le cancer (s), il faut que cette fonction soit attribuée relativement à une explication A portant sur la capacité du système (ici, la capacité du cancer) à faire quelque chose ψ , par exemple se développer, se maintenir et se propager. On peut dire de la propriété souche (auto-renouvellement et différenciation, ϕ) des CSC (x) qu'elle est leur fonction dans le cancer (s) parce que l'explication de la capacité du cancer (s) à se développer, se maintenir et se propager (ψ), produite par la théorie des CSC (A), fait appel à la capacité des CSC (x) à s'auto-renouveler et se différencier (ϕ) dans les cancers (s). Cette définition s'applique à toutes les conceptions de la propriété souche. Que celle-ci soit considérée comme une 'propriété catégorique', 'dispositionnelle', 'relationnelle-extrinsèque'

⁷¹⁰ Sur la définition étiologique des fonctions, voir les travaux de Larry Wright, notamment : Wright L (1973) « Functions » *Philosophical Review* 82(2): 139-168. Dans la même perspective, on peut également citer l'article de Karen Neander qui propose de définir la fonction comme un effet sélectionné. Neander K (1991) « The Teleological Notion of Function » *Australian Journal of Philosophy* 69: 454-468.

Sur la définition systémique des fonctions, voir les travaux de Robert Cummins, notamment : Cummins R (1975) « Functional Analysis » *The Journal of Philosophy* 72(20): 741-765.

Sur les débats autour de la notion de fonction, voir l'analyse de Jean Gayon : Gayon J (2006) « Les biologistes ont-ils besoin du concept de fonction ? Perspective philosophique » *Comptes Rendus Palevol* 5(3-4): 479-487 ; ou encore l'ouvrage collectif : de Ricqlès A et Gayon J (eds)(2010) *Les fonctions : des organismes aux artefacts*. Paris : PUF.

⁷¹¹ « x functions as a ϕ in s (or: the function of x in s is to ϕ) relative to an analytical account A of s 's capacity to ψ just in case x is capable of ϕ -ing in s and A appropriately and adequately accounts for s 's capacity to ψ by, in part, appealing to the capacity of x to ϕ in s . » Cummins R (1975) « Functional Analysis » *The Journal of Philosophy* 72(20): 741-765, ici p. 762.

ou 'système', la théorie des CSC explique la capacité des cancers à se développer en faisant appel à la propriété souche des CSC. Par conséquent, ce qui caractérise la 'conception systémique' de la propriété souche ce n'est pas l'attribution d'une 'fonction systémique' au sens de Robert Cummins.

Pire encore, telle qu'elle a été énoncée par Robert Cummins, la définition systémique des fonctions engage plutôt une 'conception dispositionnelle' de la propriété souche. En effet, pour Robert Cummins, l'attribution d'une fonction revient à attribuer une disposition :

Une proposition attribuant une fonction implique une proposition attribuant une disposition ; attribuer une fonction à quelque chose revient, en partie, à lui attribuer une disposition. Si la fonction de x dans s à faire ϕ , alors x a une disposition à faire ϕ dans s .⁷¹²

Cette double attribution semble rendre incompatible la définition systémique des fonctions et la 'conception systémique' de la propriété souche. Cependant, cette contradiction peut être aisément surmontée. D'une part, elle provient du fait que les exemples utilisés font toujours références à des entités stables, fixes et difficilement substituables. Les exemples classiquement utilisés pour fonder la conception systémique des fonctions, tels que les vacuoles contractiles des protozoaires d'eau douce ou le cœur des vertébrés, se prêtent mal à la distinction entre attribution d'une fonction et attribution d'une disposition. Mais rien ne semble justifier cette double implication. Ainsi, une conception systémique non-dispositionnelle des fonctions est tout à fait envisageable. D'autre part, l'attribution d'une disposition consiste, pour Robert Cummins, à affirmer une régularité semblable à une loi.

Attribuer une disposition d à un objet a , c'est affirmer que le comportement de a est sujet à (exhibe ou exhiberait) une régularité semblable à une loi⁷¹³.

Or, si c'est cette condition que Robert Cummins entend remplir par l'attribution d'une disposition, alors la 'conception systémique' de la propriété souche répond à sa définition systémique des fonctions. En effet, l'attribution de régularités n'est pas brisée par la conception non-dispositionnelle de la fonction souche dans la 'conception systémique'. La fonction souche attribuée aux CSC et, par conséquent, le comportement des CSC, est

⁷¹² « Thus, function-ascribing statements imply disposition statements; to attribute a function to something is, in part, to attribute a disposition to it. If the function of x in s to ϕ , then x has a disposition to ϕ in s . » Cummins R (1975) « Functional Analysis » *The Journal of Philosophy* 72(20): 741-765, ici p. 758.

⁷¹³ « To attribute a disposition d to an object a is to assert that the behavior of a is subject to (exhibits or would exhibit) a certain lawlike regularity ». Cummins R (1975) « Functional Analysis » *The Journal of Philosophy* 72(20): 741-765, ici p. 758

stable, tout à fait sujette à une régularité semblable à une loi. Simplement, les entités qui incarnent les CSC sont substituables.

Autrement dit, la ‘conception systémique’ de la propriété souche fait appel à une ‘conception systémique non-dispositionnelle’ des fonctions. Elle consiste à considérer que la propriété souche est la fonction des cellules qui incarnent les CSC, à un temps t , dans un cancer donné. Ce que Melinda Fagan décrit comme ceci :

Le développement cellulaire est conçu comme un continuum, au sein duquel différentes positions correspondent à différents rôles fonctionnels que la cellule peut occuper. Les cellules occupent des rôles fonctionnels en vertu des états particuliers dans lesquels elles sont⁷¹⁴.

Pour bien comprendre en quoi consiste l’attribution d’une fonction systémique non-dispositionnelle et en quoi celle-ci se distingue de la ‘conception catégorique’ et de la ‘conception dispositionnelle’, je propose de développer une métaphore, à titre d’exemple.

Dans un sport collectif comme le football, il existe des « positions » (ou « postes »), auxquelles sont attribuées des fonctions⁷¹⁵. Par exemple, le gardien de but a pour fonction principale d’empêcher le ballon de franchir la ligne du but. L’entraîneur décide d’un dispositif tactique qui détermine un système de jeu au sein duquel chaque position est assortie d’une fonction spécifique. L’explication des capacités propres au système de jeu adopté par une équipe fait appel aux activités propres à chaque poste (si les postes ne sont pas respectés, le système de jeu sera clairement dysfonctionnel). De ce fait, la définition de Robert Cummins permet de dire que la fonction du meneur de jeu dans un système en 4-4-2 est d’organiser le jeu en phase offensive. Toutefois, dans le cas du football, l’attribution d’une fonction, comme celle d’organiser le jeu ou d’empêcher le ballon d’entrer dans les buts, n’est pas une attribution de disposition. Deux arguments permettent d’établir cette distinction entre attribution de fonctions et attribution de dispositions. Premièrement, si disposition il y a, elle est attribuée à l’entité théorique « meneur de jeu » mais pas à l’entité concrète à laquelle on attribue la réalisation de la fonction (le joueur sélectionné). En effet, un joueur peut être amené à changer de poste et donc de fonction, au cours d’un match ou au cours de sa carrière. Par exemple, Stéphanie Mugneret-Béghé était meneur de jeu quand elle jouait en équipe de France féminine, puis elle était libéro ou milieu défensif quand elle jouait à l’ES 16. Sa fonction a changé, mais pas ses dispositions intrinsèques. Deuxièmement, la fonction peut être successivement attribuée à différents joueurs (au

⁷¹⁴ Voir note 667.

⁷¹⁵ voir par exemple : http://www.zanzisport.com/spip/article.php3?id_article=871 (09/05/2013).

cours d'un match ou, plus généralement, au cours du temps). A la différence du cœur, qui est l'unique objet (de l'organisme) susceptible d'exercer sa fonction dans un organisme donné, les joueurs sont substituables et interchangeable dans une équipe. Ainsi, c'est Gaétane Thiney et Camille Abily qui prennent aujourd'hui, tour à tour, la fonction de meneur de jeu dans l'équipe de France féminine. En résumé, dans un système donné, l'attribution de fonctions n'est pas nécessairement tributaire d'une attribution de dispositions.

Cet exemple illustre à la fois ce que j'entends par 'propriété systémique' et par fonction systémique non-dispositionnelle. Deux caractéristiques émergent :

- 1) La réversibilité, du point de vu des entités : les joueuses sont substituables les une aux autres dans l'exercice de la fonction systémique non-dispositionnelle.
- 2) La robustesse, ou l'apparence de loi, du point de vue de la fonction : il y a toujours onze joueurs/joueuses, occupant onze fonctions déterminées, dans une équipe de foot. Autrement, le système est plus ou moins dysfonctionnel.

Pour les cellules souches et, par inclusion, les cellules souches cancéreuses, la conception de la propriété souche que je tente de saisir conçoit cette propriété comme une fonction, au sein d'un système, qui est imputable à toute cellule qui occupe cette fonction au sein du système. Pour les cancers, cela consisterait à dire qu'il y a, à tout instant t , un stock de CSC au sein d'un cancer donné, mais que les cellules qui constituent ce stock sont susceptibles de n'être pas les mêmes aux temps t_1 et t_2 .

La 'conception systémique' de la propriété souche a des conséquences plus problématiques en matière de stratégies thérapeutiques contre les cancers. Ni la stratégie de ciblage des CSC, ni celle de ciblage de la niche, ne peuvent assurer la guérison. L'hétérogénéité des facteurs potentiellement impliqués dans l'induction de la propriété souche et le manque de données et de connaissances à leur sujet amplifient la difficulté. Des deux types de facteurs potentiellement impliqués, seules les régulations à l'échelle populationnelle peuvent faire l'objet d'une intervention thérapeutique. Le manque de connaissance rend cette option thérapeutique très théorique. Néanmoins, il pourrait être possible, comme dans le cas de l'hypothèse de la niche d'imaginer des interventions au niveau des récepteurs cellulaires. Bloquer certains récepteurs clés pourrait permettre de rompre l'induction de la propriété souche par les facteurs extrinsèques. Mais l'efficacité d'une telle stratégie thérapeutique serait relative à la possibilité de l'induction de la propriété

souche par des phénomènes stochastiques intrinsèques et à la probabilité que de telles dédifférenciations se produisent dans les cancers. Plus cette probabilité est élevée, moins une stratégie thérapeutique bloquant les facteurs extrinsèque serait efficace. Cette conception de la propriété souche méritent bien plus de recherches qu'il n'en existe à l'heure actuelle. Si la propriété souche s'avérait être une propriété systémique relative à des facteurs intrinsèques et extrinsèque, les options thérapeutiques nécessiteront un effort conséquent en faveur du développement de la recherche en biologie des systèmes appliquée aux cellules souches cancéreuses⁷¹⁶.

En contrepartie, une meilleure compréhension des différents états cellulaires possibles pourrait faire émerger d'autres stratégies thérapeutiques. En effet, le problème général de la dédifférenciation dans le traitement des cancers est directement lié à la probabilité qu'un tel événement se produise. Or, s'il existe des états attracteurs, il est possible que certains soient beaucoup moins aisément réversibles que d'autres. A titre d'exemple, on peut prendre les globules rouges : ayant perdu leur noyau, ces cellules ne peuvent pas retourner à l'état souche. De même, il est possible que certaines spécialisations cellulaires impliquent des états chromatiques difficilement réversibles. Si l'on reprend l'exemple du football, Stéphanie Mugneret-Béghé a joué à différents postes, comme milieu offensif, milieu défensif ou encore libéro, mais elle n'a jamais joué gardienne de but. Il y a une bonne raison pour cela : une carrière de joueuse de champ en équipe de France ne vaut pas quelques saisons d'entraînement au but dans un club amateur. Les cellules, comme les joueuses de foot, portent une histoire qui peut mériter d'être prise en compte. La biologie des systèmes devrait permettre de rendre compte de phénomènes. Si l'on en croit les travaux de Sui Huang, la probabilité de la dédifférenciation devrait être négativement corrélée au stade de différenciation : plus une cellule est loin de l'attracteur souche moins elle a de chance de parvenir à cet état cellulaire. Si ceci est correcte, alors une stratégie thérapeutique différenciative pourrait avoir de meilleurs résultats qu'une stratégie ciblant les relations.

⁷¹⁶ A l'heure actuelle, ces recherches sont rarissimes et consistent, pour l'essentiel, en du profilage moléculaire des CSC. Voir la revue de littérature : Price ND, Foltz G, Madan A, Hood L and Tian Q (2008) « Systems biology and cancer stem cells » *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 12(1): 97-110 et Azmi AS, Mohammad RM, Banerjee S, Wang Z, Bao B and Sarkar FH (2011) « Systems and Network Understanding of Cancer Stem Cells ». Chapter 7, pp. 135-146. In Shostak S (ed) *Cancer Stem Cells – The Cutting Edge*. Croatie: InTech. Le second étant souvent un plagiat mot-pour-mot du premier, bien qu'aucune référence ne soit faite à l'article de Price *et al.*

8.6. Conclusion

L'alternative de l'état, dans la mesure où elle est caractérisée par la réversibilité et l'aspect transitoire de la propriété souche, remet en question la stratégie thérapeutique anti-CSC proposée par la théorie des CSC. Selon cette stratégie, éliminer toutes les CSC serait nécessaire et suffisant à l'élimination définitive d'un cancer donné. Ce chapitre a montré que cela est faux si le concept de cellule souche fait référence à un *état* et non à une *entité*. En effet, si cette alternative est correcte, l'élimination des CSC est une condition nécessaire mais non-suffisante au traitement des cancers. Après élimination de *toutes* les CSC d'un cancer donné, n'importe quelle cellule cancéreuse non-souche est susceptible de redevenir une CSC et donc d'initier une rechute. Si la dédifférenciation est véritablement un phénomène plausible dans les cancers, alors soit *toutes* les cellules cancéreuses doivent être éliminées (y compris les CSC), soit la dédifférenciation doit être bloquée et les CSC éliminées.

Les données en faveur de l'alternative de l'état semblent indiquer que deux conceptions de la propriété souches devraient être distinguées. Soit la propriété souche est spécifiquement induite par la niche et c'est une 'propriété relationnelle-extrinsèque', soit d'autres mécanismes intrinsèques et extrinsèques peuvent intervenir au niveau de la population des cellules cancéreuses et la propriété souche est une 'propriété systémique'. Ces deux conceptions ne sont pas nécessairement exclusives. Les deux types d'induction de la propriété souche peuvent avoir lieu dans un même cancers ou dans différents cancers. Il est possible que la niche ait un rôle déterminant dans certains cancers et pas dans d'autres. Toutefois, déterminer les facteurs à l'œuvre dans chaque type de cancer est de la plus grande importance car différentes stratégies thérapeutiques peuvent être envisagées en fonction de cette connaissance. Si la propriété souche est une 'propriété induite par la niche', alors une stratégie thérapeutique ciblant la niche (c'est-à-dire les interactions niche-cellule) pourrait assurer la guérison des patients. Si la propriété souche est une propriété systémique, une stratégie thérapeutique de ciblage des relations ne permettra de guérir les patients que si la dédifférenciation ne peut pas être produite par des phénomènes stochastiques intrinsèques (ou si elle a de très faible chance d'être ainsi produite). En revanche, la conception systémique attire l'attention sur la possibilité de développer des stratégies thérapeutiques différenciatives.

8.7. *English summary*

The previous chapter has presented two different notions of stemness as referring to an *entity*. Some biologists consider that stemness is a categorical property while others consider it as a disposition. Both conceptions agree on the idea that the elimination of CSCs is necessary and sufficient to cure cancers. This chapter will show that the alternative view of stemness as referring to a *state* leads to quite different therapeutic strategies. I argue that if ‘stem cell’ refers to a ‘cell state’ then targeting the CSCs is not sufficient to cure cancers.

In the same way as in the case of the *entity* alternative, the *state* alternative also encompasses various conceptions of stemness. Although few empirical data are available to support this view, I will suggest, as a basis for future investigations, that at least two conceptions of stemness could be distinguished. Stemness can be induced either by the niche or independently of any specific niche. In the former case, which makes the strongest interpretation of the stem cell niche hypothesis, stemness is considered as a ‘extrinsic-relational property’. In the latter case, stemness is to be considered as a ‘system’ or ‘population’ property.

Experimental data indicating that dedifferentiation is possible has led some biologists to question the general assumption that the concept of stem cell refers to entities (see chapter 6). The possibility of dedifferentiation supports the view of ‘stem cell’ as a cell *state*. The stem cell biologist Dov Zipori first framed the general alternative between *entity* and *state*. Since, Melinda Fagan devoted one chapter of her 2013 book *Philosophy of Stem Cell Biology* to this alternative. She gives a useful description of the *state* view:

First, the stem state is *transient*, a “pause” in the process of cell differentiation. In leaving it, a cell “chooses” one of many possible developmental pathways. This choice is, of course, not a conscious decision, but determined by a combination of internal and external factors, or “signals,” impinging on the cell. Second, such choices are, in principle, *reversible*. Just as cells can be induced by signals to leave a stem state, so can they be induced to enter such a state. More generally, the ‘topology’ of developmental pathways is determined by the probability that a cell transitions from an initial state to other states. Cell development is conceived as a continuum, different positions on which correspond to different functional roles that cells can occupy. Cells occupy functional roles in virtue of being in particular states. Every cell in a multicellular organism has some probability of assuming each state, including the stem state. In general, this probability declines as cells differentiate, but there is no sharp boundary or, in

principle, barrier to stem cell function. Stem cells are just all and only those cells occupying states with the option of many different developmental pathways (see note 667).

She adds other features to her description, but those are specific to Dov Zipori, whereas the general *state* alternative has other proponents. Thus, two properties characterize the general *state* view: the stem state is “transient” and “reversible”. This view has a tremendous impact on the CSCs-targeting therapeutic strategy suggested by the proponents of the CSC theory. Indeed, if cancer non-stem cells can dedifferentiate and shift to the stem state, then, after the elimination of all the CSCs of a given cancer, any cancer non-stem cell can become a new CSC at any time (see Figure 57). Accordingly, if stem cell is a cell state then targeting the CSCs is necessary but not sufficient in order to cure cancer. Two questions follow:

- (1) Is dedifferentiation exceptional or does it represent an important risk of relapse after elimination of the CSCs of a given cancers?
- (2) Are there any other options to cure cancers if dedifferentiation is highly plausible?

The first clear occurrence of the *state* alternative in cancer dates back to 2006. Janus Rak ventured the hypothesis that, in cancers, stemness could be considered as a reversible and transient state (see note 670). He also argued that stemness should be attributed to interactions involving multiple cancer and stromal cells (see Figure 58). This hypothesis has been supported by Robert Weinberg group's and Jean Paul Medema group's more recent results.

Weinberg's group, at MIT, has identified a subpopulation of mammary epithelial basal cells in human capable of spontaneous dedifferentiation. They demonstrated that the probability of such a dedifferentiation increased in breast cancers (see note 673). Furthermore, they noticed that epithelial-mesenchymal transitions can also induce dedifferentiation in normal and cancerous tissues (see note 675). These data were corroborated by Alain Puisieux's group in Lyons, who generated CSCs from epithelial mammary cell through induction of epithelial-mesenchymal transitions (see note 676).

Medema's group in Amsterdam showed that in colorectal cancers, cancer non-stem cells could dedifferentiate and become CSCs through HGF produced by the myofibroblastes constituting the CSCs niche (see note 678 and Figure 59). They thus developed what they called a “dynamic CSC model” (see Figure 60).

Furthermore, Eric Lander's group at MIT conducted an *in vitro* experiment on the dynamic equilibrium of breast cancer cell subpopulation that shown return to equilibrium implicating stochastic phenomenon of dedifferentiation (see note 681 and Figure 61 A). On the basis of this result Eric Lander proposed an alternative model of cancer development, where "bidirectional interconversions" are possible and predictable between the stem state and other non-stem states (see Figure 61 B).

Thomas Tüting's group (Bonn University) also reported puzzling results concerning melanoma resistance to adoptive cell transfer therapies. They suggested that the resistance would be due to reversible phenomena of dedifferentiation of some melanoma cells. This dedifferentiation would be induced by the inflammatory microenvironment produced by the therapy (see note 683).

In addition, the debate over the origin of CSCs in stem cells or non-stem cells led to the conclusion that, at least in some cases, the CSCs could originate from non-stem cells (see chapter 6). This means that in the context of cancers, non-stem cells can give rise to stem cells. In connection with this result, three biologists, Ulf Rapp, Fatih Ceteci and Ralf Schreck suggested that CSCs might be the passengers rather than the drivers of carcinogenesis. They argue that oncogenes induce plasticity, which could result in the acquisition of stemness by some cancer cells (see note 685 and Figure 62). Researches conducted by Marie-Pierre Junier's and Hervé Chneiweiss's group converge to support a possible dedifferentiation through cancer development. Their results on brain cancers show a correlation between stemness property and tumor stage: some tumor could apparently develop without CSC, whereas the progression of other tumors could induce the apparition of CSCs (see note 686). They had previously showed that TGF α growth factor, which frequency can be high in gliomas, and induce dedifferentiation of astrocytes (see note 688).

Together, all these data provide a sound basis to the view of dedifferentiation as a highly plausible phenomenon in (at least some) cancers. Thus it could seriously limit the efficiency and efficacy of CSC-targeting therapies. If these results were to be confirmed and generalized, then which therapeutic options would be left, under the CSC theory framework?

If the eradication of CSCs is necessary but not sufficient to cure cancer, the first option that comes in mind is to develop CSCs-targeting therapies as adjuvant therapies. This solution, however, raises a number of difficulties. First, any cancer cell that would

escape the therapy could lead to a relapse, if it acquires stemness. Second, the cost of such double therapies could be extremely high, too high for the maintenance of health systems. The cost of therapies becomes a major concern. For instance, in a recent article on the cost of smart drugs, Tito Fojo and Christine Grady report that the anti-angiogenic bevacizumab (Avastin) costs around 8000\$ per month per patient. For a patient with colorectal cancer, the average survival being 18 months, the cost of a bevacizumab treatment is around 144000\$, for an average increase of survival of 4 months. Cost of the treatment for the organism is also obviously important: risk of gastro-intestinal perforation, severe bleeding, severe arterial hypertension, blood clots, and delayed wound healing (see note 689).

An alternative therapeutic option, based on the hypothesis of the stem cell niche, could be the disruption of the relations between the niche and the stem cell. All proponents of the weak and strong versions of this hypothesis agree that niche determines the ability of CSCs to initiate, develop and propagate cancers. Accordingly, eliminating the niche stimuli could induce the differentiation of CSCs, and could also avoid dedifferentiation of cancer non-stem cells. Jan Paul Medema and Louis Vermeulen suggest some solutions for that kind of therapeutic strategies (see Figure 63).

The problem of this solution is that disrupting the stem cell-niche relation represents a plausible cure only if dedifferentiation is dependent on the niche action. But some of the data mentioned above (Gupta *et al*) indicate that dedifferentiation might also occur independently of any specific stem cell-niche interaction.

In Piush Gupta's view, *state* transitions (including dedifferentiation), might happen independently of the action of any stem cell niche. Robert Weinberg also supports the stochastic interpretation of Gupta *et al.*, arguing that both kind of dedifferentiation can happen.

This leads to question the unity of the *state* view. Because of the implication of the alternative between niche-dependent and niche-independent dedifferentiation for therapies, it might be useful to distinguish them. I consequently suggest a distinction between stemness as a niche-induced property, or 'extrinsic relational property' and stemness as a 'system property'.

If niche is necessary to the acquisition of stemness, then the niche-targeting therapeutic strategy is a plausible alternative. But what kind of property is stemness if it is a 'niche-induced property'? In metaphysical terms it can be defined as a 'extrinsic relational property'. Extrinsic properties and relational properties are often considered as equivalent,

but Lloyd Humberstone argues that the equivalence is misleading. In the case of stemness the distinction matters because the notion of relational property would not make any difference between the stemness property in the weak version of the niche hypothesis (*entity* view) and in the stemness property in the strong interpretation of the niche hypothesis (*state* view). In this regard, David Lewis argument of the duplicates be useful.

The intrinsic properties of something depend only on that thing; whereas the extrinsic properties of something may depend, wholly or partly, on something else. If something has an intrinsic property, then so does any perfect duplicate of that thing; whereas duplicates situated in different surroundings will differ in their extrinsic properties (see note 698).

If one agrees with this distinction, then stemness is an intrinsic property in the weak version of the niche hypothesis and an extrinsic property in the strong version of this hypothesis. Indeed, in the weak version, any duplicate a' of a stem cell a has the disposition to express stemness *if* it would meet the appropriate stimuli. But, whether they meet or not such stimuli, a and a' are considered as stem cells. Contrariwise, in the strong version of the niche hypothesis, duplicate b' of a cell b , localized in a niche n and expressing stemness at time t , will not express stemness if it is not localized in a niche n' . Conversely, duplicate c' of a non-stem cell c could express stemness if it were located in an appropriated niche. Thus, in the weak version of the niche hypothesis (stemness as a disposition), if a is a stem cell then a' is also a stem cell; whereas in the strong version b can be a stem cell and b' a non-stem cell.

Gender in Melanesia offers a good example of ‘extrinsic relational property’. According to Marilyn Strathern research, in Melanesia, gender is a property attributed by gift relation. A gift attribute “femininity” and “masculinity” to the giver and the recipient, respectively. Gender does not depend on any intrinsic property but only on extrinsic relationships. It is a mobile and reversible property. Similarly, characterizing stemness as an ‘extrinsic relational property’ suggests that the particular niche-cell relations determine the stem state.

However, I am not entirely satisfied by this characterization of stemness as a ‘extrinsic relational property’. It has the advantage to make intelligible the fact that the rupture of the cell-niche relationship determines the loss of stemness. It provides a possible target for therapeutic strategies against cancers. But it has the inconvenience of not accounting for the functional aspect of the stemness property. Unlike extrinsic relational properties such as “being fifty miles south of a burning barn” (see note 701), the notion of stemness involves specific performances. Thus an adequate metaphysical description of the

niche-induced conception of stemness should both account for the relational aspect of stemness and for its functional aspects, that is, for the fact that possessing stemness allows a cell to act in certain ways (i.e. to self-renew and to differentiate).

If stemness can be acquired independently from any niche, as suggested by Eric Lander's experiments, then what kind of property is stemness? Two difficulties follow. First, we lack empirical data to support the *state* hypothesis. Second, the factors inducing dedifferentiation seem quite heterogeneous. Two kinds of factors can be distinguished: stochastic events affecting gene expression, and cell-population level regulations. Although they are not mutually exclusive, it remains to the respective probability of the various kinds of dedifferentiation, in cancers.

The conception of cell states developed in system biology, in particular as developed by Sui Huang, from the *Institute for Systems Biology* (Seattle, Washington), is different from the three previous ones in that it accounts for stemness at a system level, rather than at the single cell (or niche-cell) level. The system boundaries are still unclear. For Eric Lander, the "relevant system [is], at minimum, a cell lineage, and more likely a lineage plus an environment" (see note 694). For Sui Huang, the system should embrace any "gene-regulatory interactions", including "noise" due to random fluctuations in gene expression, and "perturbations". He uses Conrad Waddington landscape to represent cell states, with some differences highlighted by Melinda Fagan:

Stem cell biologists interpret the model's 'units of stability' as cell states rather than pathways, such that the rolling ball represents a cell passing through different states in a process of differentiation (see note 707).

Some cell states are stable (valleys figures "attractors") and others are unstable (hills figures "repellers") (see Figure 64). The interactions experienced by a cell determine its state at time *t*. This state is explained by internal and external stimuli that modify genes expression. Thus interactions and feedback loops are key factors that determine the stem state.

In this 'system conception' of the *state* hypothesis, stemness appears as a function maintained by the system. At any time, a certain amount of cells are in the stem state, so that the system can "achieve a controlled size, maintain itself homeostatically, and regenerate when necessary" (see note 694 and 708). But such an attribution of functions is not specific of the 'system conception'. In all conceptions of stemness, stemness is a function that allows a system to develop, maintain itself and regenerate. This is particularly true for the cancer stem cell theory. Whatever stemness is, this property allows the cancer

to develop, maintain and propagate. Accordingly, it is important to clarify the notion of function in the case of stem cells.

Two notions of function currently coexist. According to the etiologic definition, to attribute a function to an entity is to explain the presence of the concerned trait by some selective advantage. By contrast, the systemic definition of functions accounts for their contribution to the capacities of the system to which they belong. The ‘stemness function’ as described above is clearly a systemic function. However, applying the original systemic definition of function, as Robert Cummins formulated it, to the case of stem cells, raises two problems. First, it is not specific to the ‘system conception’ of stem cells. Second, it might even be interpreted as more specific to the ‘disposition conception’ of stem cells since the attribution of function is described as an attribution of disposition:

Function-ascribing statements imply disposition statements; to attribute a function to something is, in part, to attribute a disposition to it. If the function of x in s is ϕ , then x has a disposition to ϕ in s (see note 712).

However, I see no good reason for this co-attribution. I suspect that it is due to the particular examples used in Cummins’ discussion on functions. In a given organism, nothing else than the heart can perform its function. Beating appears as a disposition of the heart. But there is no contradiction in ascribing a function without attributing a disposition. This is exactly what happens in the ‘system conception’ I am trying to outline. In this conception, stemness is the function ascribed to CSCs in the cancer system. Stemness is a ‘non-dispositional systemic function’ because any cancer cell, at any time, is susceptible to acquire the function. Thus, what is specific to the ‘system conception’ of stem cells is that it endorses a non-dispositional definition of systemic functions. In this conception:

Cell development is conceived as a continuum, different positions on which correspond to different functional roles that cells can occupy. Cells occupy functional roles in virtue of being in particular states. Every cell in a multicellular organism has some probability of assuming each state, including the stem state. In general, this probability declines as cells differentiate, but there is no sharp boundary or, in principle, barrier to stem cell function. Stem cells are just all and only those cells occupying states with the option of many different developmental pathways (see note 667).

Let’s develop an example to make it clear. In team sports, like soccer, there are some field positions to which specific functions are ascribed by the coach who decides the tactics. The main function of the goalkeeper is to avoid the ball to cross the goal line. The coach chooses a tactical device in which each position has a specific function. However, the goalkeeper or midfielder functions are not dispositions. First, a player can change

positions, and thus functions, during the game or during her career. Stéphanie Mugneret-Béghé used to play midfielder in the French national team. Then she played sweeper for the ES16 Parisian team. Her function has changed, not her dispositions. Second, the same function can be successively performed by surrogate players in the course of the match. Now, Gaétane Thiney or Camille Abily plays midfielder instead of Stéphanie Mugneret-Béghé in the French team. This example illustrates what I mean by 'system property' and 'non-dispositional systemic function'. Two features are central:

- 1) Reversibility, from the entities standpoint: soccer players are interchangeable in the exercise of the 'non-dispositional systemic function' of the different field positions.
- 2) Robustness, from the function standpoint: in a soccer team, there are always eleven players occupying eleven determined functions, otherwise the system starts being dysfunctional.

Thus, in my view, for any stem cell, and, by inclusion, for cancer stem cells, stemness as a function, in a system, is imputable to any cell of the system at any time. For a given cancer, there is, at any time, a stock of CSCs. The cells that constitute this stock are variable from time t_1 to t_r .

This 'system conception' of stemness has problematic consequences for therapeutic strategies against cancers. Neither CSCs-targeting, nor niche-targeting can guarantee the success of the cure. The uncertain result is amplified by the heterogeneity of the factors involved in stemness acquisition and by the lack of data. Of the two types of factors potentially involved, only the population-level regulations can be targeted, and the lack of knowledge about such regulation makes such targeting therapy quite hypothetical. However, it should be possible, as in the case of the niche hypothesis, to intervene on some key molecular receptors, in order to prevent or inhibit the induction of stemness by extrinsic factors. Nevertheless the efficiency of such a therapeutic strategy would depend on the possibility of stemness induction by intrinsic stochastic events. In addition, the higher is the probability that dedifferentiation occurs in a stochastic way, the less efficient the therapy would be.

More research is needed to improve our knowledge of the cellular states and design plausible therapeutic strategies. Indeed, the dedifferentiation problem for cancer treatment is directly linked to the probability that dedifferentiation occurs. If the system view of attractor states is confirmed, some states might be less easily reversible than others. A red cell, for example, is definitely unable to turn back to the stem state. Other differentiation

states might also be highly stable and dedifferentiation might also be negatively correlated with differentiation. This is worth to be explored because, if true, then differentiative therapies might cure cancers.

Because of the reversibility and transiency that would characterize stemness in the *state* hypothesis, the conventional CSC-targeting strategy suggested by the CSC theory may be called into question. According to this strategy, eliminating all the CSC is necessary and sufficient to cure cancers. This chapter has shown that this is not true if ‘stem cell’ refers to a *state* rather than to an *entity*. Indeed, if stem cell refers to a cell *state*, then the eradication of all the CSCs is necessary but not sufficient to cure cancers. It is not sufficient because after elimination of all the CSCs, any cancer non-stem cell can still acquire stemness and, then, initiate a relapse. If dedifferentiation is a plausible event in cancers, then either all the cancer cells (including the CSCs) must be eliminated, or dedifferentiation must be blocked and CSCs eliminated.

The data currently available in favor of the *state* alternative indicate that two conceptions of the stemness property should be distinguished. Either stemness is specifically induced by the niche, and it is an ‘extrinsic relational property’, or it can be induced by some heterogeneous intrinsic and extrinsic mechanisms, at the population level, and it is a ‘system property’. The two conceptions are not necessarily mutually exclusive. They can both be used for describing the same cancer or different types of cancers. Niches may have an important role in some cancers and not in other ones. However, determining which factors are at stake in a given cancer is of major importance for optimal therapeutic strategies. If stemness is a ‘niche-induced property’, then niche-targeting therapies might cure cancers. If stemness is a ‘system property’, relation-targeting strategies could cure cancers only in the absence of any intrinsic stochastic dedifferentiation. The success of such a strategy would be conversely related to the probability of dedifferentiation by stochastic gene expression. On the other hand, the ‘system conception’ draws attention to the opportunities opened by differentiative therapies.

Conclusion générale

Dans ce travail, j'ai proposé un examen critique de la stratégie thérapeutique suggérée par la théorie des CSC. Selon cette théorie, l'élimination des CSC serait nécessaire et suffisante pour obtenir la guérison définitive des patients atteints de cancers. L'analyse conceptuelle et historique de la théorie des cellules souches cancéreuses permet toutefois de montrer que l'efficacité du ciblage des CSC est relative à l'ontologie de la propriété souche. Plus précisément, j'ai élaboré et soutenu les thèses suivantes :

1. La notion de cellule souche est fortement ambiguë pour plusieurs raisons :

1.1. Les notions de « cellule souche » et de « cellule souche cancéreuse » sont ambiguës quant à leur référent et à leur définition. Je suis arrivée à ce constat grâce à l'analyse historique de l'hypothèse centrale de la théorie des CSC, selon laquelle les cancers prennent leur origine dans des cellules souches.

1.2. La notion de cellule souche s'entend en deux sens : un sens métaphorique, selon lequel les cellules souches sont les cellules dont proviennent les autres cellules, et un sens technique, selon lequel les cellules souches sont les cellules capables de s'auto-renouveler et de se différencier. Contrairement aux analyses historiques qui distribuent ces sens sur des périodes distinctes, je soutiens que l'ambivalence de la notion de cellule souche est synchronique. Les sens métaphorique et technique sont constitutifs de la notion de cellule souche, cohabitent encore aujourd'hui.

1.3. L'ambiguïté de la notion de cellule souche porte sur la nature de la propriété souche plutôt que sur sa définition. C'est un résultat tout à fait original et inattendu de mes recherches. Mon hypothèse de départ était que la question qui devait être résolue était « qu'est-ce qu'une cellule souche ? », alors que ce travail de recherche, m'a conduit à déplacer la question vers la propriété souche. La question qui doit être résolue est en fait « quelle est la nature de la propriété souche ? »

2. Il existe, aujourd'hui, quatre conceptions de la propriété souche chez les biologistes des cellules souches. Les données actuelles ne permettent pas de trancher la question de la nature de la propriété souche mais montrent que le concept de cellule souche peut faire référence soit à des *entités*, soit à un *état* cellulaire, une distinction que l'on doit au biologiste Dov Zipori. Dans le premier cas, la notion de cellule souche désigne un « type » cellulaire

déterminé. Dans le second cas, la notion de cellule souche ne fait pas référence à un type cellulaire identifiable et permanent mais à un *état* cellulaire qui se distingue par sa réversibilité et son caractère transitoire. J'ai montré que la distinction entre *entité* et *état* n'est pas suffisante pour analyser la nature de la 'propriété souche'. Ainsi, j'ai pu montrer que :

2.1. Si la notion de cellule souche fait référence à des *entités*, alors la propriété souche est susceptible d'être soit une 'propriété catégorique', soit une 'propriété dispositionnelle'.

2.1.1. Par 'propriété catégorique', j'entends une propriété intrinsèque essentielle propre à l'espèce naturelle 'cellule souche'. Cela correspond à la conception la plus classique des cellules souches.

2.1.2. Par 'propriété dispositionnelle', j'entends une propriété dont l'expression dépend de stimuli extérieurs, plus précisément, de la niche. La propriété souche est alors également propre aux entités de l'espèce naturelle cellule souche. Toutefois, elle ne peut se réduire aux bases catégoriques sur lesquelles elle repose. Cela correspond à la version faible de l'hypothèse de la niche. Selon cette hypothèse, l'activité de la propriété souche est régulée par la niche dans laquelle réside la cellule souche.

2.2. Si la notion de cellule souche fait référence à un *état* cellulaire, alors l'induction de cet état peut dépendre ou non de la niche. Ainsi, la propriété souche peut être respectivement considérée soit comme une 'propriété relationnelle-extrinsèque', soit comme une 'propriété systémique'.

2.2.1. Par 'propriété relationnelle-extrinsèque', je tente de saisir la caractérisation de la propriété souche propre à la version forte de l'hypothèse de la niche. Selon cette interprétation de l'hypothèse de la niche, la propriété souche peut-être induite par la niche.

2.2.2. Par 'propriété systémique', j'entends que la propriété souche est la 'fonction systémique non-dispositionnelle' d'un système. La notion de système doit être précisée, en particulier concernant ses frontières. Pour la théorie des CSC, le système comprend au minimum toutes les cellules cancéreuses d'un cancer donné. L'idée principale de la 'conception systémique' est que la propriété souche est maintenue à l'échelle du système. A chaque instant, certaines cellules du système occupent l'état souche. Cela assure la fonctionnalité du système. Dans cette conception, les facteurs induisant l'état souche peuvent être de nature diverses, intrinsèques ou extrinsèques.

2.2.3 Les conceptions ‘relationnelle-extrinsèque’ et ‘systémique’ manquent cruciallement de données, ce qui empêche toute caractérisation précise. J’ai montré qu’elles nécessitent notamment un travail quantitatif. Il n’est pas suffisant de montrer le phénomène de dédifférenciation peut intervenir. Il faut obtenir des connaissances plus précises, d’une part, sur la probabilité qu’un tel phénomène se produise et, d’autre part, sur les probabilités propres aux différents facteurs.

3. Déterminer la nature de la propriété souche est d’une importance primordiale pour le traitement des cancers, si la théorie des CSC est vraie. Le Tableau 2 récapitule les différentes stratégies thérapeutiques plausibles en fonction de la nature de la propriété souche. Toutes partent du principe que l’élimination des CSC est au moins *nécessaire* à la guérison des cancers. La question de savoir si elle est en effet nécessaire dépendra de la validation de la théorie des CSC pour chaque type de cancer. Dans le cadre de la théorie des CSC, j’ai soutenu les thèses suivantes :

3.1. La stratégie thérapeutique de ciblage des CSC ne peut être dite nécessaire et *suffisante* que si la propriété souche est une ‘propriété catégorique’ ou ‘dispositionnelle’. S’il s’agit d’une ‘propriété relationnelle-extrinsèque’ ou ‘systémique’, alors, à tout instant, une cellule cancéreuse non-souche peut acquérir la propriété souche et initier une rechute. Le ciblage des CSC ne serait alors pas suffisant pour garantir la guérison (c’est-à-dire l’absence de rechute après un traitement apparemment efficace).

3.2. Si la propriété souche dépend de la niche, que ce soit une propriété ‘dispositionnelle’ (version faible de l’hypothèse de la niche) ou ‘relationnelle-extrinsèque’ (version forte de l’hypothèse de la niche), alors une autre stratégie thérapeutique possible est le ciblage des interactions niche-cellule. Une telle stratégie thérapeutique, toutefois, ne serait être efficace que si les interactions ciblées sont *nécessaires* à l’expression de la propriété souche.

3.3. Une seule stratégie thérapeutique peut s’appliquer quelle que soit la nature de la propriété souche : elle consiste à cumuler une thérapie ciblant les CSC et une thérapie classique ciblant le reste des cellules cancéreuses. C’est d’ailleurs la stratégie de ciblage des CSC qui est la plus souvent recommandée dans la littérature scientifique. Elle pose, cependant, un certain nombre de difficultés. Premièrement, le ciblage des CSC nécessite d’identifier des marqueurs qui sont à la fois surexprimés

dans *toutes* les CSC et sous-exprimés dans les cellules souches non-cancéreuses. Ce sont les obstacles propres à la stratégie thérapeutique anti-CSC. Deuxièmement, l'addition d'une stratégie anti-CSC à la thérapie classique soulève des questions de coût biologique (cumulation des effets secondaires pour le patients) et de coût financier pour les systèmes de santé.

3.4. Le développement des nanovecteurs et de la médecine vectorisée, dont l'objectif est le relargage du médicament sur le site de la tumeur, peut s'avérer substantiellement bénéfique pour les stratégies de ciblage des CSC. En effet, la difficulté empirique la plus importante, aujourd'hui, pour le développement de thérapie anti-CSC est d'éliminer les CSC tout en préservant les cellules souches non-cancéreuses. Le développement des nanovecteurs pourrait largement réduire cette difficulté. La vectorisation de la thérapie anti-CSC pourrait alors également aider à surmonter les problèmes de coût, pour l'organisme, des thérapies cumulées.

3.5. Il existe encore une stratégie thérapeutique, peu spécifique des CSC, qui serait susceptible d'être appliquée à la théorie des CSC, quelle que soit la nature de la propriété souche : les thérapies différenciatives. Induire la différenciation de toutes les cellules cancéreuses peu différenciées serait équivalent à une forme d'élimination des CSC. De ce fait, si la propriété souche est une propriété catégorique ou dispositionnelle, on peut attendre les mêmes résultats d'une thérapie induisant la différenciation des CSC que d'une thérapie éliminant les CSC. Elle pourrait donc être nécessaire et suffisante à la guérison du patient. La situation est moins claire s'il s'agit d'une 'propriété systémique' ou 'relationnelle-extrinsèque'. Cependant, on peut raisonnablement penser que certains stades de différenciation sont très difficilement réversibles, voire irréversibles. La stratégie thérapeutique différenciative ne pourrait pas, par principe, prédire la guérison du patient, mais elle pourrait suggérer une très faible probabilité de rechute.

Partant des constats que : (1) le ciblage des CSC est confronté à de nombreuses difficultés ; (2) on ignore si un tel ciblage est suffisant pour soigner les cancers ; (3) on manque cruellement de connaissance pour le ciblage des interactions avec la niche ; et (4) on ignore également si un tel ciblage serait suffisant pour guérir les cancers, la stratégie thérapeutique différenciative pourrait bien être la stratégie thérapeutique la plus raisonnable dans l'état actuel des connaissances.

	Thérapie anti-CSC	Thérapie combinée	Ciblage de la niche	Thérapie différenciative
Propriété catégorique	Oui	Oui	Non	Oui
Disposition	Oui	Oui	Oui	Oui
Propriété relationnelle extrinsèque	Non	Oui	Oui	Probablement
Propriété systémique	Non	Oui	Non	Probablement

Tableau 2. Nature de la propriété souche et stratégies thérapeutiques contre les cancers.

Ces thèses ont deux conséquences étonnantes. Premièrement, l'ensemble des prémisses de la théorie des CSC pourrait être vrai sans que le modèle de stratégie thérapeutique ne le soit. Cela est dû au fait que la question de l'ontologie des cellules souches n'est posée que sous deux formes : celle de l'existence des cellules souches cancéreuses et celle de leur définition. Les prémisses de la théorie postulent que les CSC existent et les définit par la propriété souche. Mon travail montre que cela n'est pas suffisant. En réalité, j'avais pris soin de mettre, parmi les prémisses, l'hypothèse de l'origine des cancers dans des cellules souches. Cette hypothèse peut permettre de rendre compte de l'alternative entre *entité* et *état*. En effet, si les CSC peuvent provenir de cellules non-souche, alors, dans les cancers au moins, l'acquisition de la propriété souche est possible. De ce fait, contrairement à ce que soutiennent souvent les partisans de la théorie des CSC, depuis 2006, cette théorie n'est pas indépendante de la question de l'origine des CSC, en particulier concernant son modèle thérapeutique. L'alternative entre *entité* et *état* n'étant pas suffisante, on peut conclure de mon travail, s'il est correcte, qu'une prémisses concernant la nature de la propriété souche devrait être ajoutée à (ou venir remplacer) celle de l'origine des CSC.

La théorie des CSC devrait alors prendre la forme suivante :

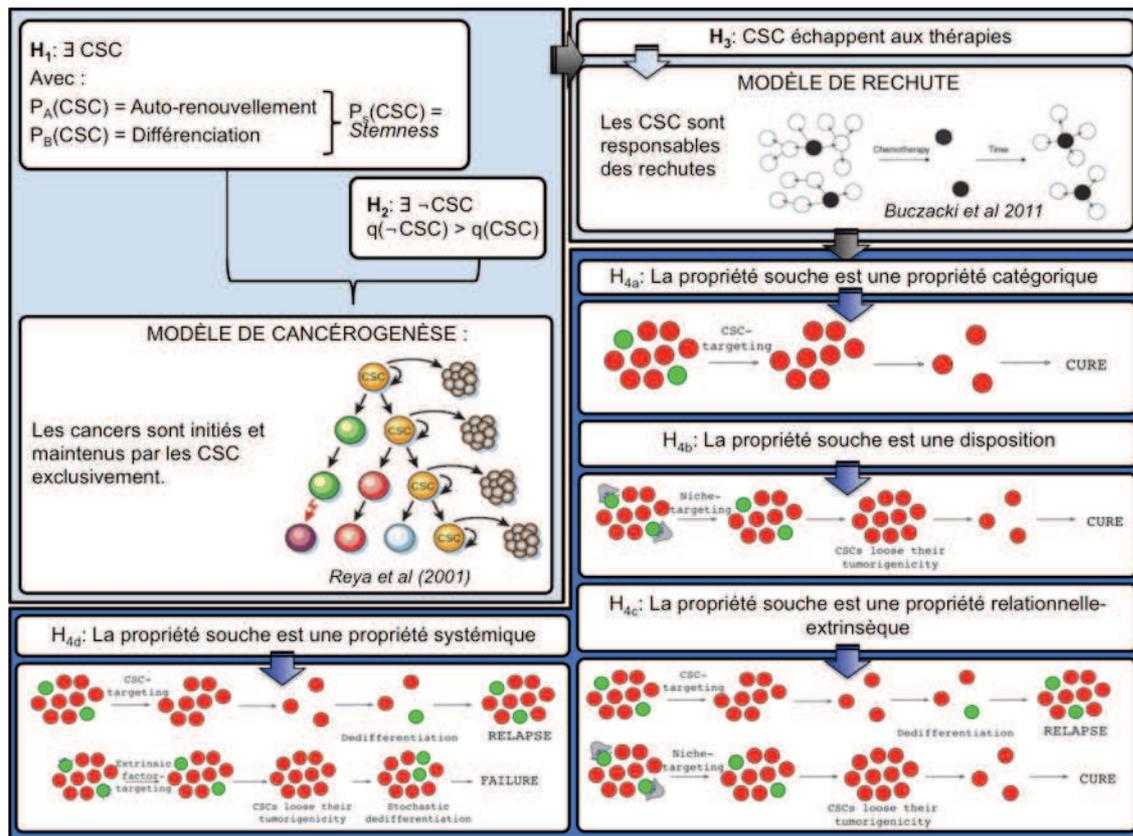


Figure 65. La théorie des CSC avec les hypothèses concernant l'ontologie de la propriété souche.

Deuxième conséquence étonnante des thèses défendues : si la propriété souche est une ‘propriété systémique’, impliquant notamment, mais pas seulement, des événements stochastiques dans l’expression des gènes, alors l’opposition entre le modèle hiérarchique de la théorie des CSC et le modèle stochastique traditionnelle se dissout, ou presque. En effet, le modèle stochastique a pour particularité d’attribuer de manière stochastique la capacité à initier les tumeurs. Comme cette capacité dépend de la capacité à s’auto-renouveler et à se différencier, la modèle stochastique attribue, en fait, la propriété souche, de manière stochastique, à des cellules cancéreuses. Etant donné que le modèle ne propose aucune explication précise de ce qui contrôle ces événements stochastiques, la conception systémique de la propriété souche pourrait tout à fait être considérée comme une version plus précise du modèle stochastique traditionnelle. Il est à noter, toutefois, que ce modèle ne serait alors plus que partiellement stochastique.

Si ces trois ensembles de thèses sont admis, se posent alors un certain nombre de questions philosophiques et biologiques :

- 1) Quels rapports entretiennent les différentes conceptions de la propriété souche que j’ai établies ?
- 2) Sont-elles toutes également plausibles ?

3) Peut-on tester chacune de ces conceptions ?

Concernant la première question, plusieurs réponses se dessinent, en fonction, notamment, des conceptions. Les quatre conceptions décrites sont en fait la rencontre de deux alternatives. Selon la première alternative, soit la notion de cellule souche fait référence à des *entités* soit elle fait référence à un *état* cellulaire. Selon la seconde alternative, il est possible ou impossible de rendre compte de la propriété souche sans faire appel au rôle de la niche cellulaire. Il y a donc deux alternatives à tester : celle de la dédifférenciation et celle de la niche. Un nombre important de données indique que la dédifférenciation est possible en droit. De même l'existence de niches cellulaires, dans lesquelles sont logées et avec lesquelles interagissent des cellules souches est difficilement discutable. Dès lors, les questions qui se posent à la biologie sont les suivantes :

- Dans quelle mesure la dédifférenciation est-elle susceptible d'intervenir ? La réponse à cette question est susceptible de varier d'une espèce à une autre, d'un tissu à un autre, d'un contexte développemental à un autre. En particulier, plusieurs des données que j'ai rassemblées semblent indiquer que la dédifférenciation est plus probable en contexte cancéreux qu'en contexte sain.
- Quel est le rôle de la niche ? N'est-elle impliquée que dans la régulation de l'activité souche ou bien est-elle également capable d'induire la propriété souche dans une cellule non-souche ? Dans quelle mesure les interactions avec la niche sont-elles nécessaires à l'activité souche ? Ici encore, la réponse est susceptible de varier en fonction des espèces, des tissus et des contextes développementaux.

La seconde question peut être traitée sous deux angles, métaphysique et méthodologique. La question métaphysique est la suivante : au regard des données, est-il plus probable que la propriété souche est une 'propriété catégorique', 'dispositionnelle', 'relationnelle-extrinsèque' ou 'systémique' ? La question méthodologique est la suivante : en contexte d'incertitude, quelle conception est-il préférable d'adopter ? Ma position est agnostique concernant la première question, mais pas concernant la seconde. En effet, fondamentalement, je soutiens qu'il faut dissiper l'incertitude et approfondir la question de la nature de la propriété souche. A cet égard, aucune conception n'est meilleure qu'une autre. Cependant, en contexte d'incertitude, c'est-à-dire dans le contexte actuel, adopter

l'une ou l'autre de ces conceptions a des conséquences qui ne sont pas strictement équivalentes. Ainsi, si l'on *doit* adopter l'une de ces conceptions, alors adopter la plus exigeante est le choix méthodologique le plus adéquat. Or, pour le traitement des cancers, la conception la plus exigeante est la 'conception systémique'. En effet, adopter cette conception conduit à envisager que le ciblage des CSC, comme le ciblage des facteurs extrinsèques potentiellement impliqués dans la propriété souche, pourraient ne pas être suffisants. Elle suggère la stratégie thérapeutique différenciative tout en révélant ses possibles limites à l'égard de la théorie des CSC. De plus, elle pousse à prendre en compte tous les facteurs possibles, ce qui en fait une conception très ouverte en termes de programmes de recherche. En dépit de cette préférence méthodologique, je soutiens un agnosticisme à l'égard de la nature de la propriété souche. Le versant métaphysique de la question est largement biaisé par l'état des connaissances. L'hypothèse de l'*état* étant peu étudiée, les conceptions 'relationnelle-extrinsèque' et 'système' disposent de peu de données solides en leur faveur. Pourtant, certaines résistances des données au cadre théorique classique indiquent les limites de la conception 'catégorique'. De cette thèse, on ne peut ni ne doit rien conclure concernant la nature exacte de la propriété souche. Ce que l'on doit en tirer, en revanche, c'est une reconnaissance de l'état d'incertitude actuelle et de la nécessité d'élucider cette question. La biologie doit interroger la propriété souche expérimentalement, pour éclaircir ces questions.

Ceci me mène à la troisième question : les conceptions que j'ai distinguées sont-elles testables ?

Elles le sont, en principe. Il suffirait de montrer qu'une cellule cancéreuse non-souche peut acquérir la propriété souche (devenir une CSC) et de quantifier la probabilité d'un tel événement, dans les cancers, pour mettre fin à l'alternative entre *entité* et *état*. Si la probabilité est tellement faible qu'elle fait figure d'exception, alors les stratégies thérapeutiques peuvent être évaluées à la lueur de l'hypothèse de l'*entité*. Si la probabilité est suffisamment importante pour représenter un risque, alors c'est vers l'hypothèse de l'*état* qu'il faudra se tourner. Reste ensuite à déterminer si l'événement est dépendant ou non de l'action d'une niche.

En pratique, certaines nouvelles technologies offrent des outils qui devraient permettre d'amorcer de tels tests. Pensons, par exemple, aux analyses clonales par

marquage multicolore permises par la production des souris « *Brainbow* »⁷¹⁷. La technique permet aux cellules de coexprimer, de manière stochastique (avec des événements mutuellement exclusifs), différentes protéines fluorescentes et, ce faisant, d'avoir une couleur spécifique (au microscope Confocal). Des dizaines de couleurs différentes peuvent être générées en multipliant les tandems de « *Brainbow* », permettent ainsi de distinguer individuellement autant de cellules et leur descendance (voir Figure 66). Grâce aux multiples modèles murins Cre-Lox, il est possible d'activer le marquage fluorescent multicolore, au moment voulu, dans des populations cellulaires ciblées. Cette technologie ouvre de nombreuses portes dans l'étude du lignage cellulaire. En particulier, il est possible de faire de multiples expériences d'activation du marquage « *Brainbow* » dans des cellules de différents types, à différents stades de différenciation, et d'observer les comportements de leurs cellules filles. Il serait alors possible de faire différentes expériences pour tester les quatre conceptions de la propriété souche⁷¹⁸. Pour le système hématopoïétique, par exemple, il serait possible de rendre vacantes les niches cellulaires hématopoïétiques par une irradiation puis d'observer la capacité des cellules non-souches à intégrer ces niches et à y acquérir la propriété souche. Si tel était le cas, l'expérience donnerait de bonnes raisons de penser que la propriété souche est une 'propriété relationnelle-extrinsèque'.

Par ailleurs, dans le cadre du master 2 de biologie des cellules souches (UPMC), j'ai réalisé un « projet fictif » qui proposait également un projet expérimental (le surfaçome des cellules souches) visant à tester la 'conception catégorique' des cellules souches. Le projet avait pour objectif de tester l'existence d'une, plusieurs ou aucune signature moléculaire propre aux cellules souches⁷¹⁹.

⁷¹⁷ Livet J, Weissman TA, Kang H, Draft RW, Lu J, Bennis RA, Sanes JR and Lichtman JW (2007) « Transgenic strategies for combinatorial expression of fluorescent proteins in the nervous system » *Nature* 450(7166): 56-62.

⁷¹⁸ Pour l'instant la technique n'est disponible que pour la souris et la drosophile. Il serait intéressant de pouvoir contraster les résultats que l'on obtiendrait dans ces espèces avec ceux que l'on obtiendrait dans d'autres espèces, notamment les espèces capables de régénérations importantes.

Pour la drosophile Brainbow, voir : Hampel S, Chung P, McKellar CE, Hall D, Looger LL and Simpson JH (2011) « Drosophila Brainbow: a recombinase-based fluorescence labeling technique to subdivide neural expression patterns » *Nat Meth* 8(3): 253-259.

⁷¹⁹ L'objectif de l'UE « designing a fictitious project » est de proposer un projet de recherche d'une durée d'environ trois ans impliquant un ou deux chercheurs. J'ai proposé un projet de recherche impliquant un biologiste et un philosophe et visant à identifier et définir moléculairement les cellules souches hématopoïétiques. Le projet propose une étude originale de l'identité moléculaire des cellules souches par un surfaçome. Le surfaçome consiste à étudier les protéines de surface par la spectrométrie de masse. Ce projet s'inscrit donc dans le débat présenté au chapitre 6, section 6.2. Il vise à questionner l'hypothèse de l'état, et, plus précisément, la conception catégorique des cellules souches, selon laquelle la

Plusieurs questions restent inexplorées, dans ces pages. En particulier, les quatre distinctions suggérées à l'égard de la propriété souche ont été guidées par l'objectif de l'enquête, à savoir, l'évaluation de leur conséquence pour la stratégie thérapeutique anti-CSC proposée par les partisans de la théorie des CSC. Deux questions mériteraient cependant d'être posées, à l'avenir pour aller plus loin :

- 1) Quelles sont les conséquences de ces distinctions hors du cancer ? On devine, assez facilement, des conséquences importantes pour la médecine régénératrice. L'utilisation des cellules souches comme outil thérapeutique est nécessairement affectée par la nature de la propriété souche et, en particulier, par sa versatilité potentielle. Plus généralement, une meilleure connaissance de la nature de la propriété souche sera très probablement bénéfique à la pratique de la biologie des cellules souches.
- 2) D'autres distinctions doivent-elles être faites pour ces autres contextes ?

J'espère que l'avenir me donnera l'occasion de traiter ces questions.

English conclusion

In this work, I proposed a critical examination of the therapeutic strategy suggested by the CSC theory. According to this theory, elimination of the CSCs is necessary and sufficient for the permanent cure of cancer patients. However, the conceptual and historical analyses of the CSC theory show that the effectiveness of targeting CSCs is relative to stemness ontology. More precisely, I have framed and supported the following theses:

1. The concept of stem cell is highly ambiguous for several reasons:
 - 1.1 The concepts of “stem cell” and “cancer stem cell” are ambiguous as to their reference (which cells are stem cells/cancer stem cells) and as to their definition. I arrived at this conclusion through a historical analysis of the central hypothesis of the CSC theory that cancers originate from stem cells.
 - 1.2 The concept of stem cell can have two meanings: a metaphorical meaning, according to which stem cells are the cells from which other cells originate, and a technical meaning, according to which the stem cells are the cells capable of self-renewal and differentiation. In contrast to historical analyses that distribute these meanings on successive periods, I argue that the ambivalence of the concept of stem cell is synchronic. The metaphorical and technical meanings are still constitutive of the concept of stem cell today.
 - 1.3 The ambiguity of the concept of stem cell concerns the nature of stemness rather than its definition.
2. Stem cell biologists currently share four distinct conceptions of stemness. Data are insufficient to settle the question of the nature of stemness but indicate that the concept of stem cell might refer either to an *entity* or to a *state*, a distinction established by the biologist Dov Zipori. In the former case, the notion of stem cell designates a determined “cell type”. In the latter case, the concept of stem cell does not refer to an identifiable and permanent cell type, but to a cell state, characterized by its reversibility and transiency. I have demonstrated that the distinction between *entity* and *state* is not sufficient to analyze the nature of stemness. I have highlighted that:

- 2.1. If the notion of stem cell refers to *entities*, then stemness is susceptible to be either a ‘categorical property’ or a ‘disposition’.
 - 2.1.1. By ‘categorical property’, I mean an essential and intrinsic property that is specific to the ‘stem cell’ natural kind.
 - 2.1.2. By ‘dispositional property’, I have in mind a property whose expression depends on extrinsic stimuli, more precisely, on the niche. In this case, stemness is also a specific property of the ‘stem cell’ natural kind. However stemness cannot be reduced to the categorical properties on which it relies. Such ontology reflects the weak version of the niche hypothesis, according to which the stem cell niche regulates stemness activity.
- 2.2. If the concept of stem cell refers to a cell *state*, then the induction of this state may depend or not on the niche. In this case, stemness can be considered either as a ‘relational-extrinsic property’, or as a ‘system property’.
 - 2.2.1. By ‘relational-extrinsic property’, I try to capture how stemness is characterized in the strong version of the niche hypothesis. According to this interpretation of the niche hypothesis, the niche can induce stemness.
 - 2.2.2. By ‘system property’, I mean that stemness is the ‘non-dispositional systemic function’ of a system. The ‘system’ must be clearly specified, especially regarding its boundaries. For the CSC theory, the system includes at least all the cancer cells of a given cancer. The key idea of the ‘system conception’ is that stemness is maintained at the system level. At any time, some cells of the system are in the stem state. This ensures the system’s functionality. In this view, the factors that can induce the stem state can be of various kinds, intrinsic or extrinsic.
 - 2.2.3. Because of the lack of data regarding the ‘system’ and the ‘relational-extrinsic’ views, no precise characterization can be made, and further investigations – in particular quantitative ones – are needed. Showing that dedifferentiation can occur is not sufficient. It is necessary to obtain more precise knowledge

on the probability that such an event happens and on the factors involved.

3. Determining the nature of stemness is of paramount importance for cancer treatments, if the CSC theory is true. Table 2 summarizes the different plausible therapeutic strategies according to the nature of stemness. They all assume that elimination of the CSCs is at least necessary to cure cancers. The question whether they are indeed necessary or not will depend on the validation of the CSC theory for each type of cancer. Inside the CSC framework, I have argued the following theses:

- 3.1 CSC targeting strategy can be said necessary and sufficient only if stemness is a ‘categorical’ or ‘dispositional property’. If it is a relational-extrinsic’ or a ‘system property’, then at any time, a cancer non-stem cell can acquire stemness and initiate a relapse. Consequently, CSC targeting would not be sufficient to ensure recovery (i.e. absence of relapse after an apparently successful treatment).
- 3.2 If stemness depends on the niche, either as a disposition or as a relational-extrinsic property, then another therapeutic strategy is possible: targeting the niche-cell interactions. Such a therapeutic strategy, however, would only be effective and efficient if the targeted interactions are necessary for the expression of stemness.
- 3.3 Only one therapeutic strategy can work irrespectively of the nature of stemness: cumulating CSCs targeting strategy with conventional therapies targeting the remaining cells. Cumulating therapies is often suggested in CSC’s literature. However, it raises a number of difficulties. First of all, targeting CSCs necessitates identifying markers that are overexpressed in CSCs but not in normal stem cells. Second, cumulating therapies raises the issue of the biological cost for the patient (multiplication of side effects) and of the financial cost for the health systems.
- 3.4 Development of nanocarriers and targeted medicine, which aims to release the drug in the tumor, may prove substantially beneficial to CSCs-targeting strategy. Indeed, the most important empirical current difficulty for the development of CSCs-targeting therapies is to eliminate the CSCs while preserving the stem cell. Development of nanocarriers could greatly

reduce this problem. It could also help to overcome the problem of accumulating side effects.

3.5 Another therapeutic strategy, which is not specific to CSCs, is likely to be successful irrespectively of the nature of stemness: differentiation therapies. Inducing differentiation of all the cancer cells would result in the elimination of the CSC. Therefore, if stemness is a ‘categorical’ or ‘dispositional property’, then one can expect the same results from a differentiating therapy than from a CSCs-targeting therapy. Differentiating therapies may be necessary and sufficient to cure cancers. The situation is less clear if stemness is a ‘system’ or ‘relational-extrinsic property’. However, one can reasonably assume that some states of differentiation are not readily reversible, and possibly irreversible. Differentiation therapeutic strategy cannot predict definitive cure but it could suggest a very low probability of relapse.

Based on the observations that: (1) CSCs-targeting strategy faces many difficulties; (2) it is unclear whether CSCs-targeting is sufficient to cure cancers; (3) knowledge is crucially lacking to target niche-cell interactions; and (4) it is also unknown whether such targeting therapies would be sufficient to cure cancers, differentiating therapeutic strategy may be the most reasonable therapeutic strategy in the current state of knowledge.

These theses have two surprising consequences. First, all the premises of the CSC theory could be true and the therapeutic model false. This is due to the fact that the question of the stem cell ontology is only ask in two ways: existence and definition of the CSCs. Premises of the CSC theory postulate that CSCs exist and define them by possession of stemness. My work shows that this is not enough. A premise about the nature of stemness should be added (see Figure 65).

Second amazing result of the theses I defend: if stemness is a ‘system property’, involving stochastic events in gene expression, then the opposition between the CSC hierarchical model and the stochastic traditional model collapses, or almost dissolves. Indeed, the particularity of the stochastic model is that it assigns stochastically the ability to initiate and develop cancers. As this capacity depends on self-renewal and differentiation capabilities, the stochastic model is, in a way, attributing stemness stochastically to cancer cells. Given that the model offers no precise explanation of the stochasticity, the system

conception of stemness could be considered as a particular interpretation of the traditional stochastic model. It is to be noted, however, that the resulting model would be only partially stochastic.

If these three sets of theses are accepted, then a number of philosophical and biological questions might be asked:

- 1) What relationships (if any) is there between the four conceptions of stemness I have distinguished?
- 2) Are they all equally plausible?
- 3) Are they empirically testable?

Regarding the first question, several answers are possible, depending, in particular, on the conceptions. The four conceptions described above come from the meeting of two alternatives. According to the first alternative, the concept of stem cell refers either to an *entity* or to a *state*. According to the second alternative, it is possible or not to account for stemness without mentioning the role of the niche. Thus, there are two alternatives to test: dedifferentiation and niche. A large number of data indicates that dedifferentiation is possible in law. Similarly, existence of cellular niches, in which stem cells are located and with which stem cells interact, is hardly debatable. Therefore, the issues in biology are the following:

- 1) To what extent is dedifferentiation likely to occur? The answer to this question is susceptible to vary from one species to another, from one tissue to another, from one developmental context to another. In particular, many of the data I have mentioned suggest that dedifferentiation is more likely in cancers than in healthy contexts.
- 2) What is the role of the niche? Is it only involved in the regulation of stemness activity or is it also capable of inducing stemness in non-stem cells? to what extent are the interactions with the niche necessary to stemness activity? Here again, the answer is likely to vary depending on species, tissues and developmental contexts.

The second issue can be addressed from two perspectives, metaphysical and methodological. The metaphysical question is: in the light of data, is it more likely that stemness is a ‘categorical’, ‘dispositional’, ‘relational-extrinsic’ or ‘systemic’ property? The methodological question is: in the face of uncertainty, what conception is preferable? My

position is agnostic on the first issue, but not on the second. Basically, I argue that the nature of stemness must be assessed and the uncertainty, dispelled. In this respect, no conception is better than another. However, in a context of uncertainty (i.e. in the current context), adopting one or the other view has consequences that are not strictly equivalent. Thus, if we *must* adopt one of these conceptions, then we should adopt the more exigent one. For cancer therapies, this is the ‘system conception’. Indeed, adopting this conception leads to consider CSCs-targeting and extrinsic factors-targeting, as possibly insufficient. It also leads to consider the differentiative therapies as possibly efficient, while revealing their possible limits. In addition, it encourages to consider all possible factors, making it very open in terms of research programs. Despite this methodological preference, I support agnosticism with regard to the nature of stemness. From this work, one cannot and must not conclude on the exact nature of stemness. But the current state of uncertainty and the need to assess stemness nature must be acknowledged.

This leads me to the third question: are the four conceptions of stemness testable? They are in principle. It would suffice to show that a cancer non-stem cell can acquire stemness (i.e. becomes a CSC), and to quantify the probability of such an event in cancers, to end the alternative between *entity* and *state*. If the probability is so low that dedifferentiation is to be considered as an exception, then therapeutic strategies can be evaluated in the light of the *entity* hypothesis. If the probability is high enough represent a risk, then the *state* hypothesis should be endorsed. Then, it remains to assess whether the event is dependent or not on the action of a niche. In practice, some new technologies offer tools that should allow to start such tests. Consider, for example, the multicolor clonal cell tracking allowed by the recent production of *Brainbow* mice. It allows cells to stochastically co-express different fluorescent protein and thus to express different colors on Confocal microscope. Dozens of different colors can be generated by multiplying the *Brainbow* tandems, distinguishing as many cells and their progeny (see Figure 66). Thanks to the multiple Cre-Lox mouse models, it is possible to activate multicolor fluorescent labeling at the right time, in targeted cell populations. This technology opens many doors in the study of cell lineage. In particular, it is possible to do various experiments of activation of the *Brainbow* tagging in different cell types at different stages of differentiation, and to observe the behavior of their progeny. It would then be possible to make various experiments to test the four conceptions of stemness. For the hematopoietic system, to take an example, it would be possible to create vacant niches through irradiation, and then to observe the ability of non-stem cells to integrate these niches and to acquire stemness. If

it were the case, then it would give good reasons to believe that stemness is a ‘relational extrinsic property’.

The fictitious project I had to realize during the international stem cell master (UPMC) also featured an experimental project (stem cell surfacome) aiming to test the ‘categorical conception’. The project aimed to test the existence of one, several, or no specific molecular signature in stem cells.

So, there is a number of technologies allowing to test the nature of stemness. Furthermore, the development of anti-CSC therapies could also be seen as tests, on the long-term, of the *state* alternative. Indeed, if such therapies were developed and consistently resulted in the complete and definitive recovery of patients, it would provide a retrospective demonstration of the categorical or dispositional nature of stemness. A niche-targeting therapy (or CSC-niche relation-targeting therapy) could bring a retrospective demonstration of the ‘dispositional’ or ‘relational-extrinsic’ nature of stemness.

Several questions remain unexplored in these pages. In particular, the four distinctions suggested with regard to stemness were guided by the objective of the investigation, that is, the evaluation of their consequences for CSC-targeting strategies suggested by the CSC theory proponents. Two questions deserve to be raised in the future to go further:

- What are the implications of the four conceptions outside of cancers? One can quite easily guess important consequences for regenerative medicine. The use of stem cells as therapeutic tools is necessarily affected by the nature of stemness, and in particular by its reversibility. More generally, a better understanding of the nature of stemness will most likely benefit the practice of stem cell biology.
- Are other distinctions necessary in other contexts?

I hope that the future will give me the opportunity to address these issues.

Annexes

Annexe 1 : La théorie des CSC est-elle une théorie ?

Laplane L “Identifying theories in developmental biology. The case of the cancer stem cell theory.” For Minelli A and Pradeu T (eds), *Toward a theory of development*. To be published in Oxford University Press⁷²¹.

To know whether there are theories of development in developmental biology, one will need to know how to recognize them. This is, in fact, far from a trivial task. The concept of theory is used in a very loose way by biologists, which makes any intuitive distinction between ‘theories’, ‘hypotheses’, or ‘models’ impossible⁷²² (Pradeu 2009: 206). Furthermore, as we will see, syntactic and semantic conceptions of scientific theories developed by philosophers of science provide no tools for an attempt to identify theories in any particular field of science. Thus the question “are there theories of development in developmental biology?” can be subdivided into three independent questions:

What is a scientific theory?

How to identify existing scientific theories?

Is there such a thing in developmental biology?

Thomas Pradeu’s chapter of the present book deals mainly with the first and third questions while this one will focus on the second and third questions. Our aim is primarily empirical. So, after having shown that we lack means to distinguish theories from non-theories, we will attempt to provide some. We will argue that a particular interpretation of the old *vera causa* principle can provide such a tool. Through its use, we will then answer positively to the third question and set out what we consider as a good example of a theory of development: the cancer stem cell theory.

⁷²¹ Il s’agit du manuscrit d’un chapitre pour un ouvrage collectif. L’ouvrage vise à interroger l’existence de théories en biologie du développement. Dans ce chapitre, je soutiens que la théorie des CSC est bien une théorie scientifique et, plus précisément, un exemple de théorie en biologie du développement. Cette annexe apporte donc une réponse à la question du statut épistémologique des CSC et une justification à la désignation de « théorie des CSC ».

Notons qu’il ne s’agit pas de la version définitive du texte.

⁷²² Pradeu T (2009) *Les limites du soi: immunologie et identité biologique*. Montréal : Presses Universitaires de Montréal ; Paris : Vrin, p. 206.

Classical conceptions of scientific theory provide no tools for the identification of theories

Scientific theories are commonly described as sets of explanations and predictions. This cannot be taken as a satisfying definition of a scientific theory insofar as a scientific hypothesis, defined as “plausible propositions on how a phenomenon occurs”⁷²³ can also provide a set of explanations and predictions. During the 20th century, philosophers of science of the analytic tradition framed two major conceptions of scientific theories, which are named syntactic and semantic. These conceptions give precise formal characterizations of scientific theories. Our aim does not require entering into the details of these conceptions but just to recall how they describe theories. The syntactic conception, also called the ‘received view’, regroups several more or less heterogeneous views that describe theories as “networks of principles and laws”, to use Marion Vorms nice metaphor⁷²⁴. The semantic conception, which was elaborated in response to the syntactic views, conceives scientific theories as “classes (or families) of models”⁷²⁵. Of critical importance for us is that they both aim to provide formal reconstructions of theories and not to provide any precise definition of scientific theories that would enable us to identify them in a particular field of science. Suppes provides a good example when writing:

If someone asks, “what is a scientific theory?” it seems to me there is no simple response to be given. [...]. It does not seem to me important to give precise definitions of the form: X is a scientific theory if and only if, so-and-so⁷²⁶.

When trying to know if there are theories of development, it is precisely ‘so-and-so’ criteria that are needed to determine if ‘X’ is a theory. It is important to acknowledge that our goal is fundamentally different from the aims of syntactic and semantic conceptions of theories. But even if the goals differ, one can ask whether their descriptions of theories

⁷²³ Pradeu T (2009) *Les limites du soi: immunologie et identité biologique*. Montréal : Presses Universitaires de Montréal ; Paris : Vrin, p. 203.

⁷²⁴ Vorms M (2011) *Qu’est-ce qu’une théorie scientifique?* Paris : Vuibert, p. 122. For insight on this conception, see: Hempel CG (1965) *Aspects of Scientific Explanation*. New York: Free Press.

⁷²⁵ Vorms M (2011) *Qu’est-ce qu’une théorie scientifique?* Paris : Vuibert, p. 128. For insight on this conception see Suppe F (1977) “The search for philosophic understanding of scientific theories”. In Suppe F (ed) *The Structure of Scientific Theories*, second edition. Champaign IL: University of Illinois Press and van Fraassen BC (1987) “The semantic approach to scientific theories”, pp. 105–124, in Nersessian NJ (ed.) *The Process of Science: Contemporary Philosophical Approaches to Understanding Scientific Practice*. Dordrecht: Martinus Nijhoff.

⁷²⁶ Suppes P (1967) “What is a scientific theory?”, pp. 55–67, in Morgenbesser S (ed.) *Philosophy of Science Today*. New York: Basic Books, p. 63–64.

provide tools that could be used for the identification of theories. We will now address this question.

Syntactic conception is unsuited to biology

The major characteristic of theories from the syntactic view is the enunciation of laws. Does that provide us a criterion to identify theories? Logical empiricists define laws as “true generalizations that are “purely qualitative,” meaning that they do not refer to any place, time, or individual”⁷²⁷. Such laws cannot exist in biology⁷²⁸. Any biological entity is the outcome of an evolutionary history. First of all, evolutionary history could have been different⁷²⁹. Second, generalizations that are true on earth can be false elsewhere in the universe⁷³⁰. Third, biology is characterized by its countless exceptions⁷³¹. True generalizations in biology refer to history, locations and/or individuals. This general argument against the syntactic conception of scientific theories became particularly popular with Beatty’s “evolutionary contingency thesis”⁷³².

Moreover, the adequacy of the syntactic conception of scientific theories based on such laws has also been questioned in physics. On the one hand, some fields of research in physics are as historical as biology can be, such as astrophysics. On the other hand, and even more problematic, classical physics itself could rest on contingently true generalization, outcome of the Big Bang⁷³³. The syntactic conception not only does not apply to all sciences, which is problematic for a general conception of ‘scientific’ theories, but worse, it could apply to no science at all.

⁷²⁷ Sober E (2006) “Two outbreaks of lawlessness in recent philosophy of biology”, pp. 249-58, in Sober E (ed.) *Conceptual Issues in Evolutionary Biology*. Cambridge and London: MIT Press, p 249.

⁷²⁸ See Smart JJC (1963) *Philosophy and Scientific Realism*. London: Routledge & Kegan Paul; Hull D (1974) *Philosophy of Biological Science*. Englewood Cliffs: Prentice-Hall; Gayon J (1993) “La biologie entre loi et histoire”. *Philosophie* 38: 30-57.

⁷²⁹ Gould SJ (1990) *Wonderful Life. The Burgess Shale and the Nature of History*. New York and London: Norton.

⁷³⁰ On exobiology, see: Morange M (2003) *La vie expliquée ? 50 ans après la double hélice*. Paris: Odile Jacob.

⁷³¹ For examples see: Gayon J (1993) “La biologie entre loi et histoire”. *Philosophie* 38: 30-57.

⁷³² Beatty J (1995) “The evolutionary contingency thesis”, pp. 45-81, in Wolters G and Lennox J (eds) *Concepts, Theories, and Rationality in the Biological Sciences: The Second Pittsburgh-Konstanz Colloquium in the Philosophy of Science*. Pittsburgh: University of Pittsburgh Press.

⁷³³ Ruse M (1973) *The Philosophy of Biology*. London: Hutchinson University Press; Rosenberg A and McShea DW (2008) *The Philosophy of Biology. A Contemporary Introduction*. New York and London: Routledge, see pp. 61, 62. More references in: Pradeu T (2009) *Les limites du soi: immunologie et identité biologique*. Montréal : Presses Universitaires de Montréal ; Paris : Vrin

Insofar as the characterization of scientific theories as sets of laws is not suitable for all sciences, it does not provide relevant criteria for the identification of theories, in particular in biology. Some philosophers have argued that this problem could be overcome by revising the notion of law⁷³⁴. But, empirically, every attempt of axiomatization of the most famous biological theory (evolution by natural selection theory) has felt short⁷³⁵. This has led to a general agreement on the fact that the syntactic conception of scientific theories was too exclusive. Frederick Suppe had made a similar criticism, indicating that “not all scientific theories admit the canonical axiomatic formulation required by the Received View”⁷³⁶. He concluded that “the Received View is not plausible as an analysis of the structure of *all* scientific theories”⁷³⁷.

Criticism of the philosophy of science for taking physics as their model

The studies on scientific theories, in particular those of the syntactic conception, have provoked severe critics of the predominant status of physics in philosophy of science. Indeed, conceptions of scientific theories have been (and partly still are) framed with theories of classical physics as a model (e.g. the theory of relativity). But, because theories in physics enunciate laws, do we have to conclude that any scientific theory should do so? How ironical is it that a conception of theories willing to ascertain the logical basis of particular theories is itself based on a very loose induction from physics to science?

In comparing biology and physics in light of the received view of theories, the issue certainly has not been the

⁷³⁴ See Hull D (1977) “A logical empiricist looks at biology”. *British Journal for the Philosophy of Science* 28: 181-189; Gayon J (1993) “La biologie entre loi et histoire”. *Philosophie* 38: 30-57; Sober E (2006) “Two outbreaks of lawlessness in recent philosophy of biology”, pp. 249-58, in Sober E (ed.) *Conceptual Issues in Evolutionary Biology*. Cambridge and London: MIT Press; Pradeu T (2011) “Philosophie de la biologie”, in Barberousse A, Bonnay D and Cozic M (eds) *Précis de philosophie des sciences*. Paris: Vuibert.

⁷³⁵ Lloyd E (1988) *The Structure and Confirmation of Evolutionary Theory*. Princeton: Princeton University Press; Williams MB (1981) “Similarities and differences between evolutionary theory and the theories of physics”. *PSA: Proceedings of the Biennial Meeting of the Philosophy of Science Association* 2: 385-396; see also: Duchesneau F (1997) *Philosophie de la biologie*. Paris: PUF.

⁷³⁶ Suppe F (1977) “The search for philosophic understanding of scientific theories”. In Suppe F (ed) *The Structure of Scientific Theories*, second edition. Champaign IL: University of Illinois Press, p. 63.

⁷³⁷ Suppe F (1977) “The search for philosophic understanding of scientific theories”. In Suppe F (ed) *The Structure of Scientific Theories*, second edition. Champaign IL: University of Illinois Press, p. 66.

adequacy of the received view. The issue has been the adequacy of biology⁷³⁸.

The particular history of the emergence of philosophy of biology as a response to the physico-driven philosophy of science delivered us a major lesson: transfers of criterion from one science to another and inductions from one particular science to sciences in general should be done with caution.

The semantic conception is not specific to theories

The semantic conception of scientific theories has been described as far more liberal, leaving open the possibility of theories in most sciences, including biology but also economic and social sciences⁷³⁹. This raises hopes to find in this conception a description of theories that would enable us to identify them in a particular field of science.

The semantic conception of theories describes them as families of models. The notion of model is highly polysemous and is subject to numerous debates. In the semantic conception, the concept of model has to be understood in the sense of formal logic: “it is a structure that satisfies a theory”⁷⁴⁰. It must not be confused with the sense that it takes in biology, which is fuzzy and multiple but clearly different, even if Suppes and van Fraassen both argued for compatibility between those meanings⁷⁴¹. Nonetheless, proponents of the semantic conception have shown that it was possible to formalize biological theories, like the theory of evolution, by models (in the sense of logic).

The question then would be: is the possibility of such a formal reconstruction a proof of the presence of a scientific theory? According to Peter Godfrey-Smith, this is not the case: non-theory, “perhaps any representations with indicative content at all”, like “the sports pages of the New York Times” can be formalized with mathematical models:

What we have here is a general way of thinking about meaning; we think about the meaning of a representation by thinking about the formal characteristics of structures that the representation can be seen as true of⁷⁴².

⁷³⁸ Beatty J (1980) “What's wrong with the received view of evolutionary theory?” *PSA Proceedings of the Biennial Meeting of the Philosophy of Science Association* 2: 397-426.

⁷³⁹ See, for example : Pradeu T (2009) *Les limites du soi: immunologie et identité biologique*. Montréal : Presses Universitaires de Montréal et Paris : Vrin, p. 202.

⁷⁴⁰ Vorms M (2011) *Qu'est-ce qu'une théorie scientifique?* Paris : Vuibert.

⁷⁴¹ Suppes P (1960) “A comparison of the meaning and use of models in mathematics and the empirical sciences”. *Synthese* 12: 287-301, see p. 289; van Fraassen BC (1980) *The Scientific Image*. Oxford : Oxford University Press, see p. 44.

⁷⁴² Godfrey-Smith P (2006) “The strategy of model-based science”. *Biology and Philosophy*, 21: 725-740.

Thus, contrary to the syntactic conception, the semantic conception would be too inclusive if taken as a way to identify scientific theories.

A first conclusion can be drawn: neither the syntactic nor the semantic conception of scientific theories gives adequate tools for the precise aim of distinction between theories and non-theories in science (which is fine, considering that this is not their aim). Consequently, we will have to find empirical means to identify scientific theories somewhere else.

The *vera causa* principle can provide useful criteria for the identification of theories.

Before the syntactic and semantic conceptions of scientific theories, from Newton to Darwin there have been two centuries of discussion of the so-called “*vera causa* principle”⁷⁴³. This principle is aimed at discriminating the true causes from the fictitious ones in order to guarantee the scientificity of explanations.

According to the historical analysis of Vincent Kavaloski, the *vera causa* principle has neither been formulated nor has it been used to identify theories. Indeed, Kavaloski distinguishes five functions that have been attributed to the *vera causa* principle:

- F1. It functions as a rule in the formation of hypotheses: viz., only *verae causae* are to be employed as explanatory factor therein.
- F2. It acts as a criterion of evaluation for hypotheses already in existence.
- F3. It plays a part in the definition of “scientific explanation”.
- F4. It constitutes a demarcation criterion between science and non-science.
- F5. It acts as a requirement for something being a *plausible* scientific explanation, i.e., one worthy of investigation, and more particularly, of testing⁷⁴⁴.

Two conclusions can be drawn from the description of these five functions. First, the *vera causa* principle doesn't seem specific to theories. In this citation Kavaloski refers to ‘hypotheses’ and not to ‘theories’, but more generally he uses ‘theory’ and ‘hypothesis’

⁷⁴³ For an historical overview, see: Kavaloski V (1974) *The Vera Causa Principle: A Historico-philosophical Study of a Metatheoretical Concept from Newton through Darwin*. PhD dissertation, University of Chicago.

⁷⁴⁴ Kavaloski V (1974) *The Vera Causa Principle: A Historico-philosophical Study of a Metatheoretical Concept from Newton through Darwin*. PhD dissertation, University of Chicago, p. 50.

interchangeably. Second, the *vera causa* principle appears rather heterogeneous. As noticed by Kavaloski, F5 is incompatible with F4 and F3. This ambiguity is directly related to another one: Kavaloski highlighted the existence of six interpretations of the principle (see V1 to 5 pp. 30-31 and V6 p. 41). This, one might think, would preclude the use of this principle for our aim of identification of theories in science. But we will show that one particular interpretation of the *vera causa* principle escapes these pitfalls. This is Darwin's interpretation, or more precisely Gayon's interpretation of Darwin's interpretation (or even our interpretation of Gayon's interpretation of Darwin's interpretation of the *vera causa* principle). In any case, this interpretation highlights potentially useful criteria for the aim of identification of theories.

As recalled by Kavaloski, in his *Origin of Species* Darwin “explicitly appeals to the *vera causa* principle as a desideratum favoring his own theory vis-à-vis its chief rival, special creationism”⁷⁴⁵. He “never explicitly defines what he means by the term *vera causa*”⁷⁴⁶, but in response to criticisms that have been addressed by philosophers of sciences (Herschel, Whewell, Mill) on the methodology of its *Origin of Species*, Darwin argued:

In scientific investigations, it is permitted to invent any hypothesis, and if it explains various large and independent classes of facts it rises to the rank of a well-grounded theory⁷⁴⁷ (Darwin 1875: 9).

This citation provides a synthetic sketch of Darwin's interpretation of the *vera causa* principle revealing the criteria that we think useful for the identification of theories, namely the explanation of “independent classes of facts”⁷⁴⁸. The Darwinian interpretation of the *vera causa* principle has been extensively analyzed⁷⁴⁹. We focus on Gayon's analysis because

⁷⁴⁵ Kavaloski V (1974) *The Vera Causa Principle: A Historico-philosophical Study of a Metatheoretical Concept from Newton through Darwin*. PhD dissertation, University of Chicago, p. 105.

⁷⁴⁶ Kavaloski V (1974) *The Vera Causa Principle: A Historico-philosophical Study of a Metatheoretical Concept from Newton through Darwin*. PhD dissertation, University of Chicago, p. 105.

⁷⁴⁷ Darwin C (1875) *The Variation of Animals and Plants Under Domestication*, 2nd ed. London: John Murray, p. 9.

⁷⁴⁸ Gayon J (2009) “Mort ou persistance du darwinisme? Regard d'un épistémologue”. *Comptes Rendues Palevol* 8: 321-340, see p. 330; Kavaloski V (1974) *The Vera Causa Principle: A Historico-philosophical Study of a Metatheoretical Concept from Newton through Darwin*. PhD dissertation, University of Chicago, see p. 124.

⁷⁴⁹ See : Kavaloski V (1974) *The Vera Causa Principle: A Historico-philosophical Study of a Metatheoretical Concept from Newton through Darwin*. PhD dissertation, University of Chicago; Ruse M (1975) “Darwin's debt to philosophy: an examination of the influence of the philosophical ideas of John F.W. Herschel and William Whewell on the development of Charles Darwin's theory of evolution”. *Studies in History and Philosophy of Science* 6: 159-181; Hodge MJS (1977) “The structure and strategy of Darwin's 'long argument'”. *British Journal for the History of Science* 10: 237-246; Hodge MJS (1992) “Darwin's argument in the Origin”.

its two-level interpretation and representation (see figure) provide a great insight into the question of the difference between hypotheses and theories. Note that this question has never been part of the debates over Darwin and the *vera causa* principle, nor has it been of the subject of a direct argumentation by Gayon (who could disagree in some respect with our understanding).

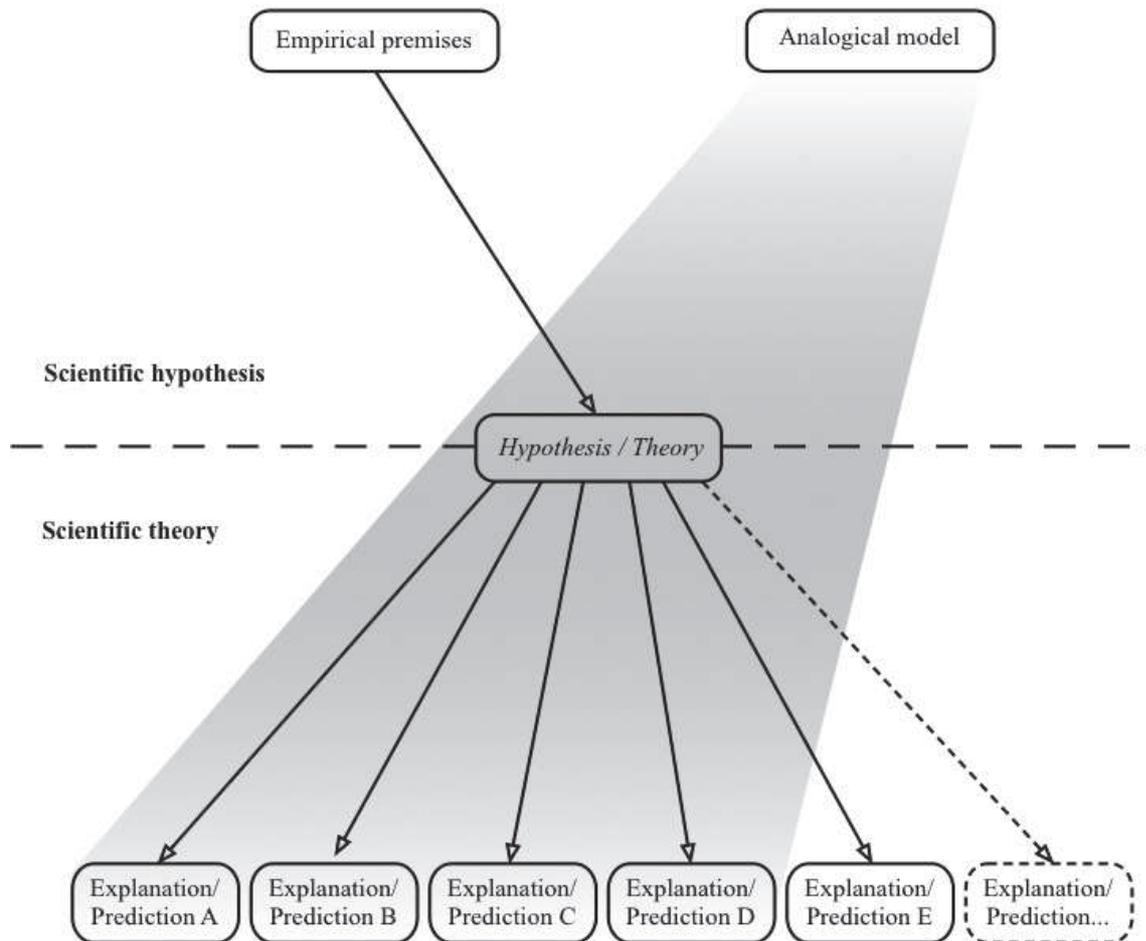


Figure 1. Schematic representation of Darwin-Gayon's view of scientific theories under our interpretation. This diagram represents an abstraction from and analysis of Gayon's two level diagram (1997; 2009). At the upper part of the diagram is the scientific hypothesis. A hypothesis is scientific if some empirical premises make it plausible, and even more valuable if any analogical model of it is available. At the bottom is the representation of the conditions for any scientific hypothesis to be considered as a scientific theory. There is only one requirement, which is the ability to explain (or predict) independent facts (represented by the boxes at the bottom). Availability of an analogical model reinforces the explanatory power of the theory and participate to guarantee its scientificity, but is not required.

Philosophy of Science 59: 461-464; Gayon J (1997) "The paramount power of selection: from Darwin to Kauffman", pp. 265-282, in Dalla Chiara ML, Doets K, Mundici D and van Benthem J (eds) *Structures and Norms in Science, Volume Two of the Tenth International Congress of Logic, Methodology and Philosophy of Science*. Dordrecht: Kluwer; Gayon J (2009) "Mort ou persistance du darwinisme? Regard d'un épistémologue". *Comptes Rendues Palevol* 8: 321-340; Hull D (2003) "Darwin's science and Victorian philosophy of science", pp. 168-191, in Hodge J and Radick G (eds) *The Cambridge Companion to Darwin*. Cambridge: Cambridge University Press.

Gayon describes Darwin's argumentation as a two-level method relying on three criteria (illustrated in Figure 1). The two levels are those of 'hypothesis' and 'theory'. At the first level is the hypothesis (upper portion of the diagram). The scientificity of the hypothesis relies on the following criteria: it must be derived from "empirical premises", or more precisely, from "well-established classes of facts"⁷⁵⁰. At the second level is the theory (bottom of the diagram). A theory, according to Gayon's analysis of Darwin, relies on a scientific hypothesis of the first level that meets a second criterion, namely it explains "independent classes of facts" (the eight boxes at the bottom). This provides two criteria of identification of theories with one specific to theories, namely the explanation of independent classes of facts. This specific criterion meets our requirement that criterion must allow distinguishing theories from non-theories. It deserves some clarification. At least two different interpretations of the notion of independent facts are possible:

- (1) Two phenomena are independent if they do not interact.
- (2) Two phenomena are independent if they are produced by independent causes.

The first interpretation would lead to an extremely challenging notion of theory to which not even the theory of evolution by selection would answer. Indeed, the "independent facts" explained by Darwin's theory are "morphological adaptations", "instincts", "geographic distribution of species", "extinction", "divergence", "homologies" and "classification". These cannot be isolated. Thus, the second interpretation should be favored over the first one. This interpretation of independent facts as produced by independent causes leads to an historical interpretation of scientific theories. Indeed, the independent facts are no longer independent once the theory has identified for them a unifying explanation. This criterion recalls the consilience of inductions principle developed by Whewell that aims to eliminate *ad hoc* hypotheses.

The third criterion is transversal. It is the assistance of an analogical model (top right of Figure 1). The principle of an analogical model (or isomorphic model) is to consider a specific case as a model for the theory: in the specific case, particular causes are known to have particular effects, and in the theory it is considered that analogous causes have analogous effects. Proof by analogy was of major importance for several proponents of the *vera causa* principle, such as Herschel, and Whewell. Newton also made use of it by taking fronds as models of the movement of the moon around the Earth. It has been

⁷⁵⁰ Gayon J (2009) "Mort ou persistance du darwinisme? Regard d'un épistémologue". *Comptes Rendues Palevol* 8: 321-340, see p. 330.

shown to be of major importance for Darwin⁷⁵¹. This criterion is transversal to the levels of hypothesis and theory because (1) it increases the likelihood and scientificity of the hypothesis, and (2) it supports the theory by providing an empirical demonstration of the causal explanation (grey area in Figure 1). Thus, one might ask if it is a requirement to be fulfilled by any theory. According to Gayon the only requirement consists of the first two criteria. The analogy clearly improves the scientificity of a theory but is not to be understood as a necessary criterion *per se* (Gayon, oral presentation).

Domain of extension

As the syntactic and semantic conceptions of scientific theories, the *vera causa* principle was not designed to identify existing theories in particular fields of science. But, unlike these conceptions, a particular interpretation of the *vera causa* principle can provide a useful criterion to achieve our aim. The study of the syntactic conception of scientific theories has revealed a methodological difficulty in the building of any conception of scientific theories. Theories might have specific characteristics in specific fields of science that must not be generalized. Thus, we must raise the issue of the scope of application of our criterion. Two comments can be made on this subject. First, our main aim in the context of the present collective book is to identify theories in biology. Our criterion fulfills this specific aim. Second, other criteria might better fulfill it in other fields of science but there is evidence advocating the applicability of our criterion to other sciences. Notably, the *vera causa* principle and its interpretation by Darwin have first been elaborated by Newton in the context of classical physics. Furthermore, Lyell had also applied it to geology. To be conclusive, a more general study should be carried out, but one might reasonably expect a generalizability of our criterion.

⁷⁵¹ Kavaloski V (1974) *The Vera Causa Principle: A Historico-philosophical Study of a Metatheoretical Concept from Newton through Darwin*. PhD dissertation, University of Chicago; Ruse M (1975) "Darwin's debt to philosophy: an examination of the influence of the philosophical ideas of John F.W. Herschel and William Whewell on the development of Charles Darwin's theory of evolution". *Studies in History and Philosophy of Science* 6: 159-181; Thagard P (1978) « The best explanation: criteria for theory choice » *Journal of Philosophy* 75(2): 76-92; Lloyd E (1983) "The nature of Darwin's support for the theory of natural selection". *Philosophy of Science* 50: 112-129, see pp. 120-121; Waters K (1986) "Taking analogical inference seriously: Darwin's argument from artificial selection". *PSA: Proceedings of the Biennial Meeting of the Philosophy of Science Association* 1: 502-513; Recker D (1987) "Causal efficacy: the structure of Darwin's argument strategy in the origin of species". *Philosophy of Science* 54: 147-175; Gayon J (2009) "Mort ou persistance du darwinisme? Regard d'un épistémologue". *Comptes Rendues Palevol* 8: 321-340.

We can now dress a second conclusion: a theory can be identified through its ability to explain independent facts. We can now use it to address the very question “is their theory of development in developmental biology today?”

The cancer stem cell theory

We claim that there are theories of development in developmental biology. The cancer stem cell theory is a convincing proof of concept. It is however almost never presented as such, but we will show that:

1. It fits the usual description of a scientific theory as a set of explanations and predictions.
2. It satisfies our criterion of identification of theories. That is to say it explains independent classes of facts.

“Cancer stem cell” is a concept that has gained major influence in oncology during the past two decades (see chapter 1). A cancer stem cell has been defined as a cancer cell that possesses stemness properties, capacity of long-term self-renewal and differentiation potency (ability to give rise to different kinds of cells). In other words, cancer stem cells are cells that are both cancerous and stem.

The consensus definition of a cancer stem cell that was arrived at in this Workshop is a cell within a tumor that possesses the capacity to self-renew and to cause the heterogeneous lineages of cancer cells that comprise the tumor⁷⁵².

Concomitantly to the concept of CSC, biologists have framed a theory of carcinogenesis and more generally of the developmental biology of cancers. Researchers do not however demand recognition of the status of theory for it. Indeed it has been indifferently described as a theory⁷⁵³, a model⁷⁵⁴, or a hypothesis⁷⁵⁵. We will show that it is definitely a theory.

⁷⁵² Clarke MF, Dick JE, Dirks PB, Eaves CJ, Jamieson CH, Jones DL, Visvader J, Weissman IL and Wahl GM (2006) « Cancer stem cells--perspectives on current status and future directions: AACR Workshop on cancer stem cells » *Cancer Res* 66(19): 9339-9344, see p. 9340.

⁷⁵³ Tai MH, Chang CC, Kiupel M, Webster JD, Olson LK and Trosko JE (2005) « Oct4 expression in adult human stem cells: evidence in support of the stem cell theory of carcinogenesis » *Carcinogenesis* 26(2): 495-502; Gil J, Stembalska A, Pesz KA and Sasiadek MM (2008) « Cancer stem cells: the theory and perspectives in cancer therapy » *J Appl Genet* 49(2): 193-199; Yoo MH and Hatfield DL (2008) « The cancer stem cell theory: is it correct? » *Mol Cells* 26(5): 514-516; Dewi DL, Ishii H, Kano Y, Nishikawa S, Haraguchi N, Sakai D, Satoh T,

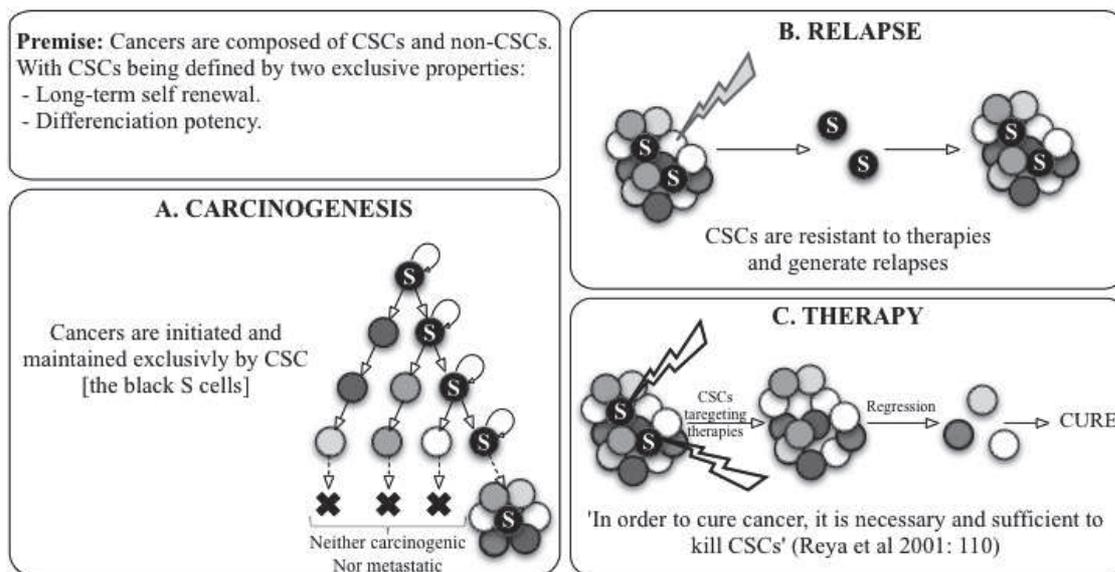


Figure 2. The cancer stem cell theory. The cancer stem cell theory relies on one premise (upper left box): the very existence of cancer stem cells (CSC). Black circles containing a 'S' represent CSCs. Other grey scale circles are heterogeneous cancer non-stem cells. The grey thunderbolt represents any classical radio- or chemotherapy. The black and white thunderbolts represent hypothetical CSCs targeting therapies. The CSC theory provides three major kind of explanations and/or predictions, all represented by abstracted drawing models. A. is the model of carcinogenesis according the CSC theory; B. is the model of relapse after apparently successful therapies; and C. is a model of the only efficient possible therapy under the CSC theory. Drawings are inspired by the numerous one published by the CSC theory proponents.

The cancer stem cell theory is composed of three models (representational models of the empiric sciences as defined by Giere⁷⁵⁶) (represented in Figure 2):

1. A model of carcinogenesis

Doki Y and Mori M (2011) « Cancer stem cell theory in gastrointestinal malignancies: recent progress and upcoming challenges » *J Gastroenterol* 46(10): 1145-1157; Li Y, Wicha MS, Schwartz SJ and Sun D (2011) « Implications of cancer stem cell theory for cancer chemoprevention by natural dietary compounds » *J Nutr Biochem* 22(9): 799-806.

⁷⁵⁴ Dalerba P, Cho RW and Clarke MF (2007) « Cancer stem cells: models and concepts » *Annu Rev Med* 58: 267-284; McClellan JS and Majeti R (2012) « The cancer stem cell model: B cell acute lymphoblastic leukaemia breaks the mould » *EMBO Mol Med*; Vermeulen L, de Sousa e Melo F, Richel DJ and Medema JP (2012) « The developing cancer stem-cell model: clinical challenges and opportunities » *Lancet Oncol* 13(2): e83-89.

⁷⁵⁵ Tan BT, Park CY, Ailles LE and Weissman IL (2006) « The cancer stem cell hypothesis: a work in progress » *Lab Invest* 86(12): 1203-1207; Shipitsin M and Polyak K (2008) « The cancer stem cell hypothesis: in search of definitions, markers, and relevance » *Lab Invest* 88(5): 459-463; Gespach C (2010) « Stem cells and colon cancer: the questionable cancer stem cell hypothesis » *Gastroenterol Clin Biol* 34(12): 653-661; Hemmings C (2010) « The elaboration of a critical framework for understanding cancer: the cancer stem cell hypothesis » *Pathology* 42(2): 105-112; Morrison R, Schleicher SM, Sun Y, Niermann KJ, Kim S, Spratt DE, Chung CH and Lu B (2011) « Targeting the mechanisms of resistance to chemotherapy and radiotherapy with the cancer stem cell hypothesis » *J Oncol* 2011: 941876; Rahman M, Deleyrolle L, Vedam-Mai V, Azari H, Abd-El-Barr M and Reynolds BA (2011) « The cancer stem cell hypothesis: failures and pitfalls » *Neurosurgery* 68(2): 531-545.

⁷⁵⁶ Giere RN (1988) *Explaining Science: A Cognitive Approach*. Chicago: Chicago University Press.

2. A model of relapse
3. A model of therapy

These models are based on a central double premise: cancers comprise CSCs (cancer cells with stemness properties) but not every cancer cell is a CSC. CSCs are even considered as a very small subpopulation of cancer cells. Evidences are building up about the coexistence of numerous non-CSCs and rare CSCs in a growing numbers of cancers⁷⁵⁷. The three models are abstracted representations of the explanations and predictions of the CSC theory based on that premise.

The CSC theory differs from the classical view in that it ascribes the stemness properties to a discrete population of cells (the CSCs), whereas the classical view considers that self-renewal and differentiation potency are stochastic properties that virtually any cancer cell can express (with a low but approximately equal probability).

The CSC theory is a set of explanations and predictions.

According to the premise, among the cancer cells only the CSCs are capable of long-term self-renewal and of generating all the different types of cells comprised by the malignant tumor. This provides explanations for:

- E1: Low clonogenicity of cancer cell populations
- E2: Heterogeneity of the cells composing the tumors
- E3: Presence of non-metastatic cancer cell at a distance from the primary tumor
- E4: Relapses after apparently successful therapies

And predictions for:

- P1: Long-term therapeutic failure of drugs that do not eliminate all the CSCs
- P2: Long-term success of CSCs targeting therapies

E1: Low clonogenicity

Clonogenicity refers to the ability of a cell to divide and to grow an entire population, named “clone” or “clonal population”. Cancer cells are known to be poorly

⁷⁵⁷ For a review, see: Nguyen LV, Vanner R, Dirks P and Eaves CJ (2012) « Cancer stem cells: an evolving concept » *Nat Rev Cancer* 12(2): 133-143.

clonogenic. When populations of cancer cells are cultured, only a few of them produce clones. A low stochastic ability to produce clone at the cell level: classically explained this characteristic.

Cancer cells of many different phenotypes have the potential to proliferate extensively, but any one cell would have a low probability of exhibiting this potential in an assay of clonogenicity or tumorigenicity⁷⁵⁸.

The cancer stem cell theory explains this low clonogenicity differently. First, only the CSCs are capable of long-term self-renewal and differentiation. Therefore, only these cells are really clonogenic. Second, CSCs are very few in number, which explains the low clonogenicity at the population level.

E2: Heterogeneity

Although differentiation is often partial in cancers, these comprise heterogeneous populations of cancer cells. This heterogeneity is usually explained by mutation and selection, through the ‘clonal evolution’ model developed by Nowell⁷⁵⁹. In the cancer stem cell theory, heterogeneity of the cancer cells is a direct consequence of the differentiation potency of the CSCs, as it is the case in non-pathologic development.

E3: Non-metastatic cells

Since the 1950s, researchers have shown that “cancer cells exfoliate into body fluids, including blood and lymph, in a very high percentage of patients”, but that “not all disseminated cells develop into metastases and [...] in many patients none produce metastatic lesions”⁷⁶⁰. The frequent failure of disseminated cancer cells to develop metastases is usually explained by the postulated efficacy of the immune system against a limited number of cancer cells⁷⁶¹. Under the CSC theory, this phenomenon falls under the same explanation as that for low clonogenicity: an exfoliated cancer cell can produce a

⁷⁵⁸ Reya T, Morrison SJ, Clarke MF and Weissman IL (2001) « Stem cells, cancer, and cancer stem cells » *Nature* 414(6859): 105-111, see p. 109.

⁷⁵⁹ Nowell PC (1976) « The clonal evolution of tumor cell populations » *Science* 194(4260): 23-28.

⁷⁶⁰ Southam CM and Brunschwig A (1961) « Quantitative studies of autotransplantation of human cancer. Preliminary report » *Cancer* 14(5): 971-978, see p. 971.

⁷⁶¹ See : Southam CM and Brunschwig A (1961) « Quantitative studies of autotransplantation of human cancer. Preliminary report » *Cancer* 14(5): 971-978 ; Reya T, Morrison SJ, Clarke MF and Weissman IL (2001) « Stem cells, cancer, and cancer stem cells » *Nature* 414(6859): 105-111.

metastasis if and only if it is a CSC. But many disseminated cells are not CSCs as they are rare⁷⁶².

E4: Relapses

After apparently successful therapies, patients are declared in ‘remission’. Regrettably, relapses often occur. These relapses grow from even a very small number of primary cancer cells that have escaped the therapies. It is claimed that their escape is due to an evolutionary phenomenon of variation and selection (mutations being frequent in cancers). Drugs exert a selective pressure from which few cells might stochastically escape through accumulation of favorable mutations that confer to them “multiple drug resistance”⁷⁶³. Note that explanation E4 is incompatible with E1 and E3, in the classical view. According to E1, the probability that one or a few cells initiate a tumor is very low. Thus relapses should be very rare which, unfortunately, is not the case. Therefore, E1 and E4 are mutually exclusive. According to E3 the immune system is very efficient against one or a few cancer cells. Thus, one should predict that if a few cells remain after an ostensible effective radio- or chemotherapy, the immune system should eliminate them. Relapses, then, should be very rare after effective therapies, which again is not the case. Therefore, E3 and E4 also contradict each other.

Under CSC theory, the resistance of CSCs explains relapses. CSCs are (the only cells) able to initiate, maintain and propagate cancers. Thus one CSC’s resistance is sufficient for a relapse. Explanation for the higher resistance of CSC was first only hypothetical and relied on an analogy with normal stem cells.

It seems that normal stem cells from various tissues tend to be more resistant to chemotherapeutics than mature cell types from the same tissues. The reasons for this are not clear, but may relate to high levels of expression of anti-apoptotic proteins or ABC transporters such as the multidrug resistance gene. If the same were true of cancer stem cells, then one would predict that these cells would be more resistant to chemotherapeutics than tumour cells with limited proliferative potential. Even therapies that cause complete

⁷⁶² Reya T, Morrison SJ, Clarke MF and Weissman IL (2001) « Stem cells, cancer, and cancer stem cells » *Nature* 414(6859): 105-111, see p. 109.

⁷⁶³ Persidis A (1999) « Cancer multidrug resistance » *Nat Biotechnol* 17(1): 94-95.

regression of tumours might spare enough cancer stem cells to allow regrowth of the tumours⁷⁶⁴.

Since then, biologists have ascertained that CSCs are more resistant than non-CSCs to radio- and chemotherapies⁷⁶⁵. Explanation of this phenomenon often remains unclear⁷⁶⁶. However, if CSCs are resistant to therapies, then relapses become a very predictable outcome.

P1: Failure

The CSC theory predicts that any therapy that misses CSCs runs a high risk of relapse in the long term. This prediction is directly linked to a reciprocal prediction on the efficiency of any therapy against cancers.

Note that the prediction of therapeutic failure by the CSC applies to the ‘relapses after apparently successful therapies’. Direct failures of therapies to cure cancers are very distinct from long-term failures after a period of remission. The apparent successfulness of therapies is critical to both E4 and P1, since multiple other factors, independent (at least to a certain degree from CSCs), can explain direct failures.

P2: successful therapies

⁷⁶⁴Reya T, Morrison SJ, Clarke MF and Weissman IL (2001) « Stem cells, cancer, and cancer stem cells » *Nature* 414(6859): 105-111, see p. 110.

⁷⁶⁵Bao S, Wu Q, McLendon RE, Hao Y, Shi Q, Hjelmeland AB, Dewhirst MW, Bigner DD and Rich JN (2006) « Glioma stem cells promote radioresistance by preferential activation of the DNA damage response » *Nature* 444(7120): 756-760; Woodward WA, Chen MS, Behbod F, Alfaro MP, Buchholz TA and Rosen JM (2007) « WNT/beta-catenin mediates radiation resistance of mouse mammary progenitor cells » *Proc Natl Acad Sci U S A* 104(2): 618-623; Dylla SJ, Beviglia L, Park IK, Chartier C, Raval J, Ngan L, Pickell K, Aguilar J, Lazetic S, Smith-Berdan S, Clarke MF, Hoey T, Lewicki J and Gurney AL (2008) « Colorectal cancer stem cells are enriched in xenogeneic tumors following chemotherapy » *PLoS One* 3(6): e2428; Li X, Lewis MT, Huang J, Gutierrez C, Osborne CK, Wu MF, Hilsenbeck SG, Pavlick A, Zhang X, Chamness GC, Wong H, Rosen J and Chang JC (2008) « Intrinsic resistance of tumorigenic breast cancer cells to chemotherapy » *J Natl Cancer Inst* 100(9): 672-679; Ma S, Lee TK, Zheng BJ, Chan KW and Guan XY (2008) « CD133+ HCC cancer stem cells confer chemoresistance by preferential expression of the Akt/PKB survival pathway » *Oncogene* 27(12): 1749-1758; for reviews, see Dean M, Fojo T and Bates S (2005) « Tumour stem cells and drug resistance » *Nat Rev Cancer* 5(4): 275-284; Alison MR, Lim SM and Nicholson LJ (2011) « Cancer stem cells: problems for therapy? » *J Pathol* 223(2): 147-161.

⁷⁶⁶For example, see: Buczaccki S, Davies RJ and Winton DJ (2011) « Stem cells, quiescence and rectal carcinoma: an unexplored relationship and potential therapeutic target » *Br J Cancer* 105(9): 1253-1259, see p. 1254.

The proponents of the CSC theory argue that “in order to cure cancer, it is necessary and sufficient to kill cancer stem cells” (Reya *et al.* 2001: 110). Indeed, the CSCs are the only cell able to self-renew and differentiate, and thus the only cell able to replenish the tumor. Since the 1950s, we know that there are turnovers and cell-death in cancers as in non-pathological tissues (Astaldi and Mauri 1953; Killmann *et al.* 1962). Hence, if all the CSCs of a given cancer are eliminated, then the cancer will not be able to replenish and will consequently progressively disappear through death of the cancer non-stem cells. This, in return, will guarantee a definitive healing (for a criticism of this part of the theory see chapter 8).

The long-term aspect of prediction P1 and P2 is of critical importance. First, healing is arbitrarily declared after a five-year period of remission, and statistics on survival are generally based on the same duration. Yet cancer stem cells, in particular if they are quiescent, could lead to a relapse much later. Second, evaluation of the efficiency of therapies against solid cancers (RECIST) consists in testing their ability to *rapidly* shrink the tumor (Therasse *et al.* 2000; Eisenhauer 2009).

Short-term decrease in tumour volume seems to be unrelated to the effect of the drug on the CSC population. It is possible that drugs causing radiological complete remission do not affect CSCs, which then cause rapid recurrence or new metastasis. Conversely, therapeutic interventions that show no evidence of inducing radiological response, or that show short-term progression of the disease, might be very successful in eliminating the clonogenic core of the malignancy and preventing metastasis. Therefore, drugs that make it to phase 3 clinical testing might have only induced a cosmetic response of the tumour in phase 2, and potentially potent agents are discarded when they fail to induce rapid tumour shrinkage even if they have successfully eliminated the CSC population⁷⁶⁷.

We have shown that the CSC theory is a set of explanations and predictions, but this is not sufficient to establish that we are in the presence of a real theory and not a mere scientific hypothesis.

The CSC theory explains independent facts.

⁷⁶⁷ Vermeulen L, de Sousa e Melo F, Richel DJ and Medema JP (2012) « The developing cancer stem-cell model: clinical challenges and opportunities » *Lancet Oncol* 13(2): e83-89, see p. e87; see also Rivera S, Rivera C, Loriot Y, Hennequin C, Vozenin MC and Deutsch E (2011) « Cellules souches cancéreuses: nouvelle cible thérapeutique dans le traitement des cancers bronchopulmonaires » *Cancer Radiother* 15(5): 355-364.

Our description of the explanations and predictions of the CSC theory shows that they focus on independent facts (as interpreted above). Indeed, before the elaboration of the CSC theory, distinct causes explained low clonogenicity of cancer cell populations, heterogeneity of the cells composing the tumors, presence of non-metastatic cells at distance from the site of the primary tumor, and relapses after apparently successful therapies. The CSC theory reveals a common causal identity. We can draw two conclusions. First, the CSC theory fulfills our Darwin-Gayon criterion of distinction between theories and non-theories (illustrated in Figure 3). The CSC theory really is a theory. Second, there was previously no theory of equivalent scope, if any, in developmental biology of cancers.

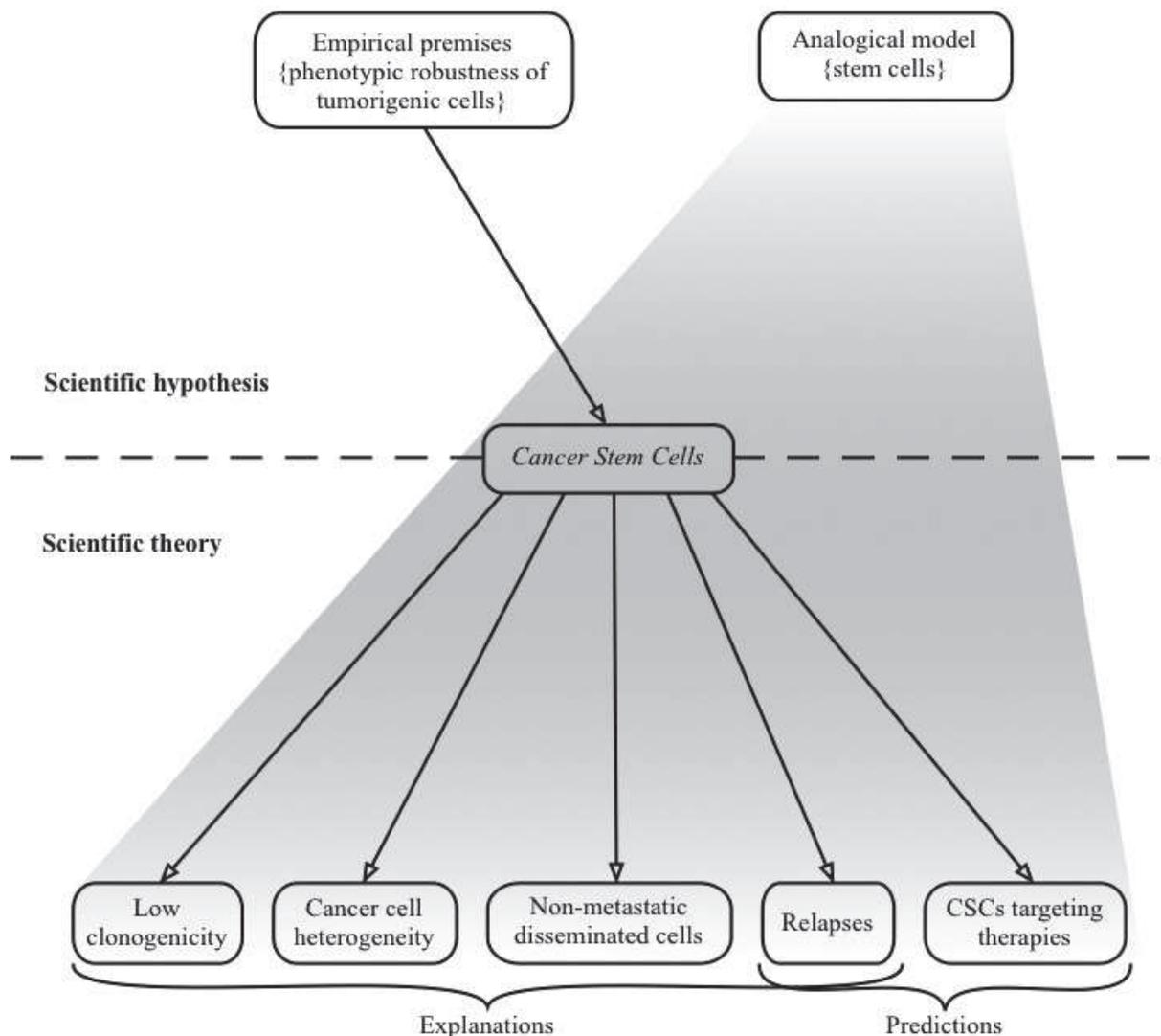


Figure 3. The cancer stem cell theory fits our interpretation of Darwin-Gayon's diagram.

The CSC theory benefits from the powerful transversal criterion of analogical model.

The CSC theory is strongly linked, at any level, with a strong analogical model, namely the non-pathologic stem cell. Stem cells, as cancer stem cells, are capable of long-term self-renewal and differentiation. These features empower them with high clonogenicity whereas non-stem cells are poorly clonal. Low clonogenicity of cells at the cell population level has been proven to be due to this deterministic (and not stochastic) distribution of the ability to produce clones. This provides a strong analogy for E1 and E3 since ability to produce a metastasis requires the ability to produce a clone. Their differentiation potency is the source of the production of the different kind of cells making up the tissues (rather than mutations). This provides an analogical model of E2. Stem cells also provide a powerful analogical model of E4, P1 and P2 through their ability to self-renew and differentiate and their capacity to escape radio- and chemotherapies. First, by their capacity to self-renew and differentiate, stem cells are able to reproduce their tissues. This usually explains homeostasis of tissues with high turnover, reparations of tissues after little to huge injuries (depending on the species and types of stem cells) and transplantations. This provides an analogy for the relapse phenomenon. Second, stem cells are resistant to radio- and chemotherapies, a mandatory condition, since otherwise the patient would die. But scientists have shown that stem cells have mechanisms allowing them to resist therapies such as production of anti-apoptotic proteins, quiescence, increased capacity for DNA damages, high drug efflux capacity, and low concentration of ROS proteins. This analogical model plays a major role in the explanation of relapses and long-term failures of the classical therapies through CSCs. Thus the CSC theory, aside from being a true scientific theory, benefits from a particularly powerful analogical model (Figure 3)

Conclusions and perspectives

Discussions over the actual and potential existence of theories of development (and more generally of theories in biology) are biased by (1) the vagueness of the definition of scientific theory, (2) the latent idea that the syntactic and/or semantic conceptions of scientific theories provide us definitions of them. There are no rigorous definitions of theories. We have shown that not only the syntactic and semantic conceptions of theories do not aim to provide any specific definitions of theories, but also that they cannot provide adequate tools to distinguish theories from non-theories in sciences. Our aim was not to produce any adequate definition of scientific theories, but to find empirically useful criteria

to identify existing theories in a particular field of biology. We claim that a particular interpretation of the *vera causa* principle offers such a criterion. According to Gayon's analysis of Darwin's use and interpretation of the *vera causa* principle, a true theory can be distinguished from a mere hypothesis by its ability to explain independent facts. This, as already said, is not sufficient to define theories but it provides a very useful and empirically usable tool to discern existing theories.

Through the use of our identification criterion, we have shown that there is already at least one theory of development, which is the cancer stem cell theory of development of cancers. This theory basically matches the fuzzy conception of theories as sets of explanations and prediction. It also answers positively to our specific criterion. Indeed, it explains facts as different as low clonogenicity of cancer cells at the population level, heterogeneity of the cells composing the tumors, presence of non-metastatic cells at a distance from the sites of the primary tumors and relapse after apparently successful therapies.

Our tool has the two major advantages of simplicity and being operational. We think that it could be very helpful for the first empirical task to recognize scientific theories where they exist.

Annexe 2 : Les adamantinomes

La théorie de Julius Cohnheim a été souvent discutée durant la première moitié du XX^{ème} siècle. Elle représentait une alternative aux théories des origines parasitiques et chimiques des cancers qui émergeaient alors et qui rencontrèrent un succès croissant. Cette théorie de l'origine des tumeurs et cancers a néanmoins disparu rapidement à l'exception de deux cas notables de cancers : les adamantinomes du tibia et les tératocarcinomes. L'examen de ces deux formes de cancers permet de lier la théorie des restes embryonnaires à celle des cellules souches cancéreuses, notamment à travers la caractérisation des cellules d'origine comme des cellules de type souche.

Le cas des adamantinomes représente un prolongement passionnant du problème rencontré à partir de 1850 pour expliquer des cancers hétéroplastiques contredisant la théorie des feuilletts embryonnaires. Ce problème et la solution proposée par Robert Remak et Julius Cohnheim ont véritablement traversé le XX^{ème} siècle et sont toujours d'actualité. Cette persistance s'est toutefois faite en parfaite indépendance par rapport à l'émergence de la théorie des CSC, raison pour laquelle le cas des adamantinomes n'est exposé qu'en annexe.

L'adamantinome⁷⁶⁸ est une catégorie de cancers composés de cellules de type épithélial qui ressemblent à celles de l'organe de l'émail⁷⁶⁹ présent chez le fœtus humain d'environ quatre mois. Ils affectent essentiellement la mâchoire mais peuvent aussi être observés dans d'autres parties du corps, en particulier dans l'hypophyse (adamantinome hypophysaire) et dans les os, notamment dans le tibia (adamantinome du tibia). Pour chacune de ces trois localisations, les adamantinomes ont soulevé des interrogations quant à l'origine des cellules épithéliales qui les composent. Le problème est le même que celui qui a poussé Robert Remak à suggérer l'hypothèse des restes embryonnaires⁷⁷⁰. En l'absence de source de cellules épithéliales comment expliquer l'apparition de tels cancers ? Face à cette énigme, l'hypothèse de restes embryonnaires déplacés est restée sinon dominante, au moins importante, tout au long du XX^{ème} siècle.

⁷⁶⁸ Sur les différents noms qui ont été donnés à ces cancers voir : Schulenburg CA (1951) « Adamantinoma ». *Ann R Coll Surg Engl* 8(5): 329-353.

⁷⁶⁹ L'organe de l'émail contient les cellules qui seront à l'origine de la production de la dent, et en particulier de l'émail. On y distingue trois parties : l'épithélium adamantin interne, l'épithélium adamantin externe et la strate intermédiaire.

⁷⁷⁰ Il est d'ailleurs tout à fait possible que la tumeur épithéliale de l'os décrite par Rudolph Virchow soit un cas d'adamantinome du tibia.

Dès 1885, le médecin français Charles-Louis Malassez, titulaire d'une chaire d'anatomie au collège de France, discutait les hypothèses respectives de Rudolph Virchow (origine dans les tissus conjonctifs) et de Robert Remak puis Julius Cohnheim (restes embryonnaires) à propos de l'origine d'adamantinomes de la mâchoire⁷⁷¹.

Quelle est l'origine de telles productions épithéliales ? Inutile, je pense, de discuter une « genèse » ou bien une transformation de cellules conjonctives en cellules épithéliales. [...] Ce seraient des débris épithéliaux paradentaires qui, s'étant trouvés sur le lieu de développement d'une fongosité radulaire et subissant l'influence du processus inflammatoire, seraient venus s'appliquer contre la dent⁷⁷².

Charles-Louis Malassez rejette l'hypothèse de Rudolph Virchow au profit de celle qu'il attribue à Julius Cohnheim en s'appuyant sur l'identification de « débris épithéliaux paradentaires » dans les mâchoires adultes. Il décrit ces « débris épithéliaux » comme « des essais avortés de dentition, souvenir lointain de quelque disposition ancestrale. [...] Beaucoup de germes dentaires naîtraient, mais n'aboutiraient que ceux qui, favorisés par le sort, se sont trouvés dans de bonnes conditions de développement⁷⁷³ ». Jusqu'à lors, l'organe de l'émail était considéré présent chez l'humain⁷⁷⁴ seulement pendant une courte période embryonnaire et il était admis que « lorsque sa fonction est achevée, il s'atrophie et disparaît »⁷⁷⁵. En démontrant la persistance de cellules de cet organe, Charles-Louis Malassez dévoilait une source en cellules épithéliales à partir desquelles pouvaient se développer ces cancers. L'observation de ces « débris épithéliaux » fut considérée comme

⁷⁷¹ Avant lui, le docteur Louis-Félix-Émile Magitot avait soutenu dès 1859 une hypothèse proche de celle de Robert Remak pour les adamantinomes de la machoire, à savoir une localisation erronée d'épithélium au sein du tissu périostal. Magitot E (1860) *Mémoire sur les tumeurs du périoste dentaire. Lu à la Société de chirurgie de Paris, dans la séance du 13 avril 1859.* Paris : J-B Baillière, p. 13, 14.

⁷⁷² Malassez L-C (1885) « Sur le rôle des débris épithéliaux paradentaires » *Archives de Physiologie Normale et pathologique*. 3^{ème} série, Tome 5(4) : 309-340, ici p. 317, voir aussi p. 325.

⁷⁷³ Malassez L-C (1885) « Sur l'existence d'amas épithéliaux autour de la racine des dents chez l'homme adulte et à l'état normal (débris épithéliaux paradentaires) » *Archives de Physiologie normale et pathologique*, 3^{ème} série (V) : 129-148, ici p. 137

⁷⁷⁴ La situation était clairement différente chez les rongeurs et les animaux capables de produire de nouvelles dents tout au long de leur vie.

⁷⁷⁵ Legros C et Magitot E (1879) « Morphologie de follicule dentaire chez les mammifères » *Journal de l'Anatomie*, Mai-juin : 286, voir aussi Legros C et Magitot E (1873) « Origine et formation du follicule dentaire chez les mammifères » *Journal de l'Anatomie* : 470 ; Koelliker A (1856) *Eléments d'histologie humaine*, traduction de Béclard J et Sée M. Paris : Victor Masson, p. 494 et Koelliker A (1882) *Embryologie ou traité complet du développement de l'homme et des animaux supérieurs*, traduction par Schneider A. Paris : C Reinwald, p. 832.

un argument majeur en faveur de l'hypothèse des restes embryonnaires pour les adamantinomes de la mâchoire⁷⁷⁶.

Jakob Erdheim en 1903, puis Bernhard Fischer en 1913, observèrent des cas de cancers histologiquement très similaires aux adamantinomes, le premier dans l'hypophyse (Figure 67 A), le second dans le tibia. En raison de cette proximité ils les nommèrent respectivement « adamantinome hypophysaire » et « adamantinome du tibia ». Tous deux, face au mystère de l'origine de ces cancers épithéliaux, ont défendu l'hypothèse des restes embryonnaires.

Selon Jakob Erdheim les adamantinomes de la région hypophysaire proviendraient de « restes de cellules épithéliales » qui auraient été délocalisées lors de la formation de l'hypophyse⁷⁷⁷. Cette dernière se forme dans l'embryon par évagination à partir d'une source en cellules épithéliales ectodermiques (Figure 67 B). Il est donc possible qu'un nid de cellules épithéliales embryonnaires surnuméraires ait migré lors de cette invagination (entourées en rouge dans la Figure 67 B). De telles cellules pourraient ensuite donner naissance à ces adamantinomes.

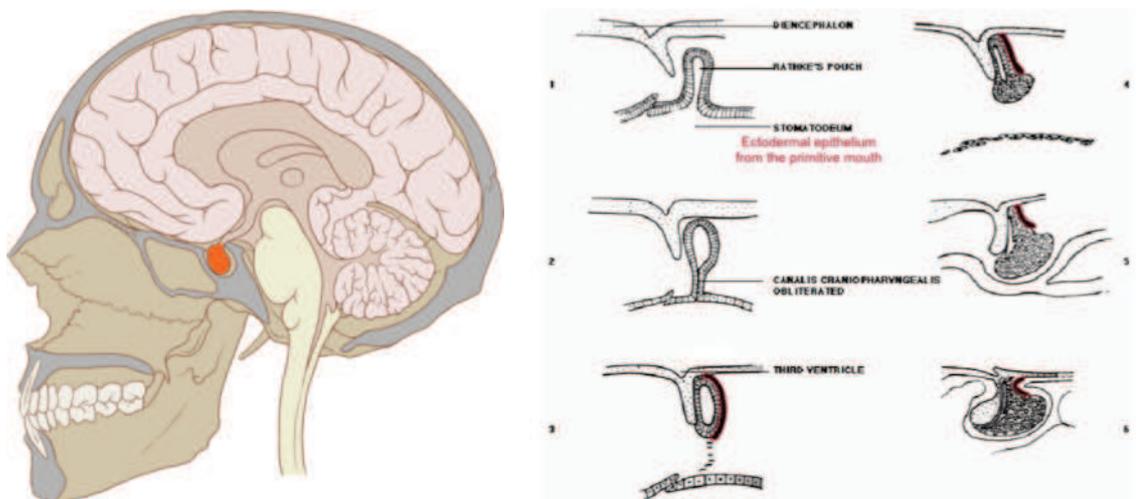


Figure 67. Hypophyse. (A) Schéma de l'hypophyse chez l'adulte⁷⁷⁸. (B) Formation de l'hypophyse par évagination. Entourée en rouge, la zone susceptible de contenir des restes embryonnaires épithéliaux⁷⁷⁹. Adapté depuis Lindholm & Nielsen 2009.

⁷⁷⁶ Charles-Louis Malassez a d'ailleurs laissé son nom à une sous-population de cellules du ligament alvéolo-dentaire (un ligament compris entre la racine de la dent et l'os alvéolaire) que l'on appelle « restes épithéliaux de Malassez ».

⁷⁷⁷ Erdheim J (1903) « Zur normalen und pathologischen Histologie der Olanthula thyreoidea, parathyreoidea und Hypophysis » *Beiträge zur path. Anat. u. z. allg. Path.* 33: 158-234.

Erdheim J (1904) « Über Hypophysengangeschwülste und Hirncholesteatome ». *Sitzber math-naturwiss Klasse Kais Akad Wissenschaft* 113(Abteil II): 537-726

⁷⁷⁸ Dessin de Patrick J. Lynch. wikipedia : Hypophyse. 15/01/2013.

⁷⁷⁹ Adapté depuis : Lindholm J and Nielsen EH (2009) « Craniopharyngioma: historical notes » *Pituitary* 12(4): 352-359 (ici, Figure 4, p. 355). Légende : « Development of the hypophysis. The

Selon Bernhard Fischer, les adamantinomes du tibia proviendraient de « germes épithéliaux embryonnaires » restés présents dans l'organisme adulte⁷⁸⁰. Il s'oppose néanmoins à l'idée que ces germes proviendraient de l'organe de l'émail, tournant au ridicule l'idée que le fœtus se serait mordu le tibia. Selon lui, l'ensemble de l'épithélium de l'embryon disposerait d'un large potentiel de différenciation, dont celui de l'émail qui ne serait pas spécifique aux cellules de l'organe de l'émail. L'épithélium adulte, en revanche, aurait perdu ce potentiel. Ainsi, Bernhard Fischer considère les caractéristiques histologiques des adamantinomes du tibia comme une preuve de leur origine à partir de restes embryonnaires, les seules cellules à pouvoir produire de tels néoplasmes.

Jusqu'au milieu du XX^{ème} siècle l'hypothèse d'une origine des adamantinomes de la mâchoire, de l'hypophyse et des os dans des restes embryonnaires a été massivement soutenue. Les adamantinomes hypophysaires représentent, de loin, la plus grosse masse de publications. On y retrouve l'hypothèse des restes embryonnaires chez Dean Lewis en 1910⁷⁸¹, chez William Duffy qui écrivait en 1920 que « la région de l'hypophyse [...] est particulièrement riche en reliques vestigiales dont on peut considérer qu'ils possèdent à la fois des possibilités fonctionnelles et la capacité de produire des tumeurs »⁷⁸², chez MacDonald Critchley et Redvers Ironside en 1926⁷⁸³, chez l'embryologiste Wayne Atwell la même année⁷⁸⁴, chez Joseph McFarland et HM Patterson en 1931 ou encore dans l'ouvrage du pathologiste Harvey Cushing en 1932⁷⁸⁵. Des restes embryonnaires épithéliaux ont été identifiés dans la région de l'hypophyse par Edmond Cowdry (1928)⁷⁸⁶, Hugh Carmichael(1931)⁷⁸⁷ ou encore William Susman (1932)⁷⁸⁸. A la suite de leur identification,

heavy black line shows how the cells of the anterior wall of the craniopharyngeal duct eventually are situated on the anterior surface of anterior lobe and infundibulum ».

⁷⁸⁰ Fischer B (1913) « Ueber ein primäeres Adamantinom der Tibia » *Frankfurt. Z. Path.* 12: 422-441.

⁷⁸¹ Lewis DD (1910) « A contribution to the subject of tumors of the hypophysis » *Jour of the American Medical Association* 55(12): 1002-1008.

⁷⁸² « It seems evident that the entire region of the hypophysis from the pharynx to the *processus lingualis* of the *pars intermedia* is peculiarly rich in vestigial reliquii which may be considered as possessing both functional and tumor-producing possibilities » Duffy WC (1920) « Hypophyseal duct tumors », *Ann. Surg.* 72: 537-555; 725-757, ici p. 541.

⁷⁸³ Critchley M and Ironside RN (1926) « The pituitary adamantinomata », *Brain* 49: 437-481.

⁷⁸⁴ Atwell WJ (1926) « The development of the hypophysis cerebri in man, with special reference to the *pars tuberalis* » *American Journal of Anatomy* 37(1): 159-193.

⁷⁸⁵ Cushing H (1932) *Intracranial tumors. Notes upon a series of two thousand verified cases with surgical mortality percentages pertaining thereto.* Springfield, Baltimore: Charles C Thomas, voir pp 93-98.

⁷⁸⁶ Cowdry EV (1928) *Special Cytology; The form and functions of the cell in health and disease.* New York: Hoeber, Vol. 1, voir en particulier pp. 494-495.

⁷⁸⁷ Carmichael HT (1931) « Squamous epithelial rests in hypophysis cerebri », *Arch. Neurol. & Psychiat.* 26: 966-975.

l'origine des adamantinomes hypophysaires dans ces restes embryonnaires semble établie, comme on peut le voir chez Mary Oliver et Ernest Scott (1934)⁷⁸⁹ ou WAD Drummond (1939)⁷⁹⁰.

Les adamantinomes des os, qui sont beaucoup moins fréquents, ont suscité plus de débats. Le deuxième cas identifié d'adamantinome du tibia a été celui de CS Richter, publié en 1930. Ce dernier convient que l'hypothèse d'un « déplacement de cellule épithéliales embryonnaires » permettrait d'expliquer à la fois les cas d'adamantinomes du tibia rencontré par Bernahrd Fischer et lui-même et les cas d'adamantinomes hypophysaires mais sans en être « tout à fait satisfait »⁷⁹¹. La difficulté provenait du fait que pour les adamantinomes du tibia, contrairement à ceux survenant dans la mâchoire et l'hypophyse, aucun débris ou restes embryonnaires n'avaient jamais été identifiés.

Nous ne pouvons pas la réfuter, bien sûr, mais jamais de tels débris épithéliaux embryonnaires n'ont été détectés à l'intérieur d'os long⁷⁹².

CS Richter s'interrogeait sur la validité du diagnostique et soulevait la possibilité que les adamantinomes du tibia soient en fait « des endothéliomes (tumeurs endothéliales) différenciés particuliers »⁷⁹³. Cette hypothèse avait, pour lui, l'avantage de permettre d'envisager une origine endothéliale et d'expliquer naturellement la survenance de ces cancers dans les os (qui contiennent des tissus endothéliaux), sans avoir à faire appel à une origine dans des cellules embryonnaires.

Donald Rehbock et CG Barber (1938) attestaient de la difficulté propre à ce cas d'adamantinomes :

Que des tumeurs primaires reproduisant les caractéristiques essentielles de l'organe de l'émail apparaissent dans le tiers inférieur du tibia semble bizarre. La théorie de Malassez est acceptable pour les adamantinomes de la mâchoire [...]. L'adamantinome hypophysaire prend son origine dans des

⁷⁸⁸ Susman W (1932), « Embryonic epithelial rests in the pituitary », *Brit. J. Surg.* 19: 671-670.

⁷⁸⁹ Oliver M and Scott E (1934) « Adamantinoma or ameloblastoma of the hypophyseal-duct region » *The American Journal of Cancer* 21(3): 501-516.

⁷⁹⁰ Drummond, W. A. D. (1939) « Infrassellar adamantinoma ». *Proc. Roy. Soc. Med.* 32(3): 200-207.

⁷⁹¹ Richter CS (1930) « Ein Fall von adamantinomartiger Geschwulst des Schienbeins ». *Zeitschrift für Krebsforschung* 32(1-2): 273-279, citations p. 277 et 278 respectivement.

⁷⁹² « Widerlegen können wir sie natürlich nicht, aber bisher sind auch niemals solche embryonale Epithel versprengt ins Innere der langen Röhrenknochen nachgewiesen worden » Richter CS (1930) « Ein Fall von adamantinomartiger Geschwulst des Schienbeins ». *Zeitschrift für Krebsforschung* 32(1-2): 278.

⁷⁹³ « Im Gegensatz zu Fischer wird die Möglichkeit erörtert, das die "Adamantinome" des Unterschenkels besonders differenzierte Knochen endotheliome sind, wodurch sich ihre merkwürdige Lokalisation ungezwungen erklären lässt ». Richter CS (1930) « Ein Fall von adamantinomartiger Geschwulst des Schienbeins ». *Zeitschrift für Krebsforschung* 32(1-2): 279.

restes épithéliaux du canal hypophysaire. Cependant, l'origine de cette tumeur du tibia est moins clairement expliquée⁷⁹⁴.

L'hypothèse des restes embryonnaires a toutefois reçu le soutien d'Alfreda Baker et LM Hawkey (1931), bien qu'ils s'en remettaient aux embryologistes pour obtenir des preuves plus probantes⁷⁹⁵. On la retrouve en 1938 chez Benjamin Wolfort et David Sloane⁷⁹⁶, en 1939 chez John Rankin, qui la trouve plus plausible que celle d'un traumatisme⁷⁹⁷, chez Edward Zegarelli en 1944⁷⁹⁸ ou encore chez CA Schulenburg en 1951⁷⁹⁹. Le manuel de cancérologie *Neoplastic Disease*, de James Ewing, offre un indice de l'importance de l'hypothèse des restes embryonnaires à cette époque. Au chapitre VI, réservé aux théories sur le cancer, elle figure en première place, sous le nom de « théorie embryonnaire » :

La théorie embryonnaire moderne a trouvé sa forme la plus complète chez Cohnheim dont la conception originelle était efficacement soutenue par ses propres observations et a été régulièrement renforcée par de très nombreuses contributions provenant de nombreuses sources durant les quarante dernières années. Bien que l'application de cette théorie ne soit pas universelle, le fait que les cellules embryonnaires possèdent plus que toutes autres cellules les facteurs essentiels à la croissance d'une tumeur est probablement le fait le plus important parmi nos connaissances de la genèse des tumeurs⁸⁰⁰.

⁷⁹⁴ « That a tumor producing the essential features of the enamel organ should occur as a primary tumor in the lower third of the tibia seems bizarre. Malassez's theory as to the origin of the adamantinoma of the jaw is acceptable, as is pointed out by McFarland and Patterson in their thorough review of the subject of adamantinomata. According to this theory, the tumor in the jaw arises from atrophic or isolated groups of epithelial cells about the roots of the teeth. The adamantinoma of the hypophysis originates in epithelial remnants of the hypophysal duct. The origin of this tumor of the tibia, however, is less clearly explained. » Rehbock DJ & Barber CG (1938) « Adamantinoma of Tibia. Report of a Case. » *The Journal of Bone and Joint Surgery* 20(1): 187-192. Ici p. 191.

⁷⁹⁵ Baker AH and Hawkey LM (1931) « A case of primary adamantinoma of the tibia » *The British Journal of Surgery* 18: 415-421.

⁷⁹⁶ Wolfort B and Sloane D (1938) « Adamantinoma of the tibia. A report of two cases ». *J. Bone & Joint Surg.*, 20: 1011-1018.

⁷⁹⁷ Rankin JO (1939) « Adamantinoma of the tibia » *The Journal of Bone and Joint Surgery* 21(2): 425-432.

⁷⁹⁸ Zegarelli EV (1944) « Adamantoblastomas in the slye stock of mice » *American Journal of Pathology* 20: 23-87.

⁷⁹⁹ Schulenburg CA (1951) « Adamantinoma ». *Ann R Coll Surg Engl* 8(5): 329-353.

⁸⁰⁰ « The modern embryonal theory was placed on a comprehensive basis by Cohnheim whose original conceptions were ably supported by his own observations and have been steadily strengthened by very numerous contributions from many sources during the past forty years. While not a theory of universal application, that embryonal cells possess more than any others the essential factors of tumor growth is, perhaps, the most important single fact in our knowledge of tumor genesis » Ewing J (1940) *Neoplastic Diseases*, 4th ed. Philadelphia and London: WB Saunders (ici, p. 94).

La seule opposition réelle à cette théorie avant les années 40 est celle du pathologiste Benjamin James Ryrie. Insatisfait de l'hypothèse Cohnheimienne défendue par Bernhard Fischer à l'égard de l'étiologie des adamantinomes du tibia, il défendait qu'il était nécessaire de prendre en compte les traumatismes ayant précédé la survenue des cancers. Il a ainsi formulé, en 1932, la théorie dite de la « réparation contrariée » (*thwarted repair*). Selon cette théorie, la séquestration de cellules épithéliales vers le tibia serait l'effet d'un hématome au sein duquel la réparation serait constamment déjouée. Cela produirait un ulcère chronique qui finirait par se transformer en une croissance néoplasique⁸⁰¹. Cependant, exception faite de Malcolm Dockerty et Henry Meyerding⁸⁰² et de CE Anderson et JB Saunders⁸⁰³ en 1942, sa théorie a été peu soutenue et fortement critiquée, d'une part parce que tous les cas d'adamantinomes du tibia ne semblent pas précédés d'un traumatisme et d'autre part parce que ces cas de cancers semblent excessivement rares par rapport à la fréquence des hématomes⁸⁰⁴.

La seconde moitié du XXème siècle présente un pattern sensiblement différent. On voit très clairement émerger, à partir de la fin des années 1940, un mouvement de contestation concernant l'origine et l'analyse histologique de ces cancers. Le premier changement de diagnostic a été celui d'Arnold Lauche, successeur de Bernahrd Fischer à la chaire d'anatomie pathologique de Francfort. Réexaminant les données de son prédécesseur, il a émis l'hypothèse que les adamantinomes du tibia seraient en fait des cas de sarcomes synoviaux, autrement dit des cancers du synovium, le tissu qui tapisse l'intérieur des articulations⁸⁰⁵. L'hypothèse a été reprise en 1954, dans deux articles paru dans la même revue, le premier de Douglas Hicks⁸⁰⁶ et le second de H Lederer et AJ

⁸⁰¹ Ryrie BJ (1932) « Adamantinoma of the Tibia: Aetiology and Pathogenesis ». *Br Med J* 2(3752): 1000-1003.

⁸⁰² Dockerty MB and Meyerding HW (1942) « Adamantinoma of the tibia. Report of 2 new cases ». *JAMA* 119: 932-937. Ces derniers soutiennent l'hypothèse d'une dédifférenciation à la suite d'un traumatisme. C'est la seule occurrence claire que nous avons trouvé dans la littérature à une hypothèse de dédifférenciation pour ces cancers.

⁸⁰³ Anderson CE and Saunders JB de CM (1942) « Primary Adamantinoma of the Ulna ». *Surgery, Gynecology and Obstetrics*, 75: 351. Spécifions que ces deux auteurs travaillent sur un cancer du cubitus (os de l'avant bras) et non du tibia, mais il s'agit dans les deux cas d'os long du squelette appendiculaire.

⁸⁰⁴ Voir par exemple : Morgan AD and Mackenzie DH (1954) « A Metastasising Adamantinoma of the Tibia » *The Journal of Bone and Joint Surgery* 38(4): 892-898.

⁸⁰⁵ Lauche A (1947) « Zur Kenntnis von Pathologie und Klinik der Geschwuelste mit synovialmembranartigem Bau (Synovialome oder synoviale Endothelio-Fibrome und -Sarkome) » *Frankfurt. Ztschr. f. Path.* 59: 2-29.

⁸⁰⁶ Hicks JD (1954) « Synovial Sarcoma of the Tibia » *J. Path. Bact.* 67: 151-161.

Sinclair⁸⁰⁷, puis, à nouveau en 1964, par l'équipe de Paul Chrenka⁸⁰⁸. Un deuxième changement de diagnostic a été suggéré en 1957. Georges Changus, JS Speed et Fred Stewart ont soutenu que toutes ces tumeurs du tibia étaient d'origine angioblastique⁸⁰⁹. Une origine néanmoins toujours localisée dans des cellules de type embryonnaire ou indifférenciées, puisque les auteurs parlaient d'*enlage* des vaisseaux sanguins (*enlage of blood vessels*). Ce diagnostic a également été soutenu par GB Elliott en 1962, dont l'article est particulièrement critique à l'égard de l'histoire du concept d'adamantinome du tibia⁸¹⁰. On le retrouve à nouveau en 1978, chez A Llombart-Bosch et G Ortuno-Pacheco⁸¹¹, puis en 1982, chez RJ Reed⁸¹². Toutefois, le diagnostic original de l'histogenèse épithéliale des adamantinomes du tibia a à nouveau été soutenu, à partir de 1968, par Jorge Albores Saavedra et ses collègues, suite à l'observation de ces tumeurs au microscope électronique⁸¹³. La même observation a été reproduite, deux ans plus tard, par Juan Rosai⁸¹⁴. Ces observations ont conduit, en 1971, Harlan Spjut et ses collègues à l'élimination des hypothèses synoviale et angioblastique (ou mésenchymateuse). Si les adamantinomes du tibia sont bien de nature épithéliale, alors deux hypothèses restent possibles, écrivaient-ils, à l'égard de leur origine :

- (1) des restes cellulaires congénitaux ; de tels restes cellulaires, cependant, n'ont jamais été identifiés dans ou autour des tibias ;
- (2) un traumatisme avec l'implantation possible de cellules basales de l'épiderme en profondeur des tissus sous-cutanés⁸¹⁵.

⁸⁰⁷ Lederer H and Sinclair AJ (1954) « Malignant Synovioma Simulating 'Adamantinoma of the Tibia' » *J Pathol Bacteriol* 67(1): 163-168.

⁸⁰⁸ Naji AF, Murphy JA, Stasney RJ, Neville WE & Chrenka P (1964) « So-called adamantinoma of long bones. Report of a case, with massive pulmonary metastasis ». *Journal of Bone Joint Surgery* 46A: 151-158.

⁸⁰⁹ Changus GW, Speed JS and Stewart F (1957) « Malignant Angioblastoma of Bone : A Reappraisal of Adamantinoma of Long Bone » *Cancer* 10(3): 540-559.

⁸¹⁰ Elliott GB (1962) « Malignant angioblastoma of long bone so-called adamantinoma ». *Journal of Bone Joint Surgery* 44B: 25-33.

⁸¹¹ Llombart-Bosch A and Ortuno-Pacheco G (1978) « Ultrastructural findings supporting the angioblastic nature of the so-called adamantinoma of the tibia ». *Histopathology* 2(3): 189-200.

⁸¹² Reed RJ (1982) « Malignant myxoid angioblastoma of bone ». *m J Surg Pathol* 6(2): 159-163.

⁸¹³ Albores Saavedra J, Diaz Gutierrez D and Altamirano Dimas M (1968) « Adamantinoma de la tibia. Observaciones ultraestructurales » *Rev. Med. Hosp. Gen. Mexico* 31: 241-252.

⁸¹⁴ Rosai J (1969) « Adamantinoma of the tibia. Electron microscopic evidence of its epithelial origin ». *Am J Clin Pathol* 51(6): 786-792.

⁸¹⁵ « (1) congenital cell rests ; such cell rests, however, have not been identified in or around the tibia ; (2) trauma with possible implantation of basal cells of the epidermis deep into the subcutaneous tissues ». Spjut HJ, Dorfman HD, Fechner RE and Andackerman LV (1971) *Tumors of Bone and Cartilage*. Fascicle 5, pp. 315-323 of *Atlas of Tumor Pathology*. 2nd edition. Washington DC, Armed Forces Institute of Pathology.

L'hypothèse épithéliale était encore soutenue en 1974, par G Kohler, JA Rossner et R Waldherr⁸¹⁶, en 1977, par Lawrence Lichtenstein, dans son manuel sur les tumeurs des os⁸¹⁷, en 1982, par Juan Rosai et Géraldine Pincus⁸¹⁸, en 1992, par l'équipe du japonais Rikuo Machinami⁸¹⁹, en 1993 par celle du néerlandais Pancras Hogendoorn⁸²⁰, en 1995, par le « groupe de travail sur les tumeurs osseuses » (*Arbeitsgemeinschaft Knochentumoren*) de Heidelberg⁸²¹ ou encore, plus récemment, par Deepali Jain et ses collègues en 2008⁸²².

Parallèlement, on trouve également des hypothèses concurrentes à celles des restes embryonnaires pour les adamantinomes hypophysaires. Ainsi, par exemple, Sarah Luse et James Kernohan⁸²³, d'une part, et Irvine Hunter⁸²⁴, d'autre part, ont suggéré, en 1955, que ces cancers proviendraient d'une métaplasie⁸²⁵ de cellules hypophysaires. Dans les manuels récents, la question de l'origine des adamantinomes hypophysaires est systématiquement présentée comme non résolue⁸²⁶.

Cet aperçu historique nous permet de montrer que l'hypothèse d'une origine des cancers dans des cellules de type embryonnaire a traversé le XX^{ème} siècle, au moins pour les adamantinomes. La référence précise à l'hypothèse des restes embryonnaires, telles qu'elle a

⁸¹⁶ Kohler G, Rossner JA & Waldherr R (1974) « Zur Struktur und Differential diagnose das sog. Tibia-Adamantinomas. Eine Light und Electronenoptische Untersuchung ». *Verh. Dtsch. Ges. Path.* 58: 454-458.

⁸¹⁷ Lichtenstein L (1977) *Bone tumors*. 5th edition. Saint Louis: Mosby.

⁸¹⁸ Rosai J and Pincus GS (1982) « Immunohistochemical demonstration of epithelial differentiation in adamantinoma of the tibia ». *Am J Surg Pathol* 6(5): 427-434.

⁸¹⁹ Ishida T, Iijima T, Kikuchi F, Kitagawa T, Tanida T, Imamura T, Machinami R (1992) « A clinicopathological and immunohistochemical study of osteofibrous dysplasia, differentiated adamantinoma, and adamantinoma of long bones ». *Skeletal Radiol* 21(8): 493-502.

⁸²⁰ Hazelbag HM, Fleuren GJ, van den Broek LJC, Taminiau AHM and Hogendoorn PCW (1993) « Adamantinoma of the long bones: Keratin subclass immunoreactivity pattern with reference to its histogenesis ». *Am J Surg Pathol* 17(12): 1225-1233.

⁸²¹ Jundt G, Remberger K, Roessner A, Schulz A, Bohndorf K (1995) « Adamantinoma of long bones. A histopathological and immunohistochemical study of 23 cases » *Pathol Res Pract* 191(2): 112-120.

⁸²² Jain D, Jain VK, Vasishta RK, Ranjan P and Kumar Y (2008) « Adamantinoma: a clinicopathological review and update ». *Diagn Pathol* 3: 8-19.

⁸²³ Luse SA, Kernohan JW (1955) « Squamous-cell nests of the pituitary gland ». *Cancer* 8(3): 623-628.

⁸²⁴ Hunter IJ (1955) « Squamous metaplasia of cells of the anterior pituitary gland ». *J Pathol Bacteriol* 69(1-2): 141-145.

⁸²⁵ Une métaplasie réfère, en anatomie pathologique, à une transformation de cellules différenciées d'un tissu en cellules différenciées d'un autre tissu.

⁸²⁶ Voir par exemple : Burger PC, Scheithauer BW, Vogel FS (2002) *Surgical pathology of the nervous system and its coverings*. New York: Churchill-Livingstone, en particulier pp 475-495 ou, plus récemment, Lopes MBS, Thapar K, Horvath E, Kowacs K (2006) « Neoplasms of the sellar region ». In McLendon RE, Rosenblum MK, Bigner DD (eds) *Russell and Rubinstein's pathology of tumors of the nervous system*, 7th edition. London: Hodder Arnold, pp 663-774.

été reprise par Julius Cohnheim, est récurrente dans la première moitié du siècle et latente dans la seconde moitié.

Bibliographie

- Abbott BL (2006) « ABCG2 (BCRP): a cytoprotectant in normal and malignant stem cells. » *Clin Adv Hematol Oncol* 4(1): 63-72.
- Abir-Am PG (ed) (1998) *La mise en mémoire de la science : pour une ethnographie historique des rites commémoratifs*. Paris : Taylor & Francis Group.
- Abou-Khalil R, Le Grand F, Pallafacchina G, Valable S, Authier Fo-Jrm, Rudnicki MA, Gherardi RK, Germain Sp, Chretien F, Sotiropoulos A, Lafuste P, Montarras D and Chazaud Bnd (2009) « Autocrine and Paracrine Angiopoietin 1/Tie-2 Signaling Promotes Muscle Satellite Cell Self-Renewal » *Cell Stem Cell* 5(3): 298-309.
- Abou-Khalil R, Partridge T, Chazaud B (2010) « Les cellules du muscle chantent en chœur une berceuse pour cellules souches » *Médecine/ Science* 26(6-7): 589-591.
- Abramson S, Miller RG and Phillips RA (1977) « The identification in adult bone marrow of pluripotent and restricted stem cells of the myeloid and lymphoid systems ». *J Exp Med* 145(6): 1567-1579.
- Ackerknecht (1953) *Rudolf Virchow: Doctor, Statesman, Anthropologist*. Madison : University of Wisconsin Press.
- Adams JM and Strasser A (2008) « Is tumor growth sustained by rare cancer stem cells or dominant clones? » *Cancer Res* 68(11): 4018-4021.
- Adolfsson J, Mansson R, Buza-Vidas N, Hultquist A, Liuba K, Jensen CT, Bryder D, Yang L, Borge OJ, Thoren LA, Anderson K, Sitnicka E, Sasaki Y, Sigvardsson M and Jacobsen SE (2005) « Identification of Flt3+ lympho-myeloid stem cells lacking erythro-megakaryocytic potential a revised road map for adult blood lineage commitment » *Cell* 121(2): 295-306.
- Agliano A, MartinPadura I, Mancuso P, Marighetti P, Rabascio C, Pruneri G, Shultz LD and Bertolini F (2008) « Human acute leukemia cells injected in NOD/LtSz-scid/IL-2Rgamma null mice generate a faster and more efficient disease compared to other NOD/scid-related strains ». *Int J Cancer* 123(9): 2222-2227.
- Aguirre-Ghiso JA (2006) « The problem of cancer dormancy: understanding the basic mechanisms and identifying therapeutic opportunities » *Cell Cycle* 5(16): 1740-1743.
- Aguirre-Ghiso JA (2007) « Models, mechanisms and clinical evidence for cancer dormancy » *Nat Rev Cancer* 7(11): 834-846.
- Akashi K, He X, Chen J, Iwasaki H, Niu C, Steenhard B, Zhang J, Haug J and Li L (2003) « Transcriptional accessibility for genes of multiple tissues and hematopoietic lineages is hierarchically controlled during early hematopoiesis » *Blood* 101(2): 383-389.
- Akashi K, Traver D, Miyamoto T and Weissman IL (2000) « A clonogenic common myeloid progenitor that gives rise to all myeloid lineages » *Nature* 404(6774): 193-197.
- Al-Assar O, Muschel RJ, Mantoni TS, McKenna WG and Brunner TB (2009) « Radiation response of cancer stem-like cells from established human cell lines after sorting for surface markers ». *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 75(4): 1216-1225.

- Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, Morrison SJ, and Clarke MF (2003), « Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells », *Proc Natl Acad Sci U S A* 100 (7): 3983-3988.
- Albini A, Cesana E and Noonan DM (2011) « Cancer stem cells and the tumor microenvironment: soloists or choral singers ». *Curr Pharm Biotechnol* 12(2): 171-181.
- Albores Saavedra J, Diaz Gutierrez D and Altamirano Dimas M (1968) « Adamantinoma de la tibia. Observaciones ultraestructurales » *Rev. Med. Hosp. Gen. Mexico* 31: 241-252.
- Alison MR, Lim SM and Nicholson LJ (2011) « Cancer stem cells: problems for therapy? » *J Pathol* 223(2): 147-161.
- Alkatout I & Kalthoff H (2008) « Tumor Stem Cells: How to Define Them and How to Find Them ? » chap 10 pp. 165-185. In Bosch TCG (Ed) *Stem Cells. From Hydra to Man*. Dordrecht, Heidelberg, London, New York: Springer.
- Allan AL (ed) (2011) *Cancer Stem Cells in Solid Tumors*. Dordrecht, Heidelberg, London, New York: Springer.
- Anastasea-Vlachou C, Cassimos C, Messaritakis J and Papadaki E (1961) « A case of stem cell leukemia occurring in an infant 38 days old ». *Ann Paediatr* 196: 310-315.
- Anderson CE and Saunders JB de CM (1942) « Primary Adamantinoma of the Ulna ». *Surgery, Gynecology and Obstetrics*, 75: 351.
- Anderson DJ, Gage FH and Weissman IL (2001) « Can stem cells cross lineage boundaries? » *Nat Med* 7(4): 393-395.
- Anderson K, Lutz C, van Delft FW, Bateman CM, Guo Y, Colman SM, Kempinski H, Moorman AV, Tittley I, Swansbury J, Kearney L, Enver T and Greaves M (2011) « Genetic variegation of clonal architecture and propagating cells in leukaemia ». *Nature* 469(7330): 356-361.
- Andrews PW (2002) « From teratocarcinomas to embryonic stem cells » *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 357(1420): 405-417.
- Anlyan AJ (1954) « Beta-Glucuronidase studies in stem-cell leukemias ». *Cancer* 7(2): 391-393.
- Arai F and Suda T (2008) « Quiescent stem cells in the niche ». In StemBook (ed), *The Stem Cell Research Community, StemBook*, doi/10.3824/stembook.1.6.1, <http://www.stembook.org>
- Arai F, Hirao A, Ohmura M, Sato H, Matsuoka S, Takubo K, Ito K, Koh GY and Suda T (2004) « Tie2/Angiopoietin-1 Signaling Regulates Hematopoietic Stem Cell Quiescence in the Bone Marrow Niche » *Cell* 118(2): 149-161.
- Arechaga J (1993) « On the boundary between development and neoplasia. An interview with professor G. Barry Pierce ». *Int. J. Dev. Biol.* 37: 5-16.
- Arinobu Y, Mizuno S, Chong Y, Shigematsu H, Iino T, Iwasaki H, Graf T, Mayfield R, Chan S, Kastner P and Akashi K (2007) « Reciprocal activation of GATA-1 and PU.1 marks initial specification of hematopoietic stem cells into myeloerythroid and myelolymphoid lineages » *Cell Stem Cell* 1(4): 416-427.
- Armstrong DM (1968) *A Materialist Theory of the Mind*. Londres : Routledge & Kegan Paul.
- Aschoff L, Küster E and Schmidt WJ (1938) *Hundert Jahre Zellforschung*. Berlin: Gebrüder Borntraeger.

- Askanazy M (1908) « Die Teratome nach ihrem Bau, ihrem Verlauf, ihrer Genese und im Vergleich zum experimentellen Teratoid », *Verh. Dt. Pathol. Ges.*, year 1907, 39–82.
- Astaldi G and Mauri C (1950) « New criteria to estimate mitotic activity in bone marrow cells ». *Acta Haematologica* 3(2): 122-122.
- Astaldi G and Mauri C (1953) « Recherches sur l'activité proliférative de l'hémocytoblaste de la leucémie aigue ». *Rev Belg Pathol Med Exp* 23(2): 69-82.
- Astaldi G, Allegri A and Mauri C (1947) « Experimental investigations of the proliferative activity of erythroblasts in their different stages of maturation ». *Experientia* 3(12): 499-500.
- Atwell WJ (1926) « The development of the hypophysis cerebri in man, with special reference to the pars tuberalis » *American Journal of Anatomy* 37(1): 159-193.
- Azmi AS, Mohammad RM, Banerjee S, Wang Z, Bao B and Sarkar FH (2011) « Systems and Network Understanding of Cancer Stem Cells », chapter 7, pp. 135-146. In Shostak S (Ed) *Cancer Stem Cells. Cutting Edge*. Croatia: InTech.
- Bachem MG, Sell KM, Melchior R, Kropf J, Eller T, Gressner AM (1993) « Tumor necrosis factor alpha (TNF alpha) and transforming growth factor beta 1 (TGF beta 1) stimulate fibronectin synthesis and the transdifferentiation of fat-storing cells in the rat liver into myofibroblasts » *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol* 63: 123–130.
- Back J, Dierich A, Bronn C, Kastner P and Chan S (2004) « PU.1 determines the self-renewal capacity of erythroid progenitor cells » *Blood* 103(10): 3615-3623.
- Bagley RG and Teicher BA (Eds) (2009) *Stem Cells and Cancer*. Dordrecht, Heidelberg, London, New York: Springer.
- Baguley BC (2010) « Multiple drug resistance mechanisms in cancer » *Mol Biotechnol* 46(3): 308-316.
- Baker AH and Hawkey LM (1931) « A case of primary adamantinoma of the tibia » *The British Journal of Surgery* 18: 415-421.
- Bao S, Wu Q, McLendon RE, Hao Y, Shi Q, Hjelmeland AB, Dewhirst MW, Bigner DD and Rich JN (2006) « Glioma stem cells promote radioresistance by preferential activation of the DNA damage response » *Nature* 444(7120): 756-760.
- Bapat S (ed) (2008). *Cancer Stem Cells. Identification and Targets*. Hoboken: Wiley.
- Bapat SA (2007) « Evolution of cancer stem cells » *Semin Cancer Biol* 17(3): 204-213.
- Barabe F, Kennedy JA, Hope KJ and Dick JE (2007) « Modeling the initiation and progression of human acute leukemia in mice » *Science* 316(5824): 600-604.
- Barda-Saad M, Shav-Tal Y, Rozenszajn AL, Cohen M, Zauberman A, Karmazyn A, Parameswaran R, Schori H, Ashush H, Ben-Nun A and Zipori D (2002) « The mesenchyme expresses T cell receptor mRNAs: relevance to cell growth control » *Oncogene* 21(13): 2029-2036.
- Barnes DWH, Ford CE, Gray SM, Loutit JF (1958) « Spontaneous and induced changes in cell populations in heavily irradiated mice » *Proceedings of the Second United Nations International Conference on the Peaceful Uses of Atomic Energy* 23: 10-16.
- Barnes DWH, Ford CE, Gray SM, Loutit JF (1959) « Spontaneous and induced changes in cell populations in heavily irradiated mice ». *Progress in Nuclear Energy - Biological sciences*. Series 6(2): 1-10.

- Barroca V, Lassalle B, Coureuil M, Louis JP, Le Page F, Testart J, Allemand I, Riou L and Fouchet P (2009) « Mouse differentiating spermatogonia can generate germinal stem cells *in vivo* » *Nat Cell Biol* 11(2): 190-196.
- Beard J (1900) « The morphological continuity of the Germ Cells in Raja batis » *Anat. Anzeiger* 18: 465-485.
- Beard J (1904) « Cancer Genesis ». *The Lancet* 164(4238): 1447-1448.
- Beard J (1905) « The Cancer Problem » *The Lancet* 165(4249): 281-283.
- Beard J (1905) « The Cancer Problem and Cancer Research » *The Lancet* 165(4250): 385-386.
- Beatty J (1980) « What's wrong with the received view of evolutionary theory? » *PSA Proceedings of the Biennial Meeting of the Philosophy of Science Association* 2: 397-426.
- Beatty J (1995) « The evolutionary contingency thesis », pp. 45-81, in Wolters G and Lennox J (eds) *Concepts, Theories, and Rationality in the Biological Sciences: The Second Pittsburgh-Konstanç Colloquium in the Philosophy of Science*. Pittsburgh: University of Pittsburgh Press.
- Becker AJ, McCulloch EA and Till JE (1963) « Cytological demonstration of the clonal nature of spleen colonies derived from transplanted mouse marrow cells ». *Nature* 197: 452-454.
- Beckman RA and Loeb LA (2006) « Efficiency of carcinogenesis with and without a mutator mutation » *Proc Natl Acad Sci U S A* 103(38): 14140-14145.
- Bensaude-Vincent B and Loeve S (2013) « Military and Alternative Metaphors in Nanomedicine: The Case of Targeted Drug Delivery », *Science as Culture*, à paraître.
- Berenblum I (1941) « The Cocarcinogenic Action of Croton Resin ». *Cancer Research* 1(1): 44-48.
- Bernardos RL, Barthel LK, Meyers JR and Raymond PA (2007) « Late-stage neuronal progenitors in the retina are radial Muller glia that function as retinal stem cells » *J Neurosci* 27(26): 7028-7040.
- Berridge MV, Herst PM and Tan AS (2010) « Metabolic flexibility and cell hierarchy in metastatic cancer » *Mitochondrion* 10(6): 584-588.
- Bhagwandin VJ and Shay JW (2009) « Pancreatic cancer stem cells: fact or fiction? » *Biochim Biophys Acta* 1792(4): 248-259.
- Billroth T (1866) « Kritische und erlauternde Bemerkungen zu dem W Werke von Professor C. Thiersch in Erlangen » *Arch. klin. Chirur.* 7: 848-859.
- Birch-Hirschfeld A and Garten S (1899) « Ueber das Verhalten implantirter embryonaler Zellen im erwachsenen Thierkörper », *Beitr. Pathol. Anat. Allg. Pathol.* 26: 132-172.
- Bird A (1998) « Dispositions and Antidotes », *The Philosophical Quarterly* 48(191): 227-234.
- Bird A (2012) « Dispositional Expressions », pp. 729-740. In Russell G and Fara DG (eds.), *Routledge Companion to the Philosophy of Language* Abingdon: Routledge.
- Bird A and Tobin E (2012) « Natural Kind », in Zalta EN (ed) *The Stanford Encyclopedia of Philosophy*. URL = <http://plato.stanford.edu/archives/win2012/entries/natural-kinds/>.
- Blackstock AM and Garson OM (1974) « Direct evidence for involvement of erythroid cells in acute myeloblastic leukaemia ». *Lancet* 2(7890): 1178-1179.

- Blaese RM, Culver KW, Miller AD, Carter CS, Fleisher T, Clerici M, Shearer G, Chang L, Chiang Y, Tolstoshev P, Greenblatt JJ, Rosenberg SA, Klein H, Berger M, Mullen CA, Ramsey WJ, Muul L, Morgan RA and Anderson WF (1995) « T lymphocyte-directed gene therapy for ADA- SCID: initial trial results after 4 years ». *Science* 270(5235): 475-480.
- Blagosklonny MV (2007) « Cancer stem cell and cancer stemloids: from biology to therapy ». *Cancer Biol Ther* 6(11): 1684-1690.
- Blanpain C (2007) « Importance de la voie de signalisation Wnt/b-caténine dans l'identité, l'activation et la différenciation des cellules souches épidermiques » *Med Sci* 23(1): 34-36.
- Blau HM, Brazelton TR and Weimann JM (2001) « The evolving concept of a stem cell: entity or function? » *Cell* 105(7): 829-841.
- Blondheim NR, Levy YS, Ben-Zur T, Burshtein A, Cherlow T, Kan I, Barzilai R, Bahat-Stromza M, Barhum Y, Bulvik S, Melamed E and Offen D (2006) « Human mesenchymal stem cells express neural genes, suggesting a neural predisposition » *Stem Cells Dev* 15(2): 141-164.
- Blouw B, Song H, Tihan T, Bosze J, Ferrara N, Gerber HP, Johnson RS and Bergers G (2003) « The hypoxic response of tumors is dependent on their microenvironment » *Cancer Cell* 4(2): 133-146.
- Bohl SR, Pircher A and Hilbe W (2011) « Cancer stem cells: characteristics and their potential role for new therapeutic strategies » *Onkologie* 34(5): 269-274.
- Boiko JR and Borghesi L (2012) « Hematopoiesis sculpted by pathogens: Toll-like receptors and inflammatory mediators directly activate stem cells » *Cytokine* 57(1): 1-8.
- Bonavia R, Inda MM, Cavenee WK, and Furnari FB (2011) « Heterogeneity maintenance in glioblastoma: a social network », *Cancer Res* 71(12): 4055-4060.
- Bonnet D and Dick JE (1997) « Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell » *Nat Med* 3(7): 730-737.
- Bonnet R (1901) « Zur Aetiologie der Embryome ». *Monatsschr Geburtsbülfe Gynaekol* 13: 149-176.
- Borst M (1902) *Die Lehre von den Geschwuelsten* (2 volumes). Wiesbaden: J. F. Bergmann.
- Borst M (1908) « Die Teratome und ihre Stellung zu anderen Geschwülsten », *Verh Dt Pathol Ges*, year 1907: 83-104.
- Bourin P, Sensebé L, Charbord P (2004) « Les cellules souches mésenchymateuses (CSM) : données, controverses, perspectives » *Hématologie* 6: 434-43.
- Boyd R (1999) « Homeostasis, Species, and Higher Taxa », chapter 6, pp. 141-185, in Wilson R (ed) *Species: New Interdisciplinary Essays*. Cambridge: MIT Press.
- Brabletz T, Jung A, Spaderna S, Hlubek F and Kirchner T (2005) « Opinion: migrating cancer stem cells – an integrated concept of malignant tumour progression » *Nat Rev Cancer* 5(9): 744-749.
- Brack AS, Conboy MJ, Roy S, Lee M, Kuo CJ, Keller C and Rando TA (2007) « Increased Wnt signaling during aging alters muscle stem cell fate and increases fibrosis ». *Science* 317(5839): 807-810.

- Bradley TR and Metcalf D (1966) « The growth of mouse bone marrow cells in vitro ». *Aust J Exp Biol Med Sci* 44(3): 287-299.
- Brandt C (2012) « Stem Cells, Reversibility and Reprogramming: Historical Perspectives ». Chapter 4, pp. 55-91. In Mazzolini RG and Rheinberger H-J (eds) *Differing Routes to Stem Cell Research: Germany and Italy*. Bologna: Il mulino, and Berlin: Duncker & Humblot.
- Brawley C and Matunis E (2004) « Regeneration of male germline stem cells by spermatogonial dedifferentiation *in vivo* » *Science* 304(5675): 1331-1334.
- Brazelton TR, Rossi FM, Keshet GI and Blau HM (2000) « From marrow to brain: expression of neuronal phenotypes in adult mice » *Science* 290(5497): 1775-1779.
- Brinster RL (1974) « The effect of cells transferred into the mouse blastocyst on subsequent development » *J Exp Med* 140: 1049-1056.
- Brown EJ, Frazier WA (2001) « Integrin-associated protein (CD47) and its ligands ». *Trends Cell Biol* 11: 130-135.
- Brown N, Kraft A and Martin P (2006) « The Promissory Past of Blood Stem Cells ». *BioSocieties* 1(03): 329-348.
- Bru T, Clarke C, McGrew MJ, Sang HM, Wilmut I and Blow JJ (2008) « Rapid induction of pluripotency genes after exposure of human somatic cells to mouse ES cell extracts » *Experimental Cell Research* 314(14): 2634-2642.
- Buczacki S, Davies RJ and Winton DJ (2011) « Stem cells, quiescence and rectal carcinoma: an unexplored relationship and potential therapeutic target ». *Br J Cancer* 105(9): 1253-1259.
- Buczacki SJ, Zecchini HI, Nicholson AM, Russell R, Vermeulen L, Kemp R and Winton DJ (2013) « Intestinal label-retaining cells are secretory precursors expressing Lgr5 » *Nature* 495(7439): 65-69.
- Budde M (1926) « Ueber die Genese der Fetalinklusionen ». *Beitraege zur pathologischen Anatomie und zur allgemeinen Pathologie*: 357-398.
- Buhl L (1865) « Wahre recidivirendes Myom (Rhabdomyom Zenker's) » *Z Biol* 1: 263-272.
- Buick RN, Minden MD and McCulloch EA (1979) « Self-renewal in culture of proliferative blast progenitor cells in acute myeloblastic leukemia » *Blood* 54(1): 95-104.
- Buick RN, Till JE and McCulloch EA (1977) « Colony assay for proliferative blast cells circulating in myeloblastic leukaemia » *Lancet* 1(8016): 862-863.
- Burger PC, Scheithauer BW, Vogel FS (2002) *Surgical pathology of the nervous system and its coverings*. New York: Churchill-Livingstone.
- Burian R (2005) *The Epistemology of Development, Evolution, and Genetics*, Cambridge: Cambridge University Press.
- Burleigh AR (2008) « Of germ cells, trophoblasts, and cancer stem cells » *Integr Cancer Ther* 7(4): 276-281.
- Burns CE and Zon LI (2002) « Portrait of a stem cell » *Dev Cell* 3(5): 612-613.
- Burns L (2009) « "You are our only hope": trading metaphorical "magic bullets" for stem cell "superheroes" » *Theor Med Bioeth* 30(6): 427-442.
- Burstein SA, Adamson JW, Erb SK and Harker LA (1981) « Megakaryocytopoiesis in the mouse: response to varying platelet demand » *J Cell Physiol* 109(2): 333-341

- Cabanillas R and Llorente JL (2009) « The Stem Cell Network model: clinical implications in cancer » *Eur Arch Otorhinolaryngol* 266(2): 161-170.
- Cabarcas SM, Mathews LA and Farrar WL (2011) « The cancer stem cell niche--there goes the neighborhood? » *Int J Cancer* 129(10): 2315-2327.
- Cairns J (1975) « Mutation selection and the natural history of cancer » *Nature* 255(5505): 197-200.
- Calabrese C, Poppleton H, Kocak M, Hogg TL, Fuller C, Hamner B, Oh EY, Gaber MW, Finklestein D, Allen M, Frank A, Bayazitov IT, Zakharenko SS, Gajjar A, Davidoff A and Gilbertson RJ (2007) « A perivascular niche for brain tumor stem cells ». *Cancer Cell* 11(1): 69-82.
- Cambrosio A and Keating P (1992) « A Matter of FACS: Constituting Novel Entities in Immunology » *Medical Anthropology Quarterly*, New series, 6(4): 362-384.
- Cambrosio A and Keating P (1992) « Between Fact and Technique: The Beginnings of Hybridoma Technology » *J Hist Biol* 25: 175-230.
- Cambrosio A and Keating P (1995) *Exquisite Specificity: The Monoclonal Antibody Revolution*. New York: Oxford University Press.
- Campbell LL and Polyak K (2007) « Breast tumor heterogeneity: cancer stem cells or clonal evolution? » *Cell Cycle* 6(19): 2332-2338.
- Carlson BM and Faulkner JA (1989) « Muscle transplantation between young and old rats: age of host determines recovery ». *Am J Physiol* 256(6 Pt 1): C1262-1266.
- Carmichael HT (1931) « Squamous epithelial rests in hypophysis cerebri », *Arch. Neurol. & Psychiat.* 26: 966-975.
- Chabner BA and Roberts TG (2005) « Chemotherapy and the war on cancer » *Nat Rev Cancer* 5(1): 65-72.
- Chaffer CL, Brueckmann I, Scheel C, Kaestli AJ, Wiggins PA, Rodrigues LO, Brooks M, Reinhardt F, Su Y, Polyak K, Arendt LM, Kuperwasser C, Bierie B and Weinberg RA (2011) « Normal and neoplastic nonstem cells can spontaneously convert to a stem-like state » *Proc Natl Acad Sci U S A* 108(19): 7950-7955.
- Chan KS, Espinosa I, Chao M, Wong D, Ailles L, Diehn M, Gill H, Presti J, Jr., Chang HY, van de Rijn M, Shortliffe L and Weissman IL (2009) « Identification, molecular characterization, clinical prognosis, and therapeutic targeting of human bladder tumor-initiating cells » *Proc Natl Acad Sci U S A* 106(33): 14016-14021.
- Chang J, Landis M, Schott A, Pavlick A, Dobrolecki L, Korkaya H, Zhang X, Froehlich A, Rodriguez A, Rimawi M, Wicha M, Lewis M and Hayes D (2009) « Targeting Intrinsically-Resistant Breast Cancer Stem Cells with Gamma-Secretase Inhibitors » *Cancer Research* 69(24 supp3): 48.
- Changus GW, Speed JS and Stewart F (1957) « Malignant Angioblastoma of Bone : A Reappraisal of Adamantinoma of Long Bone » *Cancer* 10(3): 540-559.
- Chao MP, Alizadeh AA, Tang C, Myklebust JH, Varghese B, Gill S, Jan M, Cha AC, Chan CK, Tan BT, Park CY, Zhao F, Kohrt HE, Malumbres R, Briones J, Gascoyne RD, Lossos IS, Levy R, Weissman IL and Majeti R (2010) « Anti-CD47 antibody synergizes with rituximab to promote phagocytosis and eradicate non-Hodgkin lymphoma » *Cell* 142(5): 699-713.

- Chazaud C (2008) « L'embryogenèse précoce des mammifères Premières différenciations cellulaires et cellules souches » *Med Sci* 24(12): 1043-1048.
- Chen ZL, Yu WM and Strickland S (2007) « Peripheral regeneration ». *Annu Rev Neurosci* 30: 209-233.
- Cheng J, Turkel N, Hemati N, Fuller MT, Hunt AJ and Yamashita YM (2008) « Centrosome misorientation reduces stem cell division during ageing » *Nature* 456(7222): 599-604.
- Chiba T, Zheng YW, Kita K, Yokosuka O, Saisho H, Onodera M, Miyoshi H, Nakano M, Zen Y, Nakanuma Y, Nakauchi H, Iwama A and Taniguchi H (2007) « Enhanced self-renewal capability in hepatic stem/progenitor cells drives cancer initiation ». *Gastroenterology* 133(3): 937-950.
- Chiquoine AD (1954) « The identification, origin, and migration of the primordial germ cells in the mouse embryo » *Anat Rec* 118(2): 135-146.
- Choi S (2003) « Improving Bird's Antidotes », *Australasian Journal of Philosophy* 81: 573-580.
- Choi S and Fara M (Spring 2012 Edition) « Dispositions », *The Stanford Encyclopedia of Philosophy*, Zalta EN (ed.). URL = <http://plato.stanford.edu/archives/spr2012/entries/dispositions/>
- Christen B, Robles V, Raya M, Paramonov I and Izpisua Belmonte JC (2010) « Regeneration and reprogramming compared ». *BMC Biol* 8: 5.
- Civin C, Strauss LC, Brovall C, Fackler MJ, Schwartz JF, Shaper JH (1984) « Antigenic analysis of hematopoiesis. III. A hematopoietic progenitor cell surface antigen defined by a monoclonal antibody raised against KG-1a cells, » *J Immunol* 133(1): 157-165.
- Clarke DL, Johansson CB, Wilbertz J, Veress B, Nilsson E, Karlstrom H, Lendahl U and Frisen J (2000) « Generalized potential of adult neural stem cells » *Science* 288(5471): 1660-1663.
- Clarke MF and Fuller M (2006) « Stem cells and cancer: two faces of eve » *Cell* 124(6): 1111-1115.
- Clarke MF, Dick JE, Dirks PB, Eaves CJ, Jamieson CH, Jones DL, Visvader J, Weissman IL and Wahl GM (2006) « Cancer stem cells--perspectives on current status and future directions: AACR Workshop on cancer stem cells » *Cancer Res* 66(19): 9339-9344.
- Clarkson B, Fried J, Strife A, Sakai Y, Ota K, Okita T (1970) « Studies of cellular proliferation in human leukemia. 3. Behavior of leukemic cells in three adults with acute leukemia given continuous infusions of 3H-thymidine for 8 or 10 days » *Cancer* 25(6): 1237-1260.
- Clarkson BD (1969) « Review of recent studies of cellular proliferation in acute leukemia ». *Natl Cancer Inst Monogr* 30: 81-120.
- Clein GP and Flemans RJ (1966) « Involvement of the erythroid series in blastic crisis of chronic myeloid leukaemia. Further evidence for the presence of Philadelphia chromosome in erythroblasts » *Br J Haematol* 12(6): 754-758.
- Clevers H (2006) « Wnt/beta-catenin signaling in development and disease ». *Cell* 127: 469-480.
- Cohnheim J (1867) « Ueber entzündung und eiterung ». *Path Anat Physiol Klin Med* 40: 1-79.

- Cohnheim J (1875) « Congenitales, quergestreiftes Muskelsarkom der Nieren » *Virchows Arch* 65: 64-69.
- Cohnheim J (1889) *General Pathology. A handbook for practitioners and students*. Translation of the second German edition by McKee, Alexander. Section II « The pathology of nutrition ». London: The New Sydenham Society.
- Coller HA, Sang L and Roberts JM (2006) « A new description of cellular quiescence » *PLoS Biol* 4(3): e83.
- Collins AT, Berry PA, Hyde C, Stower MJ and Maitland NJ (2005) « Prospective identification of tumorigenic prostate cancer stem cells ». *Cancer Res* 65(23): 10946-10951.
- Colvin GA, Quesenberry PJ and Dooner MS (2006) « The stem cell continuum: a new model of stem cell regulation » *Handb Exp Pharmacol* 174): 169-183.
- Conboy IM, Conboy MJ, Smythe GM and Rando TA (2003) « Notch-mediated restoration of regenerative potential to aged muscle » *Science* 302(5650): 1575-1577.
- Conboy IM, Conboy MJ, Wagers AJ, Girma ER, Weissman IL and Rando TA (2005) « Rejuvenation of aged progenitor cells by exposure to a young systemic environment » *Nature* 433(7027): 760-764.
- Conboy MJ, Conboy IM and Rando TA (2013) « Heterochronic parabiosis: historical perspective and methodological considerations for studies of aging and longevity » *Aging Cell* 12(3): 525-530.
- Conley SJ, Gheordunescu E, Kakarala P, Newman B, Korkaya H, Heath AN, Clouthier SG and Wicha MS (2012) « Antiangiogenic agents increase breast cancer stem cells via the generation of tumor hypoxia » *Proc Natl Acad Sci U S A* 109(8): 2784-2789.
- Copland M, Hamilton A, Elrick LJ, Baird JW, Allan EK, Jordanides N, Barow M, Mountford JC and Holyoake TL (2006) « Dasatinib (BMS-354825) targets an earlier progenitor population than Imatinib in primary CML but does not eliminate the quiescent fraction » *Blood* 107(11): 4532-4539.
- Coulombel L (2007) « Reprogrammation nucléaire d'une cellule différenciée. On efface tout et on recommence ». *Med Sci* 23(6-7): 667-70.
- Coulombel L (2009) « Pluripotence : une définition à géométrie variable » *Med Sci* 25(10): 798-801.
- Cowdry EV (1928) *Special Cytology, The form and functions of the cell in health and disease*. New York: Hoeber.
- Cozzio A, Passegue E, Ayton PM, Karsunky H, Cleary ML and Weissman IL (2003) « Similar MLL-associated leukemias arising from self-renewing stem cells and short-lived myeloid progenitors ». *Genes Dev* 17(24): 3029-3035.
- Crist E and Tauber AI (1999) « Selfhood, Immunity, and the Biological Imagination: The Thought of Frank Macfarlane Burnet » *Biology and Philosophy* 15(4): 509-533.
- Critchley M and Ironside RN (1926) « The pituitary adamantinomata », *Brain* 49: 437-481.
- Cronkite EP, Bond VP, Fliedner TM and Rubini JR (1959) « The use of tritiated thymidine in the study of DNS synthesis and cell turnover in hemopoietic tissues ». *Lab Invest* 8(1): 263-275.
- Cummins R (1975) « Functional Analysis » *The Journal of Philosophy* 72(20): 741-765.

- Cunningham RS, Sabin FR, Doan CA (1925) «The development of leucocytes, lymphocytes, and monocytes from a specific stem-cell in adult tissues» *Contributions to embryology* 16(84): 229-276.
- Curtis SJ, Sinkevicius KW, Li D, Lau AN, Roach RR, Zamponi R, Woolfenden AE, Kirsch DG, Wong KK and Kim CF (2010) «Primary tumor genotype is an important determinant in identification of lung cancer propagating cells» *Cell Stem Cell* 7(1): 127-133.
- Cushing H (1932) *Intracranial tumors. Notes upon a series of two thousand verified cases with surgical mortality percentages pertaining thereto*. Springfield, Baltimore: Charles C Thomas.
- Dalerba P, Cho RW, and Clarke MF (2007) «Cancer Stem Cells: Models and Concepts» *Annu Rev Med* 58: 267-84.
- Dalerba P, Dylla SJ, Park IK, Liu R, Wang X, Cho RW, Hoey T, Gurney A, Huang EH, Simeone DM, Shelton AA, Parmiani G, Castelli C and Clarke MF (2007) «Phenotypic characterization of human colorectal cancer stem cells». *Proc Natl Acad Sci U S A* 104(24): 10158-10163.
- Damjanov I and Andrews PW (2007) «The terminology of teratocarcinomas and teratomas» *Nat Biotechnol* 25(11): 1212.
- Danchakoff V (1916) «The Differentiation of Cells as a Criterion for Cell Identification, Considered in Relation to the Small Cortical Cells of the Thymus». *J Exp Med* 24(1): 87-105.
- Dantschakoff W (1908) «Untersuchungen über die Entwicklung des Blutes und Bindegewebes bei den Vögeln» *Anat. Hefte* 37: 471-589.
- Darwin C (1875) *The Variation of Animals and Plants Under Domestication*, 2nd edition. London: John Murray.
- Dean M, Fojo T and Bates S (2005) «Tumour stem cells and drug resistance» *Nat Rev Cancer* 5(4): 275-284.
- De la Chapelle A, Vuopio P and Borgstrom GH (1973) «The origin of bone marrow fibroblasts». *Blood* 41(6): 783-787.
- de Poulton Nicholson GW (1929) «The histogeny of teratomata». *The Journal of Pathology and Bacteriology* 32(3): 365-386.
- de Ricqlès A et Gayon J (eds)(2010) *Les fonctions : des organismes aux artefacts*. Paris : PUF.
- De Rosa R, Prud'homme B, Balavoine G (2005) «Caudal and even-skipped in the annelid *Platynereis dumerilii* and the ancestry of posterior growth». *Evol. Dev.* 7: 574-587.
- Dembinski JL, Krauss S (2009) «Characterization and functional analysis of a slow cycling stem cell-like subpopulation in pancreas adenocarcinoma». *Clin Exp Metastasis* 26: 611-623.
- Deng W and Lin H (1997) «Spectrosomes and fusomes anchor mitotic spindles during asymmetric germ cell divisions and facilitate the formation of a polarized microtubule array for oocyte specification in *Drosophila*». *Dev Biol* 189(1): 79-94.
- Dewi DL, Ishii H, Kano Y, Nishikawa S, Haraguchi N, Sakai D, Satoh T, Doki Y and Mori M (2011) «Cancer stem cell theory in gastrointestinal malignancies: recent progress and upcoming challenges» *J Gastroenterol* 46(10): 1145-1157.
- Diaz A and Leon K (2011) «Therapeutic Approaches to Target Cancer Stem Cells» *Cancers* 3: 3331-3352.

- Dick JE (1996) « Normal and leukemic human stem cells assayed in SCID mice » *Semin Immunol* 8(4): 197-206.
- Dick JE (2008) « Stem cell concepts renew cancer research ». *Blood* 112(13): 4793-4807.
- Dicke KA, Spitzer G and Ahearn MJ (1976) « Colony formation in vitro by leukaemic cells in acute myelogenous leukaemia with phytohaemagglutinin as stimulating factor » *Nature* 259(5539): 129-130.
- Diehn M, Cho RW, Lobo NA, Kalisky T, Dorie MJ, Kulp AN, Qian D, Lam JS, Ailles LE, Wong M, Joshua B, Kaplan MJ, Wapnir I, Dirbas FM, Somlo G, Garberoglio C, Paz B, Shen J, Lau SK, Quake SR, Brown JM, Weissman IL and Clarke MF (2009) « Association of reactive oxygen species levels and radioresistance in cancer stem cells » *Nature* 458(7239): 780-783.
- Dittmar T and Zänker KS (eds) (2008) *Cancer and Stem Cells*. New York: Nova.
- Dixon FJ and Moore RA (1953) « Testicular tumors; a clinicopathological study » *Cancer* 6(3): 427-454.
- Dockerty MB and Meyerding HW (1942) « Adamantinoma of the tibia. Report of 2 new cases » *JAMA* 119: 932-937.
- Dontu G, Al-Hajj M, Abdallah WM, Clarke MF and Wicha MS (2003) « Stem cells in normal breast development and breast cancer » *Cell Prolif* 36(Suppl 1): 59-72.
- Drummond MW, Heaney N, Kaeda J, Nicolini FE, Clark RE, Wilson G, Shepherd P, Tighe J, McLintock L, Hughes T and Holyoake TL (2009) « A pilot study of continuous imatinib vs pulsed imatinib with or without G-CSF in CML patients who have achieved a complete cytogenetic response » *Leukemia* 23(6): 1199-1201.
- Drummond WA (1939) « Infraselar Adamantinoma: (Section of Laryngology) » *Proc R Soc Med* 32(3): 200-207.
- Duchesneau F (1987) *Genèse de la théorie cellulaire*. Paris: Vrin.
- Duchesneau F (1997) *Philosophie de la biologie*. Paris: PUF.
- Duffy WC (1920) « Hypophyseal Duct Tumors: A Report of Three Cases and a Fourth Case of Cyst of Rathke's Pouch » *Ann Surg* 72(5): 537-555.
- Duffy WC (1920) « Hypophyseal Duct Tumors: A Report of Three Cases and a Fourth Case of Cyst of Rathke's Pouch » *Ann Surg* 72(6): 725-757.
- Dufour C, Cadusseau J, Varlet P, Surena AL, de Faria GP, Dias-Morais A, Auger N, Leonard N, Daudigeos E, Dantas-Barbosa C, Grill J, Lazar V, Dessen P, Vassal G, Prevot V, Sharif A, Chneiweiss H and Junier MP (2009) « Astrocytes reverted to a neural progenitor-like state with transforming growth factor alpha are sensitized to cancerous transformation » *Stem Cells* 27(10): 2373-2382.
- Dupont J-C et Schmitt S (ed) (2004) *Du feuillet au gène. Une histoire de l'embryologie moderne (fin XVIIIe/XXe siècle)*. Paris : Edition rue d'Ulm.
- Dupré J (1981) « Natural Kinds and Biological Taxa » *Philosophical Review* 90(1): 66-90.
- Dylla SJ, Beviglia L, Park IK, Chartier C, Raval J, Ngan L, Pickell K, Aguilar J, Lazetic S, Smith-Berdan S, Clarke MF, Hoey T, Lewicki J and Gurney AL (2008) « Colorectal cancer stem cells are enriched in xenogeneic tumors following chemotherapy » *PLoS One* 3(6): e2428.
- Ebbe S (1968) « Megakaryocytopoiesis and platelet turnover » *Series Haemat.* 1(2): 51.

- Echeverri K, Clarke JD and Tanaka EM (2001) « In vivo imaging indicates muscle fiber dedifferentiation is a major contributor to the regenerating tail blastema ». *Dev Biol* 236(1): 151-164.
- Edris B, Weiskopf K, Volkmer AK, Volkmer JP, Willingham SB, Contreras-Trujillo H, Liu J, Majeti R, West RB, Fletcher JA, Beck AH, Weissman IL and van de Rijn M (2012) « Antibody therapy targeting the CD47 protein is effective in a model of aggressive metastatic leiomyosarcoma » *Proc Natl Acad Sci U S A* 109(17): 6656-6661.
- Efroni S, Duttagupta R, Cheng J, Dehghani H, Hoepfner DJ, Dash C, Bazett-Jones DP, Le Grice S, McKay RD, Buetow KH, Gingeras TR, Misteli T and Meshorer E (2008) « Global transcription in pluripotent embryonic stem cells » *Cell Stem Cell* 2(5): 437-447.
- Eguchi G and Kodama R (1993) « Transdifferentiation » *Curr Opin Cell Biol* 5(6): 1023-1028.
- Eisenberg LM and Eisenberg CA (2003) « Stem cell plasticity, cell fusion, and transdifferentiation » *Birth Defects Res C Embryo Today* 69(3): 209-218.
- Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, Dancey J, Arbuck S, Gwyther S, Mooney M, Rubinstein L, Shankar L, Dodd L, Kaplan R, Lacombe D and Verweij J (2009) "New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1)" *Eur J Cancer* 45(2): 228-247.
- Elliott GB (1962) « Malignant angioblastoma of long bone so-called adamantinoma ». *Journal of Bone Joint Surgery* 44B: 25-33.
- Ellis B (2001) *Scientific Essentialism*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Ellis B (2010) « Causal Powers and Categorical Properties », pp. 133–142. In Marmodoro A (ed.) *The Metaphysics of Powers: Their Grounding and Their Manifestations*. London: Routledge.
- Ellis B and Lierse C (1994) « Dispositional Essentialism », *Australasian Journal of Philosophy*, 72: 27-45.
- Engler AJ, Sen S, Sweeney HL and Discher DE (2006) « Matrix elasticity directs stem cell lineage specification ». *Cell* 126(4): 677-689.
- Eramo A, Lotti F, Sette G, Pillozzi E, Biffoni M, Di Virgilio A, Conticello C, Ruco L, Peschle C and De Maria R (2008) « Identification and expansion of the tumorigenic lung cancer stem cell population » *Cell Death Differ* 15(3): 504-514.
- Erdheim J (1903) « Zur normalen und pathologischen Histologie der Ovarien, thyreoidea, parathyreoidea und Hypophysis » *Beiträge zur path Anat u z allg Path* 33: 158-234.
- Erdheim J (1904) « Über Hypophysengeschwülste und Hirncholesteatome » *Sitzber math-naturwiss Klasse Kais Akad Wissenschaft* 113(Abteil II): 537-726.
- Ereshefsky M « Species », *The Stanford Encyclopedia of Philosophy (Spring 2010 Edition)*, Edward N. Zalta (ed), URL = <http://plato.stanford.edu/archives/spr2010/entries/species/>
- Essers MA and Trumpp A (2010) « Targeting leukemic stem cells by breaking their dormancy » *Mol Oncol* 4(5): 443-450.
- Essers MA, Offner S, Blanco-Bose WE, Waibler Z, Kalinke U, Duchosal MA and Trumpp A (2009) « IFN α activates dormant haematopoietic stem cells in vivo » *Nature* 458(7240): 904-908.

- Evans TS, Cipriano AP and Ferrell EH, Jr. (1949) « Reticulo-endotheliosis or stem-cell leukemia; a case report ». *Conn State Med J* 13(12): 1128-1133.
- Evsikov AV and Solter D (2003) « Comment on « 'Stemness': transcriptional profiling of embryonic and adult stem cells » and « a stem cell molecular signature » » *Science* 302(5644): 393.
- Ewing J (1940) *Neoplastic Diseases*, 4th edition. Philadelphia and London: WB Saunders
- Eyler CE and Rich JN (2008) « Survival of the fittest: cancer stem cells in therapeutic resistance and angiogenesis » *J Clin Oncol* 26(17): 2839-2845.
- Fabian A, Barok M, Vereb G and Szollosi J (2009) « Die hard: are cancer stem cells the Bruce Willises of tumor biology? » *Cytometry A* 75(1): 67-74.
- Fagan MB (2007) « The search for the hematopoietic stem cell: social interaction and epistemic success in immunology ». *Stud Hist Philos Biol Biomed Sci* 38(1): 217-237.
- Fagan MB (2010) « Stems and standards: social interaction in the search for blood stem cells ». *J Hist Biol* 43(1): 67-109.
- Fagan M (2012) « Waddington redux: models and explanation in stem cell and systems biology » *Biology & Philosophy* 27(2): 179-213.
- Fagan MB (2013) *Philosophy of Stem Cell Biology. Knowledge in Flesh and Blood*. London: Palgrave-Macmillan.
- Faguet GB (2005) *The War on Cancer. Anatomy of Failure, A Blueprint for the Future*. Netherlands: Springer.
- Farrar WL (ed) (2009) *Cancer Stem Cells*. New York: Cambridge University Press.
- Fearon ER, Burke PJ, Schiffer CA, Zehnbauser BA and Vogelstein B (1986) « Differentiation of leukemia cells to polymorphonuclear leukocytes in patients with acute nonlymphocytic leukemia » *N Engl J Med* 315(1): 15-24.
- Federici G, Espina V, Liotta L and Edmiston KH (2011) « Breast cancer stem cells: a new target for therapy » *Oncology (Williston Park)* 25(1): 25-28.
- Fekete E and Ferrigno MA (1952) « Studies on a transplantable teratoma of the mouse » *Cancer Res* 12(6): 438-440.
- Féré C et Lutier A (1900) « Nouvelles observations sur les tératomes expérimentaux », *Arch Anat Microsc* 3: 337-368.
- Ferrari G, Cusella-De Angelis G, Coletta M, Paolucci E, Stornaiuolo A, Cossu G and Mavilio F (1998) « Muscle regeneration by bone marrow-derived myogenic progenitors » *Science* 279(5356): 1528-1530.
- Feuring-Buske M, Gerhard B, Cashman J, Humphries RK, Eaves CJ and Hogge DE (2003) « Improved engraftment of human acute myeloid leukemia progenitor cells in beta 2-microglobulin-deficient NOD/SCID mice and in NOD/SCID mice transgenic for human growth factors » *Leukemia* 17(4): 760-763.
- Fialkow PJ (1979) « Clonal Origin of Human Tumors. » *Ann Rev Med* 30: 135-143.
- Fialkow PJ (1980) « Clonal and Stem Cell Origin of Blood Cell Neoplasms », pp. 1-46. In Lobue J, Gordon AS, Silber R and Muggia FM (eds), *Contemporary Hematology and Oncology*. Vol.1, New York: Plenum.

- Fialkow PJ, Denman AM, Jacobson RJ and Lowenthal MN (1978) « Chronic myelocytic leukemia. Origin of some lymphocytes from leukemic stem cells » *J Clin Invest* 62(4): 815-823.
- Fialkow PJ, Gartler SM and Yoshida A (1967) « Clonal origin of chronic myelocytic leukemia in man » *Proc Natl Acad Sci USA* 58(4): 1468-1471.
- Fialkow PJ, Jacobson RJ and Papayannopoulou T (1977) « Chronic myelocytic leukemia: clonal origin in a stem cell common to the granulocyte, erythrocyte, platelet and monocyte/macrophage » *Am J Med* 63(1): 125-130.
- Fialkow PJ, Klein E, Klein G, Clifford P and Singh S (1973) « Immunoglobulin and glucose-6-phosphate dehydrogenase as markers of cellular origin in Burkitt lymphoma » *J Exp Med* 138(1): 89-102.
- Fichelson P and Ghosh M (2004) « Mother-daughter precursor cell fate transformation after Cdc2 down-regulation in the Drosophila bristle lineage » *Dev Biol* 276(2): 367-377.
- Finch BW and Ephrussi B (1967) « Retention of multiple developmental potentialities by cells of a mouse testicular teratocarcinoma during prolonged culture in vitro and their extinction upon hybridisation with cells of permanent lines » *Proc Natl Acad Sci USA* 57: 615-621.
- Fischer B (1913) « Ueber ein primäres Adamantinom der Tibia » *Frankfurt Z Path* 12: 422-441.
- Fisher A (2011) « Verastem: Cancer stem cell engine » *BioCentury*, August 5.
- Fojo T and Grady C (2009) « How much is life worth: cetuximab, non-small cell lung cancer, and the \$440 billion question » *J Natl Cancer Inst* 101(15): 1044-1048.
- Ford CE, Hamerton JL, Barnes DW and Loutit JF (1956) « Cytological identification of radiation-chimaeras » *Nature* 177(4506): 452-454.
- Forsberg EC, Passegue E, Prohaska SS, Wagers AJ, Koeva M, Stuart JM and Weissman IL (2010) « Molecular signatures of quiescent, mobilized and leukemia-initiating hematopoietic stem cells » *PLoS One* 5(1): e8785.
- Förster A (1855) *Handbuch der pathologischen Anatomie* (Vol 1); *Allgemeine pathologischen Anatomie* (vol 2). Leipzig.
- Fortunel NO, Otu HH, Ng HH, Chen J, Mu X, Chevassut T, Li X, Joseph M, Bailey C, Hatzfeld JA, Hatzfeld A, Usta F, Vega VB, Long PM, Libermann TA and Lim B (2003) « Comment on "'Stemness': transcriptional profiling of embryonic and adult stem cells" and "a stem cell molecular signature" » *Science* 302(5644): 393.
- Frank SA (2007) *Dynamics of Cancer. Incidence, Inheritance, and Evolution*. Princeton and Oxford: Princeton University Press.
- Fraser CC, Kaneshima H, Hanstean G, Kilpatrick M, Hoffman R and Chen BP (1995) « Human allogeneic stem cell maintenance and differentiation in a long-term multilineage SCID-hu graft ». *Blood* 86(5): 1680-1693.
- Frid MG, Kale VA and Stenmark KR (2002) « Mature vascular endothelium can give rise to smooth muscle cells via endothelial-mesenchymal transdifferentiation: in vitro analysis » *Circ Res* 90(11): 1189-1196.
- Friedewald WF and Rous P (1944) « The Initiating and Promoting Elements in Tumor Production : An Analysis of the Effects of Tar, Benzpyrene, and Methylcholanthrene on Rabbit Skin ». *J Exp Med* 80(2): 101-126.

- Friedmann T and Roblin R (1972) « Gene therapy for human genetic disease? » *Science* 175(4025): 949-955.
- Gachelin G (ed) (2006) *Les organismes modèles dans la recherche médicale*. Paris : Puf.
- Galli R, Gritti A, Bonfanti L, Vescovi AL (2003) « Neural stem cells: an overview » *Circ Res* 92: 598–608.
- Gao MQ, Choi YP, Kang S, Youn JH and Cho NH (2010) « CD24+ cells from hierarchically organized ovarian cancer are enriched in cancer stem cells » *Oncogene* 29(18): 2672-2680.
- Gartler SM, Ziprkowski L, Krakowski A, Ezra R, Szeinberg A and Adam A (1966) « Glucose-6-phosphate dehydrogenase mosaicism as a tracer in the study of hereditary multiple trichoepithelioma » *Am J Hum Genet* 18(3): 282-287.
- Gatenby RA and Vincent TL (2003) « An evolutionary model of carcinogenesis » *Cancer Res* 63(19): 6212-6220.
- Gavosto F, Pileri A, Gabutti V and Masera P (1967) « Cell population kinetics in human acute leukaemia » *Eur J Cancer* 3(4): 301-307.
- Gavosto F, Pileri A, Gabutti V and Masera P (1967) « Non-self-maintaining kinetics of proliferating blasts in human acute leukaemia » *Nature* 216(5111): 188-189.
- Gayon J (1993) « La biologie entre loi et histoire » *Philosophie* 38: 30-57.
- Gayon J (1997) « The paramount power of selection: from Darwin to Kauffman », pp. 265–282, in Dalla Chiara ML, Doets K, Mundici D and van Benthem J (eds) *Structures and Norms in Science, Volume Two of the Tenth International Congress of Logic, Methodology and Philosophy of Science*. Dordrecht: Kluwer.
- Gayon J (2006) « Les biologistes ont-ils besoin du concept de fonction ? Perspective philosophique » *Comptes Rendus Palevol* 5(3-4): 479-487.
- Gayon J (2009) « Mort ou persistance du darwinisme? Regard d'un épistémologue ». *Comptes Rendues Palevol* 8(2-3): 321-340.
- Gazave E, Béhague J, Laplane L, Guillou A, Préau L, Demilly A, Balavoine G, Vervoort M (à paraître) « Posterior elongation in the annelid *Platynereis dumerilii* involves stem cells molecularly related to primordial germ cells » *Developmental Biology*.
- Gerby B (2010) *Identification des cellules initiant les LAL-T humaines dans les souris immunodéficientes et étude de la modulation de l'expression de l'oncogène SCL/TAL1 sur le développement leucémique*. Thèse de doctorat en biologie cellulaire et moléculaire, Université Paris 7, Paris.
- Germain P-L (2012) « Cancer cells and adaptive explanations » *Biology and Philosophy* 27(6): 785-810.
- Gespach C (2010) « Stem cells and colon cancer: the questionable cancer stem cell hypothesis » *Gastroenterol Clin Biol* 34(12): 653-661.
- Ghiaur G, Gerber J and Jones RJ (2012) « Concise review: Cancer stem cells and minimal residual disease » *Stem Cells* 30(1): 89-93.
- Gibbs CP, Kukekov VG, Reith JD, Tchigrinova O, Suslov ON, Scott EW, Ghivizzani SC, Ignatova TN and Steindler DA (2005) « Stem-like cells in bone sarcomas: implications for tumorigenesis ». *Neoplasia* 7(11): 967-976.
- Giere RN (1988) *Explaining Science: A Cognitive Approach*. Chicago: Chicago University Press.

- Gil J, Stembalska A, Pesz KA and Sasiadek MM (2008) « Cancer stem cells: the theory and perspectives in cancer therapy » *J Appl Genet* 49(2): 193-199.
- Gilbert SF (2003) *Developmental Biology*. Seventh edition. Sinauer, Sunderland.
- Godfrey-Smith P (2006) « The strategy of model-based science » *Biology and Philosophy*, 21(5): 725-740.
- Godfrey-Smith P (2009) *Darwinian Populations and Natural Selection*. New York: Oxford University Press.
- Golan-Mashiach M, Dazard JE, Gerecht-Nir S, Amariglio N, Fisher T, Jacob-Hirsch J, Bielorai B, Osenberg S, Barad O, Getz G, Toren A, Rechavi G, Itskovitz-Eldor J, Domany E and Givol D (2005) « Design principle of gene expression used by human stem cells: implication for pluripotency » *FASEB J* 19(1): 147-149.
- Goodell MA (2003) « Stem-cell "plasticity": befuddled by the muddle » *Curr Opin Hematol* 10(3): 208-213.
- Gould SJ (1990) *Wonderful Life. The Burgess Shale and the Nature of History*. New York and London: Norton.
- Graham SM, Jorgensen HG, Allan E, Pearson C, Alcorn MJ, Richmond L and Holyoake TL (2002) « Primitive, quiescent, Philadelphia-positive stem cells from patients with chronic myeloid leukemia are insensitive to STI571 in vitro » *Blood* 99(1): 319-325.
- Greaves M (2000) *Cancer. The Evolutionary Legacy*. Oxford: Oxford University Press.
- Greaves M (2010) « Cancer stem cells: back to Darwin? » *Semin Cancer Biol* 20 (2): 65-70.
- Griffin JD and Lowenberg B (1986) « Clonogenic cells in acute myeloblastic leukemia » *Blood* 68(6): 1185-1195.
- Grogg MW, Call MK, Okamoto M, Vergara MN, Del Rio-Tsonis K and Tsonis PA (2005) « BMP inhibition-driven regulation of six-3 underlies induction of newt lens regeneration » *Nature* 438(7069): 858-862.
- Guasch G and Blanpain C (2004) « Les cellules souches épidermiques organisent leur niche » *Med Sci* 20(3): 265-267.
- Gupta PB, Fillmore CM, Jiang G, Shapira SD, Tao K, Kuperwasser C and Lander ES (2011) « Stochastic state transitions give rise to phenotypic equilibrium in populations of cancer cells » *Cell* 146(4): 633-644.
- Gurchot C (1975) « The trophoblast theory of cancer (John Beard, 1857-1924) revisited » *Oncology* 31(5-6): 310-333.
- Haber DA, Gray NS and Baselga J (2011) « The evolving war on cancer » *Cell* 145(1): 19-24.
- Haeckel E (1877) *Anthropogenie oder Entwicklungsgeschichte des Menschen*, 3rd edn, Leipzig: Wilhelm Engelmann.
- Häfner S et Coulombel L (2009) « L'oligarchie contestée des cellules souches cancéreuses » *Med Sci* 3(25): 227-228.
- Hambardzumyan D, Becher OJ, Rosenblum MK, Pandolfi PP, Manova-Todorova K and Holland EC (2008) « PI3K pathway regulates survival of cancer stem cells residing in the perivascular niche following radiation in medulloblastoma in vivo » *Genes Dev* 22(4): 436-448.

- Hamburger AW and Salmon SE (1977) « Primary bioassay of human tumor stem cells » *Science* 197(4302): 461-463.
- Hampel S, Chung P, McKellar CE, Hall D, Looger LL and Simpson JH (2011) « Drosophila Brainbow: a recombinase-based fluorescence labeling technique to subdivide neural expression patterns » *Nat Meth* 8(3): 253-259.
- Hanahan D and Weinberg RA (2000) « The hallmarks of cancer » *Cell* 100(1): 57-70.
- Hannover A (1852). *Das Epithelioma, eine eigenthuemliche Geschwulst, die man im allgemeinen bisher als Krebs angesehen hat.* Leipzig.
- Hauschka TS (1961) « The chromosomes in ontogeny and oncogeny » *Cancer Res* 21: 957-974.
- Hauskeller C (2005) « Science in touch: functions of biomedical terminology » *Biology and Philosophy* 20: 815-835.
- Hawley RG and Sobieski DA (2002) « Somatic stem cell plasticity: to be or not to be » *Stem Cells* 20(3): 195-197.
- Hay ED (1995) « An overview of epithelio-mesenchymal transformation » *Acta Anat (Basel)* 154(1): 8-20.
- Hayat MA (ed) *Stem Cells and Cancer Stem Cells. Therapeutic Applications in Disease and Injury.* 7 volumes. Dordrecht, Heidelberg, London, New York: Springer.
- Hazelbag HM, Fleuren GJ, van den Broek LJCM, Taminau AHM and Hogendoorn PCW (1993) « Adamantinoma of the long bones: Keratin subclass immunoreactivity pattern with reference to its histogenesis » *Am J Surg Pathol* 17(12): 1225-1233.
- Heath DS, Axelrad AA, McLeod DL and Shreeve MM (1976) « Separation of the erythropoietin-responsive progenitors BFU-E and CFU-E in mouse bone marrow by unit gravity sedimentation » *Blood* 47(5): 777-792.
- Heissig B, Hattori K, Dias S, Friedrich M, Ferris B, Hackett NR, Crystal RG, Besmer P, Lyden D, Moore MA, Werb Z and Rafii S (2002) « Recruitment of stem and progenitor cells from the bone marrow niche requires MMP-9 mediated release of kit-ligand » *Cell* 109(5): 625-637.
- Hemmati HD, Nakano I, Lazareff JA, Masterman-Smith M, Geschwind DH, Bronner-Fraser M and Kornblum HI (2003) « Cancerous stem cells can arise from pediatric brain tumors » *Proc Natl Acad Sci U S A* 100(25): 15178-15183.
- Hemmings C (2010) « The elaboration of a critical framework for understanding cancer: the cancer stem cell hypothesis » *Pathology* 42(2): 105-112.
- Hempel CG (1965) *Aspects of Scientific Explanation.* New York: Free Press.
- Hendrix MJ, Seftor EA, Seftor RE, Kasemeier-Kulesa J, Kulesa PM and Postovit LM (2007) « Reprogramming metastatic tumour cells with embryonic microenvironments » *Nat Rev Cancer* 7(4): 246-255.
- Hentel J and Hirschhorn K (1971) « The origin of some bone marrow fibroblasts ». *Blood* 38(1): 81-86.
- Heppner GH and Miller BE (1983) « Tumor heterogeneity: biological implications and therapeutic consequences » *Cancer Metastasis Reviews* 2: 5-23.
- Hicks JD (1954) « Synovial sarcoma of the tibia » *J Pathol Bacteriol* 67(1): 151-161.

- Hill RP and Perris R (2007) « "Destemming" cancer stem cells » *J Natl Cancer Inst* 99(19): 1435-1440.
- Hirschmann-Jax C, Foster AE, Wulf GG, Nuchtern JG, Jax TW, Gobel U, Goodell MA and Brenner MK (2004) « A distinct "side population" of cells with high drug efflux capacity in human tumor cells » *Proc Natl Acad Sci USA* 101(39): 14228-14233.
- His W (1865) « Beobachtungen ueber den Bau des Saeugethier-Eierstockes » *Arch mikr Anat* 1: 151-202.
- Ho HJ, Lin TI, Chang HH, Haase SB, Huang S and Pyne S (2012) « Parametric modeling of cellular state transitions as measured with flow cytometry » *BMC Bioinformatics* 13 Suppl 5(S5).
- Hochedlinger K and Jaenisch R (2002) « Monoclonal mice generated by nuclear transfer from mature B and T donor cells » *Nature* 415(6875): 1035-1038.
- Hochedlinger K and Plath K (2009) « Epigenetic reprogramming and induced pluripotency » *Development* 136(4): 509-523.
- Hodge MJS (1977) « The structure and strategy of Darwin's 'long argument' » *British Journal for the History of Science* 10: 237-246.
- Hodge MJS (1992) « Darwin's argument in the Origin » *Philosophy of Science* 59(3): 461-464.
- Hoffmann-Kolss V (2010). *The Metaphysics of Extrinsic Properties*. Ontos Verlag.
- Holmes FL (2004) *Investigative Pathways: Patterns and Stages in the Careers of Experimental Scientists*. New Haven: Yale University Press.
- Holtz MS, Forman SJ and Bhatia R (2005) « Nonproliferating CML CD34+ progenitors are resistant to apoptosis induced by a wide range of proapoptotic stimuli » *Leukemia* 19(6): 1034-1041.
- Hong D, Gupta R, Ancliff P, Atzberger A, Brown J, Soneji S, Green J, Colman S, Piacibello W, Buckle V, Tsuzuki S, Greaves M and Enver T (2008) « Initiating and cancer-propagating cells in TEL-AML1-associated childhood leukemia » *Science* 319(5861): 336-339.
- Hoquet T (2009) *Darwin contre Darwin*. Paris : Seuil.
- Hoquet T (2010) « Why terms matter to biological theories: the term origin as used by Darwin » *Bionomina* 1: 58-60.
- Huang MM and Zhu J (2012) « The regulation of normal and leukemic hematopoietic stem cells by niches » *Cancer Microenviron* 5(3): 295-305.
- Huang S (2010) « Cell lineage determination in state space: a systems view brings flexibility to dogmatic canonical rules » *PLoS Biol* 8(5): e1000380.
- Huang S (2011) « On the intrinsic inevitability of cancer: from foetal to fatal attraction » *Semin Cancer Biol* 21(3): 183-199.
- Huang S (2011) « Systems biology of stem cells: three useful perspectives to help overcome the paradigm of linear pathways » *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 366(1575): 2247-2259.
- Hull D (1965) « The effect of Essentialism on Taxonomy: Two Thousand Years of Stasis » *The British Journal for the Philosophy of Science* 15(60): 314-326.
- Hull D (1974) *Philosophy of Biological Science*. Englewood Cliffs: Prentice-Hall.

- Hull D (1977) « A logical empiricist looks at biology » *British Journal for the Philosophy of Science* 28(2): 181-189.
- Hull D (1978) « A matter of individuality » *Philosophy of Science* 45 : 335-360.
- Hull D (2003) « Darwin's science and Victorian philosophy of science », pp. 168-191, in Hodge J and Radick G (eds) *The Cambridge Companion to Darwin*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Humberstone IL (1996) « Intrinsic/extrinsic » *Synthese* 108(2): 205-267.
- Hunter IJ (1955) « Squamous metaplasia of cells of the anterior pituitary gland » *J Pathol Bacteriol* 69(1-2): 141-145.
- Huntly BJ and Gilliland DG (2005) « Leukaemia stem cells and the evolution of cancer-stem-cell research » *Nat Rev Cancer* 5(4): 311-321.
- Huntly BJ, Shigematsu H, Deguchi K, Lee BH, Mizuno S, Duclos N, Rowan R, Amaral S, Curley D, Williams IR, Akashi K and Gilliland DG (2004) « MOZ-TIF2, but not BCR-ABL, confers properties of leukemic stem cells to committed murine hematopoietic progenitors » *Cancer Cell* 6(6): 587-596.
- Huss WJ, Gray DR, Greenberg NM, Mohler JL and Smith GJ (2005) « Breast cancer resistance protein-mediated efflux of androgen in putative benign and malignant prostate stem cells » *Cancer Res* 65(15): 6640-6650.
- INCa (ed) (2011) *La situation du cancer en France en 2011*. Rapports & synthèses, Boulogne-Billancourt.
- Inoue K, Wakao H, Ogonuki N, Miki H, Seino K-i, Nambu-Wakao R, Noda S, Miyoshi H, Koseki H, Taniguchi M and Ogura A (2005) « Generation of Cloned Mice by Direct Nuclear Transfer from Natural Killer T Cells » *Current Biology* 15(12): 1114-1118.
- Ishida T, Iijima T, Kikuchi F, Kitagawa T, Tanida T, Imamura T, Machinami R (1992) « A clinicopathological and immunohistochemical study of osteofibrous dysplasia, differentiated adamantinoma, and adamantinoma of long bones » *Skeletal Radiol* 21(8): 493-502.
- Ito K, Bernardi R and Pandolfi PP (2009) « A novel signaling network as a critical rheostat for the biology and maintenance of the normal stem cell and the cancer-initiating cell » *Curr Opin Genet Dev* 19(1): 51-59.
- Ito K, Bernardi R, Morotti A, Matsuoka S, Saglio G, Ikeda Y, Rosenblatt J, Avigan DE, Teruya-Feldstein J and Pandolfi PP (2008) « PML targeting eradicates quiescent leukaemia-initiating cells » *Nature* 453(7198): 1072-1078.
- Ivanova NB, Dimos JT, Schaniel C, Hackney JA, Moore KA and Lemischka IR (2002) « A stem cell molecular signature » *Science* 298(5593): 601-604.
- Ivanova NB, Dimos JT, Schaniel C, Hackney JA, Moore KA, Ramalho-Santos M, Yoon S, Matsuzaki Y, Mulligan RC, Melton DA and Lemischka IR (2003) « Response to Comments on « 'Stemness': Transcriptional profiling of embryonic and adult stem cells' » and « A stem cell molecular signature » » *Science* 302(5644): 393d.
- Izaguirre CA, Minden MD, Howatson AF and McCulloch EA (1980) « Colony formation by normal and malignant human B-lymphocytes » *Br J Cancer* 42(3): 430-437.
- Jackson EB and Brues AM (1941) « Studies on transplantable embryoma of mouse » *Cancer Res* I: 494-498.

- Jackson KA, Mi T and Goodell MA (1999) « Hematopoietic potential of stem cells isolated from murine skeletal muscle » *Proc Natl Acad Sci U S A* 96(25): 14482-14486.
- Jacob F (1970) *La logique du vivant : une histoire de l'hérédité*. Paris : Gallimard.
- Jacob F (1977) « Mouse teratocarcinoma and embryonic antigens » *Immunol Rev* 33: 3-32.
- Jacobson RJ, Salo A and Fialkow PJ (1978) « Agnogenic myeloid metaplasia: a clonal proliferation of hematopoietic stem cells with secondary myelofibrosis » *Blood* 51(2): 189-194.
- Jain D, Jain VK, Vasishta RK, Ranjan P and Kumar Y (2008) « Adamantinoma: a clinicopathological review and update » *Diagn Pathol* 3: 8-19.
- Jaiswal S, Chao MP, Majeti R, Weissman IL (2010) « Macrophages as mediators of tumor immunosurveillance » *Trends Immunol* 31: 212-219.
- Jaiswal S, Jamieson CH, Pang WW, Park CY, Chao MP, Majeti R, Traver D, van Rooijen N and Weissman IL (2009) « CD47 is upregulated on circulating hematopoietic stem cells and leukemia cells to avoid phagocytosis » *Cell* 138(2): 271-285.
- Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, Schwartz RE, Keene CD, Ortiz-Gonzalez XR, Reyes M, Lenvik T, Lund T, Blackstad M, Du J, Aldrich S, Lisberg A, Low WC, Largaespada DA and Verfaillie CM (2002) « Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow » *Nature* 418(6893): 41-49.
- Johnston M (1992) « How to Speak of the Colors » *Philosophical Studies* 68: 221-263.
- Jones PA and Baylin SB (2007) « The epigenomics of cancer » *Cell* 128(4): 683-692.
- Jopling C, Boue S and Izpisua Belmonte JC (2011) « Dedifferentiation, transdifferentiation and reprogramming: three routes to regeneration » *Nat Rev Mol Cell Biol* 12(2): 79-89.
- Jopling C, Sleep E, Raya M, Marti M, Raya A and Izpisua Belmonte JC (2010) « Zebrafish heart regeneration occurs by cardiomyocyte dedifferentiation and proliferation » *Nature* 464(7288): 606-609.
- Jordan ME (ed) (2010) *Cancer Stem Cells. Cancer Etiology, Diagnosis and Treatments*. Nova Science.
- Jundt G, Remberger K, Roessner A, Schulz A, Bohndorf K (1995) « Adamantinoma of long bones. A histopathological and immunohistochemical study of 23 cases » *Pathol Res Pract* 191(2): 112-120.
- Judson RL, Babiarz JE, Venere M and Belloch R (2009) « Embryonic stem cell-specific microRNAs promote induced pluripotency » *Nat Biotechnol* 27(5): 459-461.
- Kai T and Spradling A (2004) « Differentiating germ cells can revert into functional stem cells in *Drosophila melanogaster* ovaries » *Nature* 428(6982): 564-569.
- Kamel-Reid S, Letarte M, Sirard C, Doedens M, Grunberger T, Fulop G, Freedman MH, Phillips RA, Dick JE (1989) « A model of human acute lymphoblastic leukemia in immune-deficient SCID mice » *Science* 246(4937): 1597-1600.
- Kavaloski V (1974) *The Vera Causa Principle: A Historico-philosophical Study of a Metatheoretical Concept from Newton through Darwin*. PhD dissertation, University of Chicago.
- Kay HE (1965) « How Many Cell-Generations? » *Lancet* 2(7409): 418-419.
- Keating P and Cambrosio A (1994) « 'Ours is an Engineering Approach': Flow Cytometry and the Constitution of Human T-Cell Subsets » *Journal of the History of Biology* 27: 449-479.

- Keating P and Cambrosio A (2003). *Biomedical Platforms: Realigning the Normal and the Pathological in Late-Twentieth-Century Medicine*. Cambridge: The MIT Press.
- Keinanen M, Griffin JD, Bloomfield CD, Machnicki J and de la Chapelle A (1988) « Clonal chromosomal abnormalities showing multiple-cell-lineage involvement in acute myeloid leukemia » *N Engl J Med* 318(18): 1153-1158.
- Kelly PN, Dakic A, Adams JM, Nutt SL and Strasser A (2007) « Tumor growth need not be driven by rare cancer stem cells » *Science* 317(5836): 337.
- Kennedy JA, Barabe F, Poepl AG, Wang JC and Dick JE (2007) « Comment on "Tumor growth need not be driven by rare cancer stem cells" » *Science* 318(5857): 1722; author reply 1722.
- Khamara EJ (2006) *Space, Time, and Theology in the Leibniz-Newton Controversy*. Ontos Verlag.
- Kieffer E, Kuntz S and Viville S (2010) « Tour d'horizon des lignées de cellules souches pluripotentes » *Med Sci (Paris)* 26(10): 848-854.
- Kiger AA, Jones DL, Schulz C, Rogers MB and Fuller MT (2001) « Stem cell self-renewal specified by JAK-STAT activation in response to a support cell cue » *Science* 294(5551): 2542-2545.
- Kikuchi K, Holdway JE, Werdich AA, Anderson RM, Fang Y, Egnaczyk GF, Evans T, Macrae CA, Stainier DY and Poss KD (2010) « Primary contribution to zebrafish heart regeneration by gata4(+) cardiomyocytes » *Nature* 464(7288): 601-605.
- Killmann SA (1965) « Proliferative activity of blast cells in leukemia and myelofibrosis. Morphological differences between proliferating and non-proliferating blast cells ». *Acta Med Scand* 178(3): 263-280.
- Killmann SA (1991) « Acute leukaemia: development, remission/relapse pattern, relationship between normal and leukaemic haemopoiesis, and the 'sleeper-to-feeder' stem cell hypothesis » *Baillière's Clinical Haematology* 4(3): 577-598.
- Killmann SA, Cronkite EP, Fliedner TM and Bond VP (1962) « Cell proliferation in multiple myeloma studied with tritiated thymidine in vivo » *Lab Invest* 11: 845-853.
- Killmann SA, Cronkite EP, Robertson JS, Fliedner TM and Bond VP (1963) « Estimation of phases of the life cycle of leukemic cells from labeling in human beings in vivo with tritiated thymidine » *Lab Invest* 12: 671-684.
- Kim D, Wang J, Willingham SB, Martin R, Wernig G and Weissman IL (2012) « Anti-CD47 antibodies promote phagocytosis and inhibit the growth of human myeloma cells » *Leukemia* 26(12): 2538-2545.
- Kim J (1973) « Causation, Nomic Subsumption and the Concept of Event » *Journal of Philosophy* 70(8): 217-236.
- Kistler M (2002) « L'identité des propriétés et la nécessité des lois de la nature » *Cahier de Philosophie de l'Université de Caen*, 38/39: 249-273.
- Klebs E (1867) « Bemerkungen ueber Larynx-Geschwuelste » *Arch path Anat Phys klin Med* 38: 202-220.
- Kleinsmith LJ and Pierce GB (1964) « Multipotentiality of Single Embryonal Carcinoma Cells » *Cancer Res* 24: 1544-1551.
- Knapp D and Tanaka EM (2012) « Regeneration and reprogramming » *Curr Opin Genet Dev* 22(5): 485-493.

- Koelliker A (1856) *Eléments d'histologie humaine*, traduction de Béclard J et Sée M. Paris : Victor Masson.
- Koelliker A (1882) *Embryologie ou traité complet du développement de l'homme et des animaux supérieurs*, traduction par Schneider A. Paris : C Reinwald.
- Kohler G, Rossner JA & Waldherr R (1974) « Zur Struktur und Differential diagnose das sog. Tibia-Adamantinomas. Eine Light und Electronenoptische Untersuchung ». *Verh Dtsch Ges Path* 58: 454-458.
- Kolata G (2009) « Advances Elusive in the Drive to Cure Cancer » *New York Times*, April 23.
- Komarova N (2004) « Does cancer solve an optimization problem? » *Cell Cycle* 3(7): 840-844.
- Komarova NL and Wodarz D (2004) « The optimal rate of chromosome loss for the inactivation of tumor suppressor genes in cancer » *Proc Natl Acad Sci U S A* 101(18): 7017-7021.
- Kondo M, Weissman IL and Akashi K (1997) « Identification of clonogenic common lymphoid progenitors in mouse bone marrow » *Cell* 91(5): 661-672.
- Kraft A (2009) « Manhattan transfer: lethal radiation, bone marrow transplantation, and the birth of stem cell biology, ca. 1942-1961 » *Hist Stud Nat Sci* 39(2): 171-218.
- Kraft A (2011) « Converging histories, reconsidered potentialities: The stem cell and cancer ». *BioSocieties* 6: 195-216.
- Kragl M, Knapp D, Nacu E, Khattak S, Maden M, Epperlein HH and Tanaka EM (2009) « Cells keep a memory of their tissue origin during axolotl limb regeneration » *Nature* 460(7251): 60-65.
- Krivtsov AV, Twomey D, Feng Z, Stubbs MC, Wang Y, Faber J, Levine JE, Wang J, Hahn WC, Gilliland DG, Golub TR and Armstrong SA (2006) « Transformation from committed progenitor to leukaemia stem cell initiated by MLL-AF9 » *Nature* 442(7104): 818-822.
- Kuang S, Kuroda K, Le Grand F and Rudnicki MA (2007) « Asymmetric self-renewal and commitment of satellite stem cells in muscle » *Cell* 129(5): 999-1010.
- Kubagawa H, Vogler LB, Capra JD, Conrad ME, Lawton AR and Cooper MD (1979) « Studies on the clonal origin of multiple myeloma. Use of individually specific (idiotype) antibodies to trace the oncogenic event to its earliest point of expression in B-cell differentiation » *J Exp Med* 150(4): 792-807.
- LaBarge MA and Blau HM (2002) « Biological progression from adult bone marrow to mononucleate muscle stem cell to multinucleate muscle fiber in response to injury » *Cell* 111(4): 589-601.
- Lagasse E (2008) « Cancer stem cells with genetic instability: the best vehicle with the best engine for cancer » *Gene Ther* 15(2): 136-142.
- Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M, Reitsma M, Dohse M, Osborne L, Wang X, Finegold M, Weissman IL and Grompe M (2000) « Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo » *Nat Med* 6(11): 1229-1234.
- Lajtha LG (1966) « Cytokinetics and regulation of progenitor cells » *J Cell Physiol* 67: 133-147.

- Lander AD (2009) « The 'stem cell' concept: is it holding us back? » *Journal of Biology* 8(8): 70.
- Landsberg J, Kohlmeyer J, Renn M, Bald T, Rogava M, Cron M, Fatho M, Lennerz V, Wolfel T, Holzel M and Tuting T (2012) « Melanomas resist T-cell therapy through inflammation-induced reversible dedifferentiation » *Nature* 490(7420): 412-416.
- Lane SW, Wang YJ, Lo Celso C, Ragu C, Bullinger L, Sykes SM, Ferraro F, Shterental S, Lin CP, Gilliland DG, Scadden DT, Armstrong SA and Williams DA (2011) « Differential niche and Wnt requirements during acute myeloid leukemia progression » *Blood* 118(10): 2849-2856.
- Langhans T (1867) « Ueber Krebs und Cancroid der Lunge, nebst einem Anhang ueber Corpora amylacea in der Lunge » *Arch path Anat Phys klin Med* 38: 497-543.
- Lansdorp P (1997) « Self-Renewal of Stem Cells » *Biol Blood Marrow Transplant* 3: 171-78.
- Lapidot T, Sirard C, Vormoor J, Murdoch B, Hoang T, Caceres-Cortes J, Minden M, Paterson B, Caligiuri MA and Dick JE (1994) « A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice » *Nature* 367(6464): 645-648.
- Laplane L (2008) « 'cancer stem cell' : un concept, des hypothèses », *mémoire de master 2*, Université Paris 7, Denis Diderot, Paris.
- Laplane L (2009) « Cellule souche cancéreuse : réflexions épistémologiques » *Sociétés* 3(105) : 45-55.
- Laplane L (2009) « Thierry Hoquet, *Darwin contre Darwin* » *Sociétés* 3(105): 94-95.
- Laplane L (2011) « Stem Cells and the Temporal Boundaries of Development: Toward a Species-Dependent View » *Biological Theory* 6(1): 48-58.
- Laplane L (2011) *Caractérisation moléculaire et cellulaire des cellules souches impliquées dans la croissance postérieure chez l'annélide Platynereis dumerilii*. Rapport de stage de seconde année de master de biologie, Université Paris 6.
- Lapter S, Livnat I, Faerman A and Zipori D (2007) « Structure and implied functions of truncated B-cell receptor mRNAs in early embryo and adult mesenchymal stem cells: Cdelta replaces Cmu in mu heavy chain-deficient mice » *Stem Cells* 25: 761-770.
- Larochelle A, Vormoor J, Hanenberg H, Wang JC, Bhatia M, Lapidot T, Moritz T, Murdoch B, Xiao XL, Kato I, Williams DA and Dick JE (1996) « Identification of primitive human hematopoietic cells capable of repopulating NOD/SCID mouse bone marrow: implications for gene therapy » *Nat Med* 2(12): 1329-1337.
- Larochelle A, Vormoor J, Lapidot T, Sher G, Furukawa T, Li Q, Shultz L, Olivieri NF, Stamatoyannopoulos G, Dick JE (1995) « Engraftment of immune-deficient mice with primitive hematopoietic cells from β -thalassemia and sickle cell anemia patients: implications for evaluating human gene therapy protocols » *Human Molecular Genetics* 4(2): 163-172.
- Lataillade JJ, Brunet de la Grange P, Uzan G and Le Bousse-Kerdiles MC (2010) « Les cellules souches ont-elles l'âge de leur niche ? A la recherche d'un sérum de jeunesse... » *Med Sci (Paris)* 26(6-7): 582-585.
- Lauche A (1947) « Zur Kenntnis von Pathologie und Klinik der Geschwulste mit synovialmembranartigem Bau (Synovialome oder synoviale Endothelio-Fibrome und -Sarkome) » *Frankfurt. Ztschr. f. Path.* 59: 2-29.

- Lawson DA and Witte ON (2007) « Stem cells in prostate cancer initiation and progression ». *J Clin Invest* 117(8): 2044-2050.
- Le Douarin N (2007) *Cellules souches porteuses d'immortalité*. Paris: Odile Jacob.
- Lechler T and Fuchs E (2005) « Asymmetric cell divisions promote stratification and differentiation of mammalian skin ». *Nature* 437(7056): 275-280.
- Lederer H and Sinclair AJ (1954) « Malignant Synovioma Simulating 'Adamantinoma of the Tibia' ». *J Pathol Bacteriol* 67(1): 163-168.
- Lee JT and Herlyn M (2007) « Old disease, new culprit: tumor stem cells in cancer ». *J Cell Physiol* 213(3): 603-609.
- Legros C et Magitot E (1873) « Origine et formation du follicule dentaire chez les mammifères ». *Journal de l'Anatomie* : 470.
- Legros C et Magitot E (1879) « Morphologie de follicule dentaire chez les mammifères ». *Journal de l'Anatomie*, Mai-juin : 286.
- Lemischka I (2002) « Rethinking somatic stem cell plasticity ». *Nat Biotechnol* 20(5): 425.
- Lengauer C, Kinzler KW and Vogelstein B (1998) « Genetic instabilities in human cancers ». *Nature* 396(6712): 643-649.
- Lenz HJ (2008) « Colon cancer stem cells: a new target in the war against cancer ». *Gastrointest Cancer Res* 2(4): 203-204.
- Leopold G (1881) « Experimentelle Untersuchungen ueber die Aetiologie der Geschwueslste ». *Arch path Anat Phys klin Med* 85: 283-324.
- Lewis D (1983) « Extrinsic Properties ». *Philosophical Studies* 44(2): 197-200.
- Lewis D (1986) *On the Plurality of Worlds*. Oxford: Basil Blackwell.
- Lewis D (1997) « Finkish Dispositions ». *The Philosophical Quarterly* 47(187): 143-158.
- Lewis DD (1910) « A contribution to the subject of tumors of the hypophysis ». *Jour of the American Medical Association* 55(12): 1002-1008.
- Lewis RA (2001) *Discovery: windows on the life sciences*. Malden: Blackwell.
- Leychikis Y, Munzer SR and Richardson JL (2009) « What is stemness? ». *Stud Hist Philos Biol Biomed Sci* 40(4): 312-320.
- Li C, Heidt DG, Dalerba P, Burant CF, Zhang L, Adsay V, Wicha M, Clarke MF and Simeone DM (2007) « Identification of pancreatic cancer stem cells ». *Cancer Res* 67(3): 1030-1037.
- Li X, Lewis MT, Huang J, Gutierrez C, Osborne CK, Wu MF, Hilsenbeck SG, Pavlick A, Zhang X, Chamness GC, Wong H, Rosen J and Chang JC (2008) « Intrinsic resistance of tumorigenic breast cancer cells to chemotherapy ». *J Natl Cancer Inst* 100(9): 672-679.
- Li Y, Wicha MS, Schwartz SJ and Sun D (2011) « Implications of cancer stem cell theory for cancer chemoprevention by natural dietary compounds ». *J Nutr Biochem* 22(9): 799-806.
- Liang L and Bickenbach JR (2002) « Somatic epidermal stem cells can produce multiple cell lineages during development ». *Stem Cells* 20(1): 21-31.
- Lichtenstein L (1977) *Bone tumors*. 5th edition. Saint Louis: Mosby.
- Lichtenstein AV (2008) « Cancer: shift of the paradigm ». *Med Hypotheses* 71(6): 839-850.

- Lichtman MA (2001) « The stem cell in the pathogenesis and treatment of myelogenous leukemia: a perspective » *Leukemia* 15(10): 1489-1494.
- Linder D and Gartler SM (1965) « Glucose-6-phosphate dehydrogenase mosaicism: utilization as a cell marker in the study of leiomyomas » *Science* 150(692): 67-69.
- Linder D and Gartler SM (1967) « Problem of single cell versus multicell origin of a tumor ». *Proceedings of the Fifth Berkeley Symposium on Mathematical Statistics and Probability* 4: 625-633.
- Lindholm J and Nielsen EH (2009) « Craniopharyngioma: historical notes » *Pituitary* 12(4): 352-359.
- Liu G, Yuan X, Zeng Z, Tunici P, Ng H, Abdulkadir IR, Lu L, Irvin D, Black KL and Yu JS (2006) « Analysis of gene expression and chemoresistance of CD133+ cancer stem cells in glioblastoma » *Mol Cancer* 5: 67.
- Liu L (2001) « Cloning efficiency and differentiation » *Nat Biotech* 19(5): 406-406.
- Livet J, Weissman TA, Kang H, Draft RW, Lu J, Bennis RA, Sanes JR and Lichtman JW (2007) « Transgenic strategies for combinatorial expression of fluorescent proteins in the nervous system » *Nature* 450(7166): 56-62.
- Llombart-Bosch A and Ortuno-Pacheco G (1978) « Ultrastructural findings supporting the angioblastic nature of the so-called adamantinoma of the tibia » *Histopathology* 2(3): 189-200.
- Lloyd E (1983) « The nature of Darwin's support for the theory of natural selection ». *Philosophy of Science* 50: 112-129.
- Lloyd E (1988) *The Structure and Confirmation of Evolutionary Theory*. Princeton: Princeton University Press.
- Loeb KR, Loeb LA (2000) « Significance of multiple mutations in cancer » *Carcinogenesis* 21: 379-385.
- Loeb LA (1991) « Mutator phenotype may be required for multistage carcinogenesis » *Cancer Res* 51(12): 3075-3079.
- Loeffler M and Roeder I (2002) « Tissue stem cells: definition, plasticity, heterogeneity, self-organization and models--a conceptual approach » *Cells Tissues Organs* 171(1): 8-26.
- Lopes MBS, Thapar K, Horvath E, Kowacs K (2006) « Neoplasms of the sellar region ». In McLendon RE, Rosenblum MK, Bigner DD (eds) *Russell and Rubinstein's pathology of tumors of the nervous system*, 7th edition. London: Hodder Arnold.
- Lorenz E, Uphoff D, Reid TR and Shelton E (1951) « Modification of irradiation injury in mice and guinea pigs by bone marrow injections » *J Natl Cancer Inst* 12(1): 197-201.
- Löwy I (1991) « The Immunological Construction of the Self », pp.3-75, in Tauber AI (ed.) *Organism and the Origins of Self*. Dordrecht, Kluwer: Boston Studies in the Philosophy of Science.
- Luse SA, Kernohan JW (1955) « Squamous-cell nests of the pituitary gland ». *Cancer* 8(3): 623-628.
- Ma S, Lee TK, Zheng BJ, Chan KW and Guan XY (2008) « CD133+ HCC cancer stem cells confer chemoresistance by preferential expression of the Akt/PKB survival pathway » *Oncogene* 27(12): 1749-1758.

- Madrigal A (2008) « Cancer Stem Cells Could Cause Tumors, Be key to Cure » *Wired Science*.
- Maehle A-H (2011) « Ambiguous cells: the emergence of the stem cell concept in the nineteenth and twentieth centuries » *Notes Rec R Soc* 65: 359-378.
- Maenhaut C, Dumont JE, Roger PP and van Staveren WC (2010) « Cancer stem cells: a reality, a myth, a fuzzy concept or a misnomer? An analysis » *Carcinogenesis* 31(2): 149-158.
- Magee JA, Piskounova E and Morrison SJ (2012) « Cancer stem cells: impact, heterogeneity, and uncertainty » *Cancer Cell* 21(3): 283-296.
- Magitot E (1860) *Mémoire sur les tumeurs du périoste dentaire. Lu à la Société de chirurgie de Paris, dans la séance du 13 avril 1859*. Paris : J-B Baillière.
- Maienschein J (2003) *Whose view of life ? Embryos, cloning and stem cells*. Cambridge, London: Harvard University Press.
- Majeti R, Chao MP, Alizadeh AA, Pang WW, Jaiswal S, Gibbs KD, Jr., van Rooijen N and Weissman IL (2009) « CD47 is an adverse prognostic factor and therapeutic antibody target on human acute myeloid leukemia stem cells » *Cell* 138(2): 286-299.
- Majumder S (ed) (2009) *Stem Cells and Cancer*. Dordrecht, Heidelberg, London, New York: Springer.
- Makino S (1952) « A cytological study of the Yoshida sarcoma, an ascites tumor of white rats » *Chromosoma* 4(7): 649-674.
- Makino S (1956) « Further evidence favoring the concept of the stem cell in ascites tumors of rats » *Ann N Y Acad Sci* 63(5): 818-830.
- Makino S (1959) « The role of tumor stem-cells in regrowth of the tumor following drastic applications » *Acta Unio Internationalis Contra Cancrum* 15(1): 196-198.
- Makino S and Kano K (1953) « Cytological Studies of Tumors. IX. Characteristic Chromosome Individuality in Tumor Strain-Cells in Ascites Tumors of Rats » *J Natl Cancer Inst* 13(5): 1213-1235.
- Makino S and Tanaka T (1953) « The cytological effect of chemicals on ascites sarcomas. I. Partial damage in tumor cells by podophyllin, followed by temporary regression and prolongation of life of tumor-bearing rats » *J Natl Cancer Inst* 13(5): 1185-1199.
- Malanchi I, Peinado H, Kassen D, Hussenet T, Metzger D, Chambon P, Huber M, Hohl D, Cano A, Birchmeier W and Huelsken J (2008) « Cutaneous cancer stem cell maintenance is dependent on beta-catenin signalling » *Nature* 452(7187): 650-653.
- Malanchi I, Santamaria-Martinez A, Susanto E, Peng H, Lehr HA, Delaloye JF and Huelsken J (2012) « Interactions between cancer stem cells and their niche govern metastatic colonization » *Nature* 481(7379): 85-89.
- Malassez L-C (1885) « Sur l'existence d'amas épithéliaux autour de la racine des dents chez l'homme adulte et à l'état normal (débris épithéliaux paradentaires) » *Archives de Physiologie normale et pathologique*, 3^{ème} série (V) : 129-148.
- Malassez L-C (1885) « Sur le rôle des débris épithéliaux paradentaires » *Archives de Physiologie Normale et pathologique*. 3^{ème} série, Tome 5(4) : 309-340.
- Mani SA, Guo W, Liao MJ, Eaton EN, Ayyanan A, Zhou AY, Brooks M, Reinhard F, Zhang CC, Shipitsin M, Campbell LL, Polyak K, Briskin C, Yang J and Weinberg

- RA (2008) « The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells » *Cell* 133(4): 704-715.
- Marchand F (1898) *Die Missbildungen*, 3rd edition. Vienna: Gistel.
- Martin BL et Kimelman D (2009) « Wnt signaling and the evolution of embryonic posterior development » *Curr Biol* 19(5): R215-219.
- Martin GR (1975) « Teratocarcinomas as a model system for the study of embryogenesis and neoplasia » *Cell* 5(3): 229-243.
- Martin GR (1980) « Teratocarcinomas and mammalian embryogenesis » *Science* 209(4458): 768-776.
- Martin GR (1981) « Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells » *Proc Natl Acad Sci U S A* 78(12): 7634-7638.
- Mauer AM and Fisher V (1966) « Characteristics of cell proliferation in four patients with untreated acute leukemia » *Blood* 28(3): 428-445.
- Maximow A (1909) « Der Lymphozyt als gemeinsame Stammzelle der verschiedenen Blutelemente in der embryonalen Entwicklung und im postfetalen Leben der Säugetiere » *Fol Haematol* 8: 125-134.
- McClellan JS and Majeti R (2013) "The cancer stem cell model: B cell acute lymphoblastic leukaemia breaks the mould" *EMBO Mol Med* 5(1): 7-9.
- McCulloch EA (1983) « Stem cells in normal and leukemic hemopoiesis (Henry Stratton Lecture, 1982) » *Blood* 62(1): 1-13.
- McCulloch EA and Till JE (1981) « Blast cells in acute myeloblastic leukemia: a model ». *Blood Cells* 7(1): 63-77.
- McCulloch EA, Till JE and Siminovitch L (1965) « The role of independent and dependent stem cells in the control of hemopoietic and immunologic responses ». *Wistar Inst Symp Monogr* 4: 61-68.
- McCune JM, Namikawa R, Kaneshima H, Shultz LD, Lieberman M and Weissman IL (1988) « The SCID-hu mouse: murine model for the analysis of human hematolymphoid differentiation and function ». *Science* 241(4873): 1632-1639.
- McKenzie JL, Gan OI, Doedens M and Dick JE (2005) « Human short-term repopulating stem cells are efficiently detected following intrafemoral transplantation into NOD/SCID recipients depleted of CD122+ cells ». *Blood* 106(4): 1259-1261.
- Medema JP and Vermeulen L (2011) « Microenvironmental regulation of stem cells in intestinal homeostasis and cancer » *Nature* 474(7351): 318-326.
- Mellor DH (1974) « In Defense of Dispositions », *The Philosophical Review* 83: 157-181.
- Mellor DH (1977) « Natural Kinds ». *British Journal for the Philosophy of Science* 28: 299-331.
- Mellor DH (1982) « Counting Comers Correctly ». *Analysis* 42: 96-97.
- Merlin F (2009) *Le hasard et les sources de la variation biologique : analyse critique d'une notion multiple*. Thèse de doctorat, Université Paris I.
- Merlin F (2013). *Mutations et aléas : le hasard dans la théorie de l'évolution*. Paris : Hermann.
- Merlo LM, Pepper JW, Reid BJ and Maley CC (2006) « Cancer as an evolutionary and ecological process » *Nat Rev Cancer* 6(12): 924-935.

- Messner HA, Jamal N and Izaguirre C (1982) « The growth of large megakaryocyte colonies from human bone marrow » *J Cell Physiol* Suppl 1: 45-51.
- Metcalf D, Moore MA and Warner NL (1969) « Colony formation in vitro by myelomonocytic leukemic cells » *J Natl Cancer Inst* 43(4): 983-1001.
- Mezey E, Chandross KJ, Harta G, Maki RA and McKercher SR (2000) « Turning blood into brain: cells bearing neuronal antigens generated in vivo from bone marrow » *Science* 290(5497): 1779-1782.
- Mikkers H and Frisen J (2005) « Deconstructing stemness » *EMBO J* 24(15): 2715-2719.
- Miles JJ, Silins SL, Brooks AG, Davis JE, Misko I and Burrows SR (2005) « T-cell grit: large clonal expansions of virus-specific CD8+ T cells can dominate in the peripheral circulation for at least 18 years » *Blood* 106(13): 4412-4413.
- Mintz B (1961) « Formation and Early Development of Germ Cells » pp. 1-24 *in* Ranzi S (Ed) *Symposium on the Germ Cells and Earliest Stages of Development*. Fondazioni A Baselli. Milan : Istituto Lombardo.
- Mintz B and Illmensee K (1975) « Normal genetically mosaic mice produced from malignant teratocarcinoma cells » *Proc Natl Acad Sci U S A* 72(9): 3585-3589.
- Mintz B, Cronmiller C and Custer RP (1978) « Somatic cell origin of teratocarcinomas » *Proc Natl Acad Sci U S A* 75(6): 2834-2838.
- Monje PV, Soto J, Bacallao K and Wood PM (2010) « Schwann cell dedifferentiation is independent of mitogenic signaling and uncoupled to proliferation: role of cAMP and JNK in the maintenance of the differentiated state » *J Biol Chem* 285(40): 31024-31036.
- Moore MA, Williams N and Metcalf D (1973) « In vitro colony formation by normal and leukemic human hematopoietic cells: characterization of the colony-forming cells » *J Natl Cancer Inst* 50(3): 603-623.
- Moore N and Lyle S (2011) « Quiescent, slow-cycling stem cell populations in cancer: a review of the evidence and discussion of significance » *J Oncol* 2011(article ID : 396076).
- Morange M (1993) « The Discovery of Cellular Oncogenes » *Hist Phil Life Sci* 15: 45-59.
- Morange M (1997) « From the Regulatory Vision of Cancer to the Oncogene Paradigm, 1975-1985 » *Journal of the History of Biology* 30(1): 1-29.
- Morange M (2003) *La vie expliquée ? 50 ans après la double hélice*. Paris: Odile Jacob.
- Morange M (2006) « What history tells us VII. Twenty-five years ago: the production of mouse embryonic stem cells » *J Biosci* 31(5): 537-541.
- Morel AP, Lievre M, Thomas C, Hinkal G, Ansieau S and Puisieux A (2008) « Generation of breast cancer stem cells through epithelial-mesenchymal transition » *PLoS One* 3(8): e2888.
- Morgan AD and Mackenzie DH (1954) « A Metastasising Adamantinoma of the Tibia » *The Journal of Bone and Joint Surgery* 38(4): 892-898.
- Morrison SJ, Hemmati HD, Wandycz AM and Weissman IL (1995) « The purification and characterization of fetal liver hematopoietic stem cells » *Proc Natl Acad Sci U S A* 92(22): 10302-10306.

- Morrison SJ, Wandycz AM, Hemmati HD, Wright DE and Weissman IL (1997) « Identification of a lineage of multipotent hematopoietic progenitors » *Development* 124(10): 1929-1939.
- Morrison R, Schleicher SM, Sun Y, Niermann KJ, Kim S, Spratt DE, Chung CH and Lu B (2011) « Targeting the mechanisms of resistance to chemotherapy and radiotherapy with the cancer stem cell hypothesis » *J Oncol* 2011: 941876.
- Mosier DE, Gulizia RJ, Baird SM and Wilson DB (1988) « Transfer of a functional human immune system to mice with severe combined immunodeficiency » *Nature* 335(6187): 256-259.
- Müller JP (1838) *Ueber den Feinern Bau der krankhaften Geschwulste*. Berlin: G. Reimer.
- Mumford S (1998) *Dispositions*. Oxford: Oxford University Press.
- Murray RF, Hobbs J and Payne B (1971) « Possible clonal origin of common warts (*Verruca vulgaris*) » *Nature* 232(5305): 51-52.
- Murre C (2007) « Defining the pathways of early adult hematopoiesis » *Cell Stem Cell* 1(4): 357-358.
- Murre C (2009) « Developmental trajectories in early hematopoiesis » *Genes Dev* 23(20): 2366-2370.
- Naik SH, Perie L, Swart E, Gerlach C, van Rooij N, de Boer RJ and Schumacher TN (2013) « Diverse and heritable lineage imprinting of early haematopoietic progenitors » *Nature* 496(7444): 229-232.
- Najfeld V (1998) « Clonal origin of leukemia – revisited. A tribute to Philip J Fialkow, MD » *Leukemia* 12(2): 106-107.
- Naji AF, Murphy JA, Stasney RJ, Neville WE & Chrenka P (1964) « So-called adamantinoma of long bones. Report of a case, with massive pulmonary metastasis » *Journal of Bone Joint Surgery* 46A: 151-158.
- Nakeff A and Daniels-McQueen S (1976) « In vitro colony assay for a new class of megakaryocyte precursor: colony-forming unit megakaryocyte (CFU-M) » *Proc Soc Exp Biol Med* 151(3): 587-590.
- Neander K (1991) « The Teleological Notion of Function » *Australian Journal of Philosophy* 69: 454-468.
- Nguyen LV, Vanner R, Dirks P and Eaves CJ (2012) « Cancer stem cells: an evolving concept » *Nat Rev Cancer* 12(2): 133-143.
- Nicolay BN, Bayarmagnai B, Moon NS, Benevolenskaya EV and Frolov MV (2010) « Combined inactivation of pRB and hippo pathways induces dedifferentiation in the *Drosophila* retina » *PLoS Genet* 6(4): e1000918.
- Nishikawa S and Osawa M (2007) « Generating quiescent stem cells » *Pigment Cell Res* 20: 263-270.
- Notta F, Doulatov S and Dick JE (2010) « Engraftment of human hematopoietic stem cells is more efficient in female NOD/SCID/IL-2Rgc-null recipients » *Blood* 115(18): 3704-3707.
- Notta F, Mullighan CG, Wang JC, Poepl A, Doulatov S, Phillips LA, Ma J, Minden MD, Downing JR and Dick JE (2011) « Evolution of human BCR-ABL1 lymphoblastic leukaemia-initiating cells » *Nature* 469(7330): 362-367.

- Nowell PC (1976) « The clonal evolution of tumor cell populations » *Science* 194(4260): 23-28.
- Nye HL, Cameron JA, Chernoff EA and Stocum DL (2003) « Regeneration of the urodele limb: a review » *Dev Dyn* 226(2): 280-294.
- O'Brien CA, Pollett A, Gallinger S and Dick JE (2007) « A human colon cancer cell capable of initiating tumour growth in immunodeficient mice » *Nature* 445(7123): 106-110.
- O'Malley MA and Dupré J (2005) « Fundamental issues in systems biology » *Bioessays* 27(12): 1270-1276.
- Odoux C, Fohrer H, Hoppe T, Guzik L, Stolz DB, Lewis DW, Gollin SM, Gamblin TC, Geller DA and Lagasse E (2008) « A stochastic model for cancer stem cell origin in metastatic colon cancer » *Cancer Res* 68(17): 6932-6941.
- Okada TS (1991). *Transdifferentiation. Flexibility in Cell Differentiation*. Oxford: Clarendon Press.
- Okita K, Ichisaka T and Yamanaka S (2007) « Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells » *Nature* 448(7151): 313-317.
- Okita K, Nakagawa M, Hyunjong H, Ichisaka T and Yamanaka S (2008) « Generation of mouse induced pluripotent stem cells without viral vectors » *Science* 322(5903): 949-953.
- Oliver M and Scott E (1934) « Adamantinoma or ameloblastoma of the hypophyseal-duct region » *The American Journal of Cancer* 21(3): 501-516.
- Orkin SH and Zon LI (2002) « Hematopoiesis and stem cells: plasticity versus developmental heterogeneity » *Nat Immunol* 3(4): 323-328.
- Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Jakoniuk I, Anderson SM, Li B, Pickel J, McKay R, Nadal-Ginard B, Bodine DM, Leri A and Anversa P (2001) « Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium » *Nature* 410(6829): 701-705.
- Osafune K, Caron L, Borowiak M, Martinez RJ, Fitz-Gerald CS, Sato Y, Cowan CA, Chien KR and Melton DA (2008) « Marked differences in differentiation propensity among human embryonic stem cell lines » *Nat Biotechnol* 26(3): 313-315.
- Panigrahi AK and Pati D (2012) « Higher-order orchestration of hematopoiesis: Is cohesin a new player? » *Experimental Hematology* 40(12): 967-973.
- Pantic I (2011) « Cancer stem cell hypotheses: impact on modern molecular physiology and pharmacology research » *J Biosci* 36(5): 957-961.
- Papaianou VE, Rossant J and Gardner R (1978) « Stem Cells in Early Mammalian Development », pp. 49-69. In Lord BI, Potten CS and Cole RJ (eds). *Stem Cells and Tissue Homeostasis*. Cambridge : Cambridge University Press.
- Papaioannou VE, McBurney MW, Gardner RL and Evans MJ (1975) « Fate of teratocarcinoma cells injected into early mouse embryos » *Nature* 258: 70-73.
- Pappenheim A (1896) « Ueber Entwicklung und Ausbildung der Erythroblasten » *Virchows Arch Pathol Anat* 145: 587-643.
- Pappenheim A (1907) « Zwei Fälle akuter grosslymphozytärer Leukämie » *Fol Haematol* 4: 301-308.

- Pardal R, Clarke MF and Morrison SJ (2003) « Applying the principles of stem-cell biology to cancer » *Nat Rev Cancer* 3(12): 895-902.
- Passegue E, Jamieson CH, Ailles LE and Weissman IL (2003) « Normal and leukemic hematopoiesis: are leukemias a stem cell disorder or a reacquisition of stem cell characteristics? » *Proc Natl Acad Sci U S A* 100 Suppl 1: 11842-11849.
- Paul SM, Mytelka DS, Dunwiddie CT, Persinger CC, Munos BH, Lindborg SR and Schacht AL (2010) « How to improve R&D productivity: the pharmaceutical industry's grand challenge » *Nat Rev Drug Discov* 9(3): 203-214.
- Pece S, Tosoni D, Confalonieri S, Mazzarol G, Vecchi M, Ronzoni S, Bernard L, Viale G, Pelicci PG and Di Fiore PP (2010) « Biological and molecular heterogeneity of breast cancers correlates with their cancer stem cell content » *Cell* 140(1): 62-73.
- Pelus LM and Hoggatt J (2011) « Pleiotropic effects of prostaglandin E2 in hematopoiesis; prostaglandin E2 and other eicosanoids regulate hematopoietic stem and progenitor cell function » *Prostaglandins and Other Lipid Mediators* 96(1-4): 3-9.
- Perez-Pomares JM and Munoz-Chapuli R (2002) « Epithelial-mesenchymal transitions: a mesodermal cell strategy for evolutive innovation in Metazoans » *Anat Rec* 268(3): 343-351.
- Persidis A (1999) « Cancer multidrug resistance » *Nat Biotechnol* 17(1): 94-95.
- Petersen BE, Bowen WC, Patrene KD, Mars WM, Sullivan AK, Murase N, Boggs SS, Greenberger JS and Goff JP (1999) « Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells » *Science* 284(5417): 1168-1170.
- Petit I, Szyper-Kravitz M, Nagler A, Lahav M, Peled A, Habler L, Ponomaryov T, Taichman RS, Arenzana-Seisdedos F, Fujii N, Sandbank J, Zipori D and Lapidot T (2002) « G-CSF induces stem cell mobilization by decreasing bone marrow SDF-1 and up-regulating CXCR4 » *Nat Immunol* 3(7): 687-694.
- Peyron A (1939) « Faits nouveaux relatifs à l'origine et à l'histogénèse des embryomes » *Bull Cancer* 28 : 658-681.
- Piccirillo SG, Combi R, Cajola L, Patrizi A, Redaelli S, Bentivegna A, Baronchelli S, Maira G, Pollo B, Mangiola A, DiMeco F, Dalpra L and Vescovi AL (2009) « Distinct pools of cancer stem-like cells coexist within human glioblastomas and display different tumorigenicity and independent genomic evolution » *Oncogene* 28(15): 1807-1811.
- Pierce GB (1967) « Teratocarcinoma: model for a developmental concept of cancer » *Curr Top Dev Biol* 2: 223-246.
- Pierce GB (1970) « Differentiation of Normal and Malignant Cells » *Fed Proc* 29(3): 1248-1254.
- Pierce GB (1974) « Neoplasms, Differentiations and Mutations » *Am J Pathol* 77(1): 103-118.
- Pierce GB (1975) « Teratocarcinoma: Introduction and Perspectives », pp. 3-12. In Sherman M and Solter D (eds) *Teratomas and Differentiation*. London : Academic Press.
- Pierce GB (1977) « Neoplastic stem cells » *Adv Pathobiol* 6: 141-152.
- Pierce GB (1977) « Relationship between differentiation and carcinogenesis » *J Toxicol Environ Health* 2(6): 1335-1342.

- Pierce GB and Dixon FJ, Jr. (1959) « Testicular Teratomas. I. Demonstration of Teratogenesis by Metamorphosis of Multipotential Cells » *Cancer* 12(3): 573-583.
- Pierce GB and Dixon FJ, Jr. (1959) « Testicular teratomas. II. Teratocarcinoma as an ascitic tumor » *Cancer* 12(3): 584-589.
- Pierce GB and Johnson LD (1971) « Differentiation and cancer » *In Vitro* 7(3): 140-145.
- Pierce GB and Johnson LD (1971) « Differentiation and Cancer » *In Vitro* 7(3): 140-145.
- Pierce GB and Speers WC (1988) « Tumors as caricatures of the process of tissue renewal: prospects for therapy by directing differentiation » *Cancer Res* 48(8): 1996-2004.
- Pierce GB and Verney EL (1961) « An in vitro and in vivo study of differentiation in teratocarcinomas » *Cancer* 14: 1017-1029.
- Pierce GB, Dixon FJ, Jr. and Verney EL (1960) « Teratocarcinogenic and tissue-forming potentials of the cell types comprising neoplastic embryoid bodies » *Lab Invest* 9: 583-602.
- Pierce GB, Nakane PK, Martinez-Hernandez A and Ward JM (1977) « Ultrastructural comparison of differentiation of stem cells of murine adenocarcinomas of colon and breast with their normal counterparts » *J Natl Cancer Inst* 58(5): 1329-1345.
- Pierce GB, Shikes R and Fink LM (1978) *Cancer: A Problem of Developmental Biology*. Prentice Hall: Englewood Cliffs.
- Pike BL and Robinson WA (1970) « Human bone marrow colony growth in agar-gel » *J Cell Physiol* 76(1): 77-84.
- Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, Moorman MA, Simonetti DW, Craig S and Marshak DR (1999) « Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells » *Science* 284(5411): 143-147.
- Pluznik DH and Sachs L (1966) « The induction of clones of normal mast cells by a substance from conditioned medium » *Exp Cell Res* 43(3): 553-563.
- Pocheville A (2009) « La niche écologique : histoires et controverses récentes », chapitre 27, pp. 629-656, in Hems T, Huneman P, Lecointre G, Silberstein M (eds) *Les Mondes darwiniens. L'évolution de l'évolution*. Paris : Syllepse.
- Pocheville A (2010). *La niche écologique. Concepts, modèles, applications*. Thèse de doctorat en Sciences de la Vie et de la Santé. Paris, Ecole Normale Supérieure.
- Polyak K (2007) « Breast cancer: origins and evolution » *J Clin Invest* 117(11): 3155-3163.
- Polyak K and Hahn WC (2006) « Roots and stems: stem cells in cancer » *Nat Med* 12(3): 296-300.
- Potter VR (1980) « Initiation and promotion in cancer formation: the importance of studies on intercellular communication » *Yale J Biol Med* 53(5): 367-384.
- Poulton Nicholson GW (1929) « The histogeny of teratomata » *The Journal of Pathology and Bacteriology* 32(3): 365-386.
- Powell K (2005) « Stem-cell niches: it's the ecology, stupid! » *Nature* 435(7040): 268-270.
- Pradeu T (2009) *Les limites du soi : immunologie et identité biologique*. Montréal : Presses Universitaires de Montréal & Paris : Vrin.
- Pradeu T (2011) « Philosophie de la biologie », in Barberousse A, Bonnay D and Cozic M (eds) *Précis de philosophie des sciences*. Paris: Vuibert.

- Pradeu T, Laplane L, Morange M, Nicoglou A and Vervoort M. (2011) « The Boundaries of development ». *Biological Theory* 6(1): 1-3.
- Price ND, Foltz G, Madan A, Hood L and Tian Q (2008) « Systems biology and cancer stem cells » *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 12(1): 97-110.
- Priller J, Persons DA, Klett FF, Kempermann G, Kreutzberg GW and Dirnagl U (2001) « Neogenesis of cerebellar Purkinje neurons from gene-marked bone marrow cells in vivo » *J Cell Biol* 155(5): 733-738.
- Prince ME, Sivanandan R, Kaczorowski A, Wolf GT, Kaplan MJ, Dalerba P, Weissman IL, Clarke MF and Ailles LE (2007) « Identification of a subpopulation of cells with cancer stem cell properties in head and neck squamous cell carcinoma » *Proc Natl Acad Sci U S A* 104(3): 973-978.
- Proctor RN (1995) *Cancer Wars. How Politics Shapes What We Know and Don't Know About Cancer*. New York: BasicBooks.
- Pronk CJ, Rossi DJ, Mansson R, Attema JL, Norrdahl GL, Chan CK, Sigvardsson M, Weissman IL and Bryder D (2007) « Elucidation of the phenotypic, functional, and molecular topography of a myeloerythroid progenitor cell hierarchy » *Cell Stem Cell* 1(4): 428-442.
- Puck TT, Morkovin D, Marcus PI and Cieciora SJ (1957) « Action of x-rays on mammalian cells. II. Survival curves of cells from normal human tissues » *J Exp Med* 106(4): 485-500.
- Qian H, Buza-Vidas N, Hyland CD, Jensen CT, Antonchuk J, Mansson R, Thoren LA, Ekblom M, Alexander WS and Jacobsen SEW (2007) « Critical Role of Thrombopoietin in Maintaining Adult Quiescent Hematopoietic Stem Cells » *Cell Stem Cell* 1(6): 671-684.
- Qin H-Y, Fu L-A and Han H (2011) « Regulation of Glioma Stem Cells by the Notch Signaling Pathway: Mechanisms and Therapeutic Implications », chap 15, pp. 291-310. In Shostak S (Ed) *Cancer Stem Cells. Cutting Edge*. Croatia: InTech.
- Quesenberry PJ, Colvin G, Dooner G, Dooner M, Aliotta JM and Johnson K (2007) « The stem cell continuum: cell cycle, injury, and phenotype lability » *Ann N Y Acad Sci* 1106: 20-29.
- Quesenberry PJ, Colvin GA and Lambert JF (2002) « The chiaroscuro stem cell: a unified stem cell theory » *Blood* 100(13): 4266-4271
- Quintana E, Shackleton M, Sabel MS, Fullen DR, Johnson TM and Morrison SJ (2008) « Efficient tumour formation by single human melanoma cells » *Nature* 456(7222): 593-598.
- Rader K (2004) *Making Mice. Standardizing Animals for American Biomedical Research, 1900-1955*. Princeton: Princeton University Press.
- Rahman M, Deleyrolle L, Vedam-Mai V, Azari H, Abd-El-Barr M and Reynolds BA (2011) « The cancer stem cell hypothesis: failures and pitfalls » *Neurosurgery* 68(2): 531-545.
- Rajan KS (2006) *Biocapitalism*. Duke : Duke University Press.
- Rak J (2006) « Is cancer stem cell a cell, or a multicellular unit capable of inducing angiogenesis? » *Med Hypotheses* 66(3): 601-604.

- Ramachandran R, Fausett BV and Goldman D (2010) « Ascl1a regulates Muller glia dedifferentiation and retinal regeneration through a Lin-28-dependent, let-7 microRNA signalling pathway » *Nat Cell Biol* 12(11): 1101-1107.
- Ramalho-Santos M and Willenbring H (2007) « On the Origin of the Term « Stem Cell » » *Cell Stem Cell* 1(1): 35-38.
- Ramalho-Santos M, Yoon S, Matsuzaki Y, Mulligan RC and Melton DA (2002) « "Stemness": transcriptional profiling of embryonic and adult stem cells » *Science* 298(5593): 597-600.
- Rankin JO (1939) « Adamantinoma of the tibia » *The Journal of Bone and Joint Surgery* 21(2): 425-432.
- Rapp UR, Ceteci F and Schreck R (2008) « Oncogene-induced plasticity and cancer stem cells » *Cell Cycle* 7(1): 45-51.
- Raskind WH, Steinmann L and Najfeld V (1998) « Clonal development of myeloproliferative disorders: clues to hematopoietic differentiation and multistep pathogenesis of cancer » *Leukemia* 12(2): 108-116.
- Rastrick JM (1969) « A method for the positive identification of erythropoietic cells in chromosome preparations of bone marrow » *Br J Haematol* 16(1): 185-191.
- Rather LJ (1978) *The genesis of cancer. A Study in the History of Ideas*. Baltimore: Johns Hopkins University Press.
- Raynolds AH, Olivetti RG and Ekstrand RW (1955) « Aleukemic stem cell leukemia with polyserositis; report of case » *Blood* 10(1): 81-86.
- Recker D (1987) « Causal efficacy: the structure of Darwin's argument strategy in the origin of species » *Philosophy of Science* 54(2): 147-175.
- Reed RJ (1982) « Malignant myxoid angioblastoma of bone » *m J Surg Pathol* 6(2): 159-163.
- Rehbock DJ & Barber CG (1938) « Adamantinoma of Tibia. Report of a Case » *The journal of Bone and Joint Surgery* 20(1): 187-192.
- Rehe K, Wilson K, Bomken S, Williamson D, Irving J, den Boer ML, Stanulla M, Schrappe M, Hall AG, Heidenreich O and Vormoor J (2012) « Acute B lymphoblastic leukaemia-propagating cells are present at high frequency in diverse lymphoblast populations » *EMBO Mol Med* 5(1): 38-51.
- Remak R (1841) « Ueber die Entstehung der Blutkörperchen » *Medizinische Zeitung* 10: 127.
- Remak R (1845) « Ueber die Entwicklung der Muskelprimitivbündel » *Froriep's Notizen* 35: 305-308.
- Remak R (1852) « Ueber extracellulare Entstehung thierischer Zellen » *Arch Anat Phys Wiss Med*: 47-57.
- Remak R (1854) « Ein Beitrag zur Entwicklungsgeschichte der krebshaften Geschwulste » *Deutsche Klinik*: 170-174.
- Remak R (1855) *Untersuchungen über die Entwicklung der Wilbelthiere*. Berlin: R. Reimer.
- Restifo NP, Dudley ME and Rosenberg SA (2012) « Adoptive immunotherapy for cancer: harnessing the T cell response » *Nat Rev Immunol* 12(4): 269-281.
- Reya T, Duncan AW, Ailles L, Domen J, Scherer DC, Willert K, Hintz L, Nusse R and Weissman IL (2003) « A role for Wnt signalling in self-renewal of haematopoietic stem cells » *Nature* 423(6938): 409-414.

- Reya T, Morrison SJ, Clarke MF and Weissman IL (2001) « Stem cells, cancer, and cancer stem cells » *Nature* 414(6859): 105-111.
- Rheinberger H-J (2000) « Gene concepts: Fragments from the Perspective of Molecular Biology », chapter 10, pp. 219-239. In Beurton P, Falk R, Rheinberger H-J (eds). *The Concept of the Gene in Development and Evolution: Historical and Epistemological Perspectives*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Ribbert H (1897) *Ueber Rueckbildung an Zellen und Geweben und ueber die Entstehung der Geschwuelste*. Stuttgart: Erwin Nägele.
- Ribbert H (1906) *Beitraege zur Entstehung der Geschwuelste*. Bonn: Friedrich Cohen.
- Ricci-Vitiani L, Pagliuca, Palio E, Zeuner A, De Maria R (2008) « Colon cancer stem cells » *Gut* 57: 538-548.
- Richter CS (1930) « Ein Fall von adamantinomartiger Geschwulst des Schienbeins » *Zeitschrift für Krebsforschung* 32(1-2): 273-279.
- Rifkin J (1998) *Le siècle biotech*. Paris : La Découverte.
- Ritchie DS and Smyth MJ (2009) « A new therapeutic target for leukemia comes to the surface » *Cell* 138(2): 226-228.
- Rivera S, Rivera C, Loriot Y, Hennequin C, Vozenin MC and Deutsch E (2011) « Cellules souches cancéreuses: nouvelle cible thérapeutique dans le traitement des cancers bronchopulmonaires » *Cancer Radiother* 15(5): 355-364.
- Robert JS (2004) « Model systems in stem cell biology » *Bioessays* 26(9): 1005-1012.
- Rodriguez PL, Harada T, Christian DA, Pantano DA, Tsai RK and Discher DE (2013) « Minimal "Self" peptides that inhibit phagocytic clearance and enhance delivery of nanoparticles » *Science* 339(6122): 971-975.
- Roeder I, Horn K, Sieburg HB, Cho R, Muller-Sieburg C and Loeffler M (2008) « Characterization and quantification of clonal heterogeneity among hematopoietic stem cells: a model-based approach » *Blood* 112(13): 4874-4883.
- Roesch A, Fukunaga-Kalabis M, Schmidt EC, Zabierowski SE, Brafford PA, Vultur A, Basu D, Gimotty P, Vogt T and Herlyn M (2010) « A temporarily distinct subpopulation of slow-cycling melanoma cells is required for continuous tumor growth » *Cell* 141(4): 583-594.
- Rosai J (1969) « Adamantinoma of the tibia. Electron microscopic evidence of its epithelial origin » *Am J Clin Pathol* 51(6): 786-792.
- Rosai J and Pincus GS (1982) « Immunohistochemical demonstration of epithelial differentiation in adamantinoma of the tibia » *Am J Surg Pathol* 6(5): 427-434.
- Rosenberg A and McShea DW (2008) *The Philosophy of Biology. A Contemporary Introduction*. New York and London: Routledge.
- Rosenberg SA, Yang JC, Sherry RM, Kammula US, Hughes MS, Phan GQ, Citrin DE, Restifo NP, Robbins PF, Wunderlich JR, Morton KE, Laurencot CM, Steinberg SM, White DE and Dudley ME (2011) « Durable complete responses in heavily pretreated patients with metastatic melanoma using T-cell transfer immunotherapy » *Clin Cancer Res* 17(13): 4550-4557.
- Ross RT and Schoemperlen CB (1950) « The effect of aminopterin and partial exsanguination transfusion on a case of acute stem cell leukemia; a case report and review of the literature on these two procedures » *Ann Intern Med* 32(1): 123-128.

- Rossi L, Lin KK, Boles NC, Yang L, King KY, Jeong M, Mayle A and Goodell MA (2012) « Less is more: unveiling the functional core of hematopoietic stem cells through knockout mice » *Cell Stem Cell* 11(3): 302-317.
- Rössle R (1906) « Ueber die Einverleibung von Embryonalzellen » *Münch Med Woch Schr* 53: 143-144.
- Rousselot P, Huguet F, Rea D, Legros L, Cayuela JM, Maarek O, Blanchet O, Marit G, Gluckman E, Reiffers J, Gardembas M and Mahon FX (2007) « Imatinib mesylate discontinuation in patients with chronic myelogenous leukemia in complete molecular remission for more than 2 years » *Blood* 109(1): 58-60.
- Ruphy S (2010) « Are Stellar Kinds Natural Kinds? A Challenging Newcomer in the Monism/Pluralism and Realism/Antirealism Debates » *Philosophy of Science* 77(5): 1109-1120.
- Ruse M (1973) *The Philosophy of Biology*. London: Hutchinson University Press.
- Ruse M (1975) « Darwin's debt to philosophy: an examination of the influence of the philosophical ideas of John F.W. Herschel and William Whewell on the development of Charles Darwin's theory of evolution » *Studies in History and Philosophy of Science* 6(2): 159-181.
- Ryrie BJ (1932) « Adamantinoma of the Tibia: Aetiology and Pathogenesis » *Br Med J* 2(3752): 1000-1003.
- Sabbath KD, Ball ED, Larcom P, Davis RB and Griffin JD (1985) « Heterogeneity of clonogenic cells in acute myeloblastic leukemia » *J Clin Invest* 75(2): 746-753.
- Saito Y, Uchida N, Tanaka S, Suzuki N, Tomizawa-Murasawa M, Sone A, Najima Y, Takagi S, Aoki Y, Wake A, Taniguchi S, Shultz LD and Ishikawa F (2010) « Induction of cell cycle entry eliminates human leukemia stem cells in a mouse model of AML » *Nat Biotechnol* 28(3): 275-280.
- Sato H (1952) « On the Chromosomes of Yoshida Sarcoma; Studies with Tumor Cells Proliferated in the Peritoneal Cavity of the Rat Transplanted with a Single Cell » *Gan* 43(1): 1-16.
- Satoh A, Bryant SV and Gardiner DM (2008) « Regulation of dermal fibroblast dedifferentiation and redifferentiation during wound healing and limb regeneration in the Axolotl » *Dev Growth Differ* 50(9): 743-754.
- Satoh A, Graham GM, Bryant SV and Gardiner DM (2008) « Neurotrophic regulation of epidermal dedifferentiation during wound healing and limb regeneration in the axolotl (*Ambystoma mexicanum*) » *Dev Biol* 319(2): 321-335.
- Scatena R, Mordente A and Giardina B (ed) (2011). *Advances in Cancer Stem Cell Biology*. Dordrecht, Heidelberg, London, New York: Springer.
- Scheel C, Eaton EN, Li SH, Chaffer CL, Reinhardt F, Kah KJ, Bell G, Guo W, Rubin J, Richardson AL and Weinberg RA (2011) « Paracrine and autocrine signals induce and maintain mesenchymal and stem cell states in the breast » *Cell* 145(6): 926-940.
- Schleiden MJ (1838) « Beiträge zur Phytogenese » *Archiv für Anatomie, Physiologie und wissenschaftliche Medizin*: 137-176.
- Schofield R (1978) « The relationship between the spleen colony-forming cell and the haemopoietic stem cell » *Blood Cells* 4(1-2): 7-25.
- Schofield R (1983) « The stem cell system » *Biomed Pharmacother* 37(8): 375-380.

- Schulenburg CA (1951) « Adamantinoma » *Ann R Coll Surg Engl* 8(5): 329-353.
- Schwalbe E (1906) *Allgemeine Missbildungslehre (Teratologie). Eine Einfuehrung in das Studium der Abnormen Entwicklung*. Jena: Gustav Fischer.
- Schwann T (1839) *Mikroskopische Untersuchungen über die Übereinstimmung in der Struktur und dem Wachstum der Thiere und Pflanzen*. Berlin: Sander'schen Buchhandlung.
- Schwendemann J, Choi C, Schirmacher V and Beckhove P (2005) « Dynamic differentiation of activated human peripheral blood CD8+ and CD4+ effector memory T cells » *J Immunol* 175(3): 1433-1439.
- Seaberg RM and van der Kooy D (2003) « Stem and progenitor cells: the premature desertion of rigorous definitions » *Trends Neurosci* 26(3): 125-131.
- Seery JP and Watt FM (2000) « Asymmetric stem-cell divisions define the architecture of human oesophageal epithelium » *Curr Biol* 10(22): 1447-1450.
- Sell S and Pierce GB (1994) « Maturation arrest of stem cell differentiation is a common pathway for the cellular origin of teratocarcinomas and epithelial cancers » *Lab Invest* 70(1): 6-22.
- Shackleton M, Quintana E, Fearon ER and Morrison SJ (2009) « Heterogeneity in cancer: cancer stem cells versus clonal evolution » *Cell* 138(5): 822-829.
- Shapira A, Livney YD, Broxterman HJ and Assaraf YG (2011) « Nanomedicine for targeted cancer therapy: towards the overcoming of drug resistance » *Drug Resist Updat* 14(3): 150-163.
- Shen CN, Horb ME, Slack JM and Tosh D (2003) « Transdifferentiation of pancreas to liver » *Mech Dev* 120(1): 107-116.
- Sheng XR, Brawley CM and Matunis EL (2009) « Dedifferentiating spermatogonia outcompete somatic stem cells for niche occupancy in the Drosophila testis » *Cell Stem Cell* 5(2): 191-203
- Sherman MI (1975) « Long Term Culture of Cells Derived from Mouse Blastocysts » *Differentiation* 3(1-3): 51-67.
- Sherman MI (1975) « The culture of cells derived from mouse blastocysts » *Cell* 5(4): 343-349.
- Sherman MI and Solter D (eds) (1975). *Teratomas and Differentiation*. London : Academic Press.
- Shibata M and Shen MM (2013) « The roots of cancer: Stem cells and the basis for tumor heterogeneity » *Bioessays* 35(3): 253-260.
- Shipitsin M, Campbell LL, Argani P, Weremowicz S, Bloushtain-Qimron N, Yao J, Nikolskaya T, Serebryiskaya T, Beroukhim R, Hu M, Halushka MK, Sukumar S, Parker LM, Anderson KS, Harris LN, Garber JE, Richardson AL, Schnitt SJ, Nikolsky Y, Gelman RS and Polyak K (2007) « Molecular definition of breast tumor heterogeneity » *Cancer Cell* 11(3): 259-273.
- Shipitsin M and Polyak K (2008) « The cancer stem cell hypothesis: in search of definitions, markers, and relevance » *Lab Invest* 88(5): 459-463.
- Shostak S (2006) « (Re)defining stem cells » *Bioessays* 28(3): 301-308.
- Shostak S (2011) *Cancer Stem Cells: The Cutting Edge*. Rijeka: InTech.

- Simson LR, Lampe I and Abell MR (1968) « Suprasellar germinomas » *Cancer* 22(3): 533-544.
- Singh A and Settleman J (2010) « EMT, cancer stem cells and drug resistance: an emerging axis of evil in the war on cancer » *Oncogene* 29(34): 4741-4751
- Singh SK, Clarke ID, Terasaki M, Bonn VE, Hawkins C, Squire J and Dirks PB (2003) « Identification of a cancer stem cell in human brain tumors » *Cancer Res* 63(18): 5821-5828.
- Singh SK, Hawkins C, Clarke ID, Squire JA, Bayani J, Hide T, Henkelman RM, Cusimano MD and Dirks PB (2004) « Identification of human brain tumour initiating cells » *Nature* 432(7015): 396-401.
- Slack JM (2007) « Metaplasia and transdifferentiation: from pure biology to the clinic » *Nat Rev Mol Cell Biol* 8(5): 369-378.
- Slack JM and Tosh D (2001) « Transdifferentiation and metaplasia--switching cell types » *Curr Opin Genet Dev* 11(5): 581-586.
- Smart JJC (1963) *Philosophy and Scientific Realism*. London: Routledge & Kegan Paul.
- Sneddon JB and Werb Z (2007) « Location, location, location: the cancer stem cell niche » *Cell Stem Cell* 1(6): 607-611.
- Solovitch S (2008) « Cancer research nets \$1.4B deal for OncoMed » *San Francisco Business Times*.
- Sober E (2006) « Two outbreaks of lawlessness in recent philosophy of biology », pp. 249-58, in Sober E (ed) *Conceptual Issues in Evolutionary Biology*. Cambridge and London: MIT Press.
- Solter D (2006) « From teratocarcinomas to embryonic stem cells and beyond: a history of embryonic stem cell research » *Nat Rev Genet* 7(4): 319-327.
- Somervaille TC and Cleary ML (2006) « Identification and characterization of leukemia stem cells in murine MLL-AF9 acute myeloid leukemia » *Cancer Cell* 10(4): 257-268.
- Song X and Xie T (2002) « DE-cadherin-mediated cell adhesion is essential for maintaining somatic stem cells in the Drosophila ovary » *Proc Natl Acad Sci U S A* 99(23): 14813-14818.
- Song X, Zhu CH, Doan C and Xie T (2002) « Germline stem cells anchored by adherens junctions in the Drosophila ovary niches » *Science* 296(5574): 1855-1857.
- Southam CM and Brunschwig A (1961) « Quantitative studies of autotransplantation of human cancer. Preliminary report » *Cancer* 14(5): 971-978.
- Spjut HJ, Dorfman HD, Fechner RE and Andackerman LV (1971) *Tumors of Bone and Cartilage*. Fascicle 5, pp. 315-323 of *Atlas of Tumor Pathology*. 2nd edition. Washington DC, Armed Forces Institute of Pathology.
- Sporn MB (1996) « The war on cancer » *The Lancet* 347(9012): 1377-1381.
- Stadtfeld M, Nagaya M, Utikal J, Weir G and Hochedlinger K (2008) « Induced Pluripotent Stem Cells Generated Without Viral Integration » *Science* 322(5903): 945-949.
- Star SL and Griesemer JR (1989) « Institutional ecology, “translations” and boundary objects: Amateurs and professionals in Berkeley’s museum of vertebrate zoology, 1907–39 » *Social Studies of Sciences* 19(4): 387–420.

- Stephens PJ, Greenman CD, Fu B, Yang F, Bignell GR, Mudie LJ, Pleasance ED, Lau KW, Beare D, Stebbings LA, McLaren S, Lin ML, McBride DJ, Varela I, Nik-Zainal S, Leroy C, Jia M, Menzies A, Butler AP, Teague JW, Quail MA, Burton J, Swerdlow H, Carter NP, Morsberger LA, Jacobuzio-Donahue C, Follows GA, Green AR, Flanagan AM, Stratton MR, Futreal PA and Campbell PJ (2011) « Massive genomic rearrangement acquired in a single catastrophic event during cancer development » *Cell* 144(1): 27-40.
- Stevens LC (1959) « Embryology of testicular teratomas in strain 129 mice » *J Natl Cancer Inst* 23: 1249-1295.
- Stevens LC (1960) « Embryonic potency of embryoid bodies derived from a transplantable testicular teratoma of the mouse » *Dev Biol* 2: 285-297.
- Stevens LC (1964) « Experimental Production of Testicular Teratomas in Mice » *Proc Natl Acad Sci U S A* 52: 654-661.
- Stevens LC (1967) « Origin of testicular teratomas from primordial germ cells in mice » *J Natl Cancer Inst* 38(4): 549-552.
- Stevens LC (1968) « The development of teratomas from intratesticular grafts of tubal mouse eggs » *J Embryol Exp Morphol* 20(3): 329-341.
- Stevens LC (1970) « The development of transplantable teratocarcinomas from intratesticular grafts of pre- and postimplantation mouse embryos » *Dev Biol* 21(3): 364-382.
- Stevens LC and Little CC (1954) « Spontaneous Testicular Teratomas in an Inbred Strain of Mice » *Proc Natl Acad Sci U S A* 40(11): 1080-1087.
- Stich HF and Emson HE (1959) « Aneuploid deoxyribonucleic acid content of human carcinomas » *Nature* 184(Suppl 5): 290-291.
- Stich HF and Steele HD (1962) « DNA content of tumor cells. III. Mosaic composition of sarcomas and carcinomas in man » *J Natl Cancer Inst* 28: 1207-1218.
- Strathern M (1988). *The Gender of the Gift : Problems with Women and Problems ith Society in Melanesia*. Berkley and Los Angeles: University of California Press.
- Stratton MR (2011) « Exploring the genomes of cancer cells: progress and promise » *Science* 331(6024): 1553-1558.
- Suda T and Arai F (2008) « Wnt signaling in the niche » *Cell* 132: 729-730.
- Suetsugu A, Nagaki M, Aoki H, Motohashi T, Kunisada T and Moriwaki H (2006) « Characterization of CD133+ hepatocellular carcinoma cells as cancer stem/progenitor cells » *Biochem Biophys Res Commun* 351(4): 820-824.
- Suppe F (ed) (1977) *The Structure of Scientific Theories*, second edition. Champaign IL: University of Illinois Press.
- Suppes P (1960) « A comparison of the meaning and use of models in mathematics and the empirical sciences » *Synthese* 12(2): 287-301.
- Suppes P (1967) « What is a scientific theory? », pp. 55-67, in Morgenbesser S (ed) *Philosophy of Science Today*. New York: Basic Books.
- Susman W (1932) « Embryonic epithelial rests in the pituitary » *British Journal of Surgery* 19(76): 571-576.

- Szotek PP, Pieretti-Vanmarcke R, Masiakos PT, Dinulescu DM, Connolly D, Foster R, Dombkowski D, Preffer F, Maclaughlin DT and Donahoe PK (2006) « Ovarian cancer side population defines cells with stem cell-like characteristics and Mullerian Inhibiting Substance responsiveness » *Proc Natl Acad Sci U S A* 103(30): 11154-11159.
- Tabansky I, Lenarcic A, Draft RW, Loulier K, Keskin DB, Rosains J, Rivera-Feliciano J, Lichtman JW, Livet J, Stern JN, Sanes JR and Eggan K (2013) « Developmental bias in cleavage-stage mouse blastomeres » *Curr Biol* 23(1): 21-31.
- Tachibana M, Amato P, Sparman M, Gutierrez NM, Tippner-Hedges R, Ma H, Kang E, Fulati A, Lee H-S, Sritanandomchai H, Masterson K, Larson J, Eaton D, Sadler-Fredd K, Battaglia D, Lee D, Wu D, Jensen J, Patton P, Gokhale S, Stouffer RL, Wolf D and Mitalipov S « Human Embryonic Stem Cells Derived by Somatic Cell Nuclear Transfer » *Cell* 153(6): 1228-1238.
- Tai MH, Chang CC, Kiupel M, Webster JD, Olson LK and Trosko JE (2005) « Oct4 expression in adult human stem cells: evidence in support of the stem cell theory of carcinogenesis » *Carcinogenesis* 26(2): 495-502.
- Takahashi K and Yamanaka S (2006) « Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors » *Cell* 126(4): 663-676.
- Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K and Yamanaka S (2007) « Induction of Pluripotent Stem Cells from Adult Human Fibroblasts by Defined Factors » *Cell* 131(5): 861-872.
- Takebe N and Ivy SP (2010) « Controversies in cancer stem cells: targeting embryonic signaling pathways » *Clin Cancer Res* 16(12): 3106-3112.
- Tan BT, Park CY, Ailles LE and Weissman IL (2006) « The cancer stem cell hypothesis: a work in progress » *Lab Invest* 86(12): 1203-1207.
- Taussig DC, Miraki-Moud F, Anjos-Afonso F, Pearce DJ, Allen K, Ridler C, Lillington D, Oakervee H, Cavenagh J, Agrawal SG, Lister TA, Gribben JG and Bonnet D (2008) « Anti-CD38 antibody-mediated clearance of human repopulating cells masks the heterogeneity of leukemia-initiating cells » *Blood* 112(3): 568-575.
- Taussig DC, Vargaftig J, Miraki-Moud F, Griessinger E, Sharrock K, Luke T, Lillington D, Oakervee H, Cavenagh J, Agrawal SG, Lister TA, Gribben JG and Bonnet D (2010) « Leukemia-initiating cells from some acute myeloid leukemia patients with mutated nucleophosmin reside in the CD34(-) fraction » *Blood* 115(10): 1976-1984.
- Terstappen LW, Safford M, Unterhalt M, Konemann S, Zurlutter K, Piechotka K, Drescher M, Aul C, Buchner T, Hiddemann W et al. (1992) « Flow cytometric characterization of acute myeloid leukemia: IV. Comparison to the differentiation pathway of normal hematopoietic progenitor cells ». *Leukemia* 6(10): 993-1000.
- Thagard P (1978) « The best explanation: criteria for theory choice » *Journal of Philosophy* 75(2): 76-92.
- Theise ND and Wilmot I (2003) « Cell plasticity: flexible arrangement » *Nature* 425(6953): 21.
- Theise ND, Badve S, Saxena R, Henegariu O, Sell S, Crawford JM and Krause DS (2000) « Derivation of hepatocytes from bone marrow cells in mice after radiation-induced myeloablation » *Hepatology* 31(1): 235-240.

- Theise ND, Nimmakayalu M, Gardner R, Illei PB, Morgan G, Teperman L, Henegariu O and Krause DS (2000) « Liver from bone marrow in humans » *Hepatology* 32(1): 11-16.
- Therasse P, Arbuck SG, Eisenhauer EA, Wanders J, Kaplan RS, Rubinstein L, Verweij J, Van Glabbeke M, van Oosterom AT, Christian MC and Gwyther SG (2000) « New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors ». European Organization for Research and Treatment of Cancer, National Cancer Institute of the United States, National Cancer Institute of Canada. *J Natl Cancer Inst* 92(3): 205-216.
- Thiel E, Dormer P, Rodt H, Huhn D, Bauchinger M, Kley HP and Thierfelder S (1977) « Quantitation of T-antigenic sites and Ig-determinants on leukemic cells by microphotometric immunoradiography. Proof of the clonal origin of thymus-derived lymphocytic leukemias » *Haematol Blood Transfus* 20: 131-145.
- Thiel E, Rodt H, Huhn D and Thierfelder S (1976) « Decrease and altered distribution of human T antigen on chronic lymphatic leukemia cells of T type, suggesting a clonal origin » *Blood* 47(5): 723-736.
- Thiersch C (1865) *Der Epithelkrebs, namentlich der Haut. Eine anatomisch-klinische Untersuchung*. Leipzig: Wilhelm Engelmann.
- Thiery JP (2003) « Epithelial-mesenchymal transitions in development and pathologies » *Curr Opin Cell Biol* 15(6): 740-746.
- Thiery JP and Sleeman JP (2006) « Complex networks orchestrate epithelial-mesenchymal transitions » *Nat Rev Mol Cell Biol* 7(2): 131-142.
- Thirant C, Bessette B, Varlet P, Puget S, Cadusseau J, Tavares Sdos R, Studler JM, Silvestre DC, Susini A, Villa C, Miquel C, Bogeas A, Surena AL, Dias-Morais A, Leonard N, Pflumio F, Bieche I, Boussin FD, Sainte-Rose C, Grill J, Daumas-Duport C, Chneiweiss H and Junier MP (2011) « Clinical relevance of tumor cells with stem-like properties in pediatric brain tumors » *PLoS One* 6(1): e16375.
- Tiercelin C (2003) « Sur la réalité des propriétés dispositionnelles ». *Cahiers de philosophie de l'Université de Caen* (38-39), actes du colloque *Le réalisme des universaux*, Caen 28 février 2001: 127-157.
- Till JE and McCulloch EA (1961) « A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells » *Radiat Res* 14: 213-222.
- Tough IM, Jacobs PA, Court Brown WM, Baikie AG and Williamson ER (1963) « Cytogenetic studies on bone-marrow in chronic myeloid leukaemia » *Lancet* 1(7286): 844-846.
- Traina R (1902) « Ueber Transplantationen von Embryonalgewebe ins Ovarium und die Bildung von Ovarialcysten » *Centralblatt Allg Pathol Pathol Anat* 13: 49-56.
- Trentin A, Glavieux-Pardanaud C, Le Douarin NM and Dupin E (2004) « Self-renewal capacity is a widespread property of various types of neural crest precursor cells » *Proc Natl Acad Sci U S A* 101(13): 4495-4500.
- Trujillo JM and Ohno S (1963) « Chromosomal alteration of erythropoietic cells in chronic myeloid leukemia » *Acta Haematol* 29: 311-316.
- Tsukamoto H, She H, Hazra S, Cheng J, Miyahara T (2006) « Anti-adipogenic regulation underlies hepatic stellate cell transdifferentiation » *J Gastroenterol Hepatol* 21(Suppl 3): S102-S105.

- Tu S-M (2010) *Origin of Cancers. Clinical Perspectives and Implications of a Stem-Cell Theory of Cancer*. New York, Dordrecht, Heidelberg, London: Springer.
- Tulina N and Matunis E (2001) « Control of stem cell self-renewal in *Drosophila* spermatogenesis by JAK-STAT signaling » *Science* 294(5551): 2546-2549.
- Turhan AG, Lemoine FM, Debert C, Bonnet ML, Baillou C, Picard F, Macintyre EA and Varet B (1995) « Highly purified primitive hematopoietic stem cells are PML-RARA negative and generate nonclonal progenitors in acute promyelocytic leukemia » *Blood* 85(8): 2154-2161.
- Valent P, Bonnet D, De Maria R, Lapidot T, Copland M, Melo JV, Chomienne C, Ishikawa F, Schuringa JJ, Stassi G, Huntly B, Herrmann H, Soulier J, Roesch A, Schuurhuis GJ, Wohrer S, Arock M, Zuber J, Cerny-Reiterer S, Johnsen HE, Andreeff M and Eaves C (2012) « Cancer stem cell definitions and terminology: the devil is in the details » *Nat Rev Cancer* 12(11): 767-775.
- van Fraassen BC (1980) *The Scientific Image*. Oxford : Oxford University Press.
- van Fraassen BC (1987) « The semantic approach to scientific theories », pp. 105-124, in Nersessian NJ (ed.) *The Process of Science: Contemporary Philosophical Approaches to Understanding Scientific Practice*. Dordrecht: Martinus Nihoff.
- Venezia TA, Merchant AA, Ramos CA, Whitehouse NL, Young AS, Shaw CA and Goodell MA (2004) « Molecular signatures of proliferation and quiescence in hematopoietic stem cells » *PLoS Biol* 2(10): e301.
- Vermeulen L, de Sousa e Melo F, Richel DJ and Medema JP (2012) « The developing cancer stem-cell model: clinical challenges and opportunities » *Lancet Oncol* 13(2): e83-89.
- Vermeulen L, De Sousa EMF, van der Heijden M, Cameron K, de Jong JH, Borovski T, Tuynman JB, Todaro M, Merz C, Rodermond H, Sprick MR, Kemper K, Richel DJ, Stassi G and Medema JP (2010) « Wnt activity defines colon cancer stem cells and is regulated by the microenvironment » *Nat Cell Biol* 12(5): 468-476.
- Vermeulen L, Sprick MR, Kemper K, Stassi G and Medema JP (2008) « Cancer stem cells--old concepts, new insights » *Cell Death Differ* 15(6): 947-958.
- Vignais P (2001) *La biologie, des origines à nos jours : une histoire des idées et des hommes*. EDP Sciences : Grenoble.
- Vincent TL and Gatenby RA (2008) « An evolutionary model for initiation, promotion, and progression in carcinogenesis » *Int J Oncol* 32(4): 729-737.
- Vineis P and Berwick M (2006) « The population dynamics of cancer: a Darwinian perspective » *Int J Epidemiol* 35(5): 1151-1159.
- Vinogradov S and Wei X (2012) « Cancer stem cells and drug resistance: the potential of nanomedicine » *Nanomedicine (Lond)* 7(4): 597-615.
- Virchow R (1850) « Ueber Kankroide und Papillargeschwulste » *Verh Phys Med Gesell in Wuerzburg* 1: 106-111.
- Virchow R (1855) « Cellular-Pathologie » *Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie und für klinische Medizin* 8: 1-33.
- Virchow R (1855) « Ueber Perlgeschwulste (Cholesteatoma Joh. Mueller's) » *Arch path Anat Phys klin Med* 8: 415.

- Virchow R (1858) *Die Cellularpathologie in ihrer Begründung auf physiologische und pathologische Gewebelehre*. Berlin : August Hirschwald.
- Virchow R (1861 [1859]) *La Pathologie Cellulaire Basée sur l'Etude Physiologique et Pathologique des Tissus*. Traduction de la seconde édition par Paul Picard. Paris : JB Baillièrre et Fils.
- Visser JW, Bauman JG, Mulder AH, Eliason JF and de Leeuw AM (1984) « Isolation of murine pluripotent hemopoietic stem cells » *J Exp Med* 159(6): 1576-1590.
- Visser JW, Bol SJ and van den Engh G (1981) « Characterization and enrichment of murine hemopoietic stem cells by fluorescence activated cell sorting » *Exp Hematol* 9(6): 644-655.
- Visvader JE (2011) « Cells of origin in cancer » *Nature* 469(7330): 314-322.
- Visvader JE and Lindeman GJ (2012) « Cancer stem cells: current status and evolving complexities » *Cell Stem Cell* 10(6): 717-728.
- Vogel G (2003) « Stem cells. 'Stemness' genes still elusive » *Science* 302(5644): 371.
- Vogel G (2013) « Human Stem Cells From Cloning, Finally » *Science* 340(6134): 795.
- Vorms M (2011) *Qu'est-ce qu'une théorie scientifique?* Paris : Vuibert.
- Waddington CH (1957) *The strategy of the genes*. London: Taylor & Francis.
- Wagers AJ and Weissman IL (2004) « Plasticity of adult stem cells » *Cell* 116(5): 639-648.
- Wakayama S, Kohda T, Obokata H, Tokoro M, Li C, Terashita Y, Mizutani E, Nguyen VT, Kishigami S, Ishino F and Wakayama T (2013) « Successful Serial Recloning in the Mouse over Multiple Generations » *Cell Stem Cell* 12(3): 293-297.
- Wan J, Ramachandran R and Goldman D (2012) « HB-EGF is necessary and sufficient for Muller glia dedifferentiation and retina regeneration » *Dev Cell* 22(2): 334-347.
- Wang JC and Dick JE (2005) « Cancer stem cells: lessons from leukemia » *Trends Cell Biol* 15(9): 494-501.
- Wang Z and Ouyang G (2012) « Periostin: a bridge between cancer stem cells and their metastatic niche » *Cell Stem Cell* 10(2): 111-112.
- Waters K (1986) « Taking analogical inference seriously: Darwin's argument from artificial selection » *PSA: Proceedings of the Biennial Meeting of the Philosophy of Science Association* 1: 502-513.
- Weber CO (1867) « Ueber die Betheiligung der Muskelkoerperchen und der quergestreiften Muskeln an den Neubildungen nebst Bemerkungen ueber die Lehre von der Specificitaet der Gewebelements » *Arch path Anat Phys klin Med* 39: 254-269.
- Weber CO (1867) « Ueber die Neubildung quergestreiften Muskelfasern, insbesondere die regenerative Neubildung derselben nach Verletzungen » *Arch path Anat Phys klin Med* 39: 216-239.
- Wei J, Wunderlich M, Fox C, Alvarez S, Cigudosa JC, Wilhelm JS, Zheng Y, Cancelas JA, Gu Y, Jansen M, Dimartino JF and Mulloy JC (2008) « Microenvironment determines lineage fate in a human model of MLL-AF9 leukemia » *Cancer Cell* 13(6): 483-495.
- Weissman IL (2000) « Stem cells: units of development, units of regeneration, and units in evolution » *Cell* 100(1): 157-168.
- Weissman IL (2002) « The road ended up at stem cells » *Immunol Rev* 185: 159-174.

- Weissman IL, Heimfeld S and Spangrude G (1989) « Haemopoietic stem cell purification » *Immunol Today* 10(6): 184-185.
- Wells WA (2002) « Is transdifferentiation in trouble? » *J Cell Biol* 157(1): 15-18.
- Wetter O, Delbruck H and Linder KH (1978) « Surface markers on peripheral blood lymphocytes of patients with follicular lymphoma suggesting a clonal origin » *Klin Wochenschr* 56(8): 415-419.
- Whang J, Frei E, 3rd, Tjio JH, Carbone PP and Brecher G (1963) « The Distribution of the Philadelphia Chromosome in Patients with Chronic Myelogenous Leukemia » *Blood* 22: 664-673.
- Wicha MS, Liu S and Dontu G (2006) « Cancer stem cells: an old idea--a paradigm shift » *Cancer Res* 66(4): 1883-1890; discussion 1895-1886.
- Wiestler OD, Haendler B, Mumberg D (Eds) (2007) *Cancer Stem Cells. Novel Concepts and Prospects for Tumor Therapy*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.
- Williams MB (1981) « Similarities and differences between evolutionary theory and the theories of physics » *PSA: Proceedings of the Biennial Meeting of the Philosophy of Science Association* 2: 385-396.
- Willingham SB, Volkmer JP, Gentles AJ, Sahoo D, Dalerba P, Mitra SS, Wang J, Contreras-Trujillo H, Martin R, Cohen JD, Lovelace P, Scheeren FA, Chao MP, Weiskopf K, Tang C, Volkmer AK, Naik TJ, Storm TA, Mosley AR, Edris B, Schmid SM, Sun CK, Chua MS, Murillo O, Rajendran P, Cha AC, Chin RK, Kim D, Adorno M, Raveh T, Tseng D, Jaiswal S, Enger PO, Steinberg GK, Li G, So SK, Majeti R, Harsh GR, van de Rijn M, Teng NN, Sunwoo JB, Alizadeh AA, Clarke MF and Weissman IL (2012) « The CD47-signal regulatory protein alpha (SIRPα) interaction is a therapeutic target for human solid tumors » *Proc Natl Acad Sci U S A* 109(17): 6662-6667.
- Willis RA (1958) *The Borderland of Embryology and Pathology*. London: Butterworth.
- Wilms M (1895) « Ueber die Dermoideysten und Teratome etc » *Deutsch Arch f klin Med* 55: 1-108.
- Wilms M (1905) « Wachstum embryonaler Implantation und Geschwulstbildung » *Verh Dt Pathol Ges* year 1904: 79-80.
- Wilmot I, Schnieke AE, McWhir J, Kind AJ and Campbell KH (1997) « Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells » *Nature* 385(6619): 810-813.
- Wilson A, Laurenti E, Oser G, van der Wath RC, Blanco-Bose W, Jaworski M, Offner S, Dunant CF, Eshkind L, Bockamp E, Lio P, Macdonald HR and Trumpp A (2008) « Hematopoietic stem cells reversibly switch from dormancy to self-renewal during homeostasis and repair » *Cell* 135(6): 1118-1129.
- Wilson R, Barker MJ and Brigandt I (2007) « When Traditional Essentialism Fails: Biological Natural Kinds » *Philosophical Topics* 35(1-2): 189-215.
- Witschi E (1948) « Migration of the Germ Cells of Human Embryos from the Yolk Sac to the Primitive Gonadal Folds » *Contr Embryol Carnegie Inst* 32: 67-80.
- Wolfort B and Sloane D (1938) « Adamantinoma of the Tibia. A Report of Two Cases » *The Journal of Bone and Joint Surgery* 20(4): 1011-1018.
- Wolkenhauer O (2001) « Systems biology: the reincarnation of systems theory applied in biology? » *Brief Bioinform* 2(3): 258-270.

- Woodward WA, Chen MS, Behbod F, Alfaro MP, Buchholz TA and Rosen JM (2007) « WNT/beta-catenin mediates radiation resistance of mouse mammary progenitor cells » *Proc Natl Acad Sci U S A* 104(2): 618-623.
- Wright L (1973) « Functions » *Philosophical Review* 82(2): 139-168.
- Wurmser AE and Gage FH (2002) « Stem cells: cell fusion causes confusion » *Nature* 416(6880): 485-487.
- Xie T and Spradling AC (1998) « decapentaplegic is essential for the maintenance and division of germline stem cells in the Drosophila ovary » *Cell* 94(2): 251-260.
- Yahata T, Ando K, Sato T, Miyatake H, Nakamura Y, Muguruma Y, Kato S and Hotta T (2003) « A highly sensitive strategy for SCID-repopulating cell assay by direct injection of primitive human hematopoietic cells into NOD/SCID mice bone marrow » *Blood* 101(8): 2905-2913.
- Yamanaka S (2009) « Elite and stochastic models for induced pluripotent stem cell generation » *Nature* 460: 49-52.
- Yamashita YM (2010) « Cell adhesion in regulation of asymmetric stem cell division » *Curr Opin Cell Biol* 22(5): 605-610.
- Yamashita YM, Jones DL and Fuller MT (2003) « Orientation of asymmetric stem cell division by the APC tumor suppressor and centrosome » *Science* 301(5639): 1547-1550.
- Yang CS, Li Z and Rana TM (2011) « microRNAs modulate iPS cell generation » *RNA* 17(8): 1451-1460.
- Yilmaz OH, Valdez R, Theisen BK, Guo W, Ferguson DO, Wu H and Morrison SJ (2006) « Pten dependence distinguishes haematopoietic stem cells from leukaemia-initiating cells » *Nature* 441(7092): 475-482.
- Yoo MH and Hatfield DL (2008) « The cancer stem cell theory: is it correct? » *Mol Cells* 26(5): 514-516.
- Yoshihara H, Arai F, Hosokawa K, Hagiwara T, Takubo K, Nakamura Y, Gomei Y, Iwasaki H, Matsuoka S, Miyamoto K, Miyazaki H, Takahashi T and Suda T (2007) « Thrombopoietin/MPL Signaling Regulates Hematopoietic Stem Cell Quiescence and Interaction with the Osteoblastic Niche » *Cell Stem Cell* 1(6): 685-697.
- Yosida TH (1954) « Tetraploid chromosome constitution characteristic of the tumor cells of the Takeda sarcoma » *Gan* 45(1): 9-15.
- Younes SA, Yassine-Diab B, Dumont AR, Boulassel MR, Grossman Z, Routy JP and Sekaly RP (2003) « HIV-1 viremia prevents the establishment of interleukin 2-producing HIV-specific memory CD4⁺ T cells endowed with proliferative capacity » *J Exp Med* 198(12): 1909-1922.
- Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, Antosiewicz-Bourget J, Frane JL, Tian S, Nie J, Jonsdottir GA, Ruotti V, Stewart R, Slukvin, II and Thomson JA (2007) « Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells » *Science* 318(5858): 1917-1920.
- Yu JS (ed) (2009) *Cancer Stem Cells: methods and protocols*. Dordrecht, London: Humana Press.
- Zacks SI and Sheff MF (1982) « Age-related impeded regeneration of mouse minced anterior tibial muscle » *Muscle Nerve* 5(2): 152-161.

- Zahn FW (1877) « Sur le sort des tissus implantés dans l'organisme » Congrès internationale des sciences médicales, Geneva, Septembre 9-15. *Compt Rend Mém* : 658-664.
- Zegarelli EV (1944) « Adamantoblastomas in the slye stock of mice » *American Journal of Pathology* 20(1): 23-87.
- Zhang B, Ho YW, Huang Q, Maeda T, Lin A, Lee SU, Hair A, Holyoake TL, Huettner C and Bhatia R (2012) « Altered microenvironmental regulation of leukemic and normal stem cells in chronic myelogenous leukemia » *Cancer Cell* 21(4): 577-592.
- Zhang M, Atkinson RL and Rosen JM (2010) « Selective targeting of radiation-resistant tumor-initiating cells » *Proc Natl Acad Sci USA* 107(8): 3522-3527.
- Zhang X, Ebata KT, Robaire B and Nagano MC (2006) « Aging of male germ line stem cells in mice » *Biol Reprod* 74(1): 119-124.
- Zhang Y, Joe G, Hexner E, Zhu J and Emerson SG (2005) « Host-reactive CD8+ memory stem cells in graft-versus-host disease » *Nat Med* 11(12): 1299-1305.
- Zhou BB, Zhang H, Damelin M, Geles KG, Grindley JC and Dirks PB (2009) « Tumour-initiating cells: challenges and opportunities for anticancer drug discovery » *Nat Rev Drug Discov* 8(10): 806-823.
- Zhou H, Wu S, Joo JY, Zhu S, Han DW, Lin T, Trauger S, Bien G, Yao S, Zhu Y, Siuzdak G, Schöler HR, Duan L and Ding S (2009) « Generation of Induced Pluripotent Stem Cells Using Recombinant Proteins » *Cell Stem Cell* 4(5): 381-384.
- Zhou Q, Melton DA (2008) « Extreme makeover: converting one cell into another » *Cell Stem Cell* 3:382-388.
- Zhou T, Benda C, Dunzinger S, Huang Y, Ho JC, Yang J, Wang Y, Zhang Y, Zhuang Q, Li Y, Bao X, Tse H-F, Grillari J, Grillari-Voglauer R, Pei D and Esteban MA (2012) « Generation of human induced pluripotent stem cells from urine samples » *Nat Protocols* 7(12): 2080-2089.
- Zhou W and Freed CR (2009) « Adenoviral gene delivery can reprogram human fibroblasts to induced pluripotent stem cells » *Stem Cells* 27(11): 2667-2674.
- Zhu W, Pao GM, Satoh A, Cummings G, Monaghan JR, Harkins TT, Bryant SV, Randal Voss S, Gardiner DM and Hunter T (2012) « Activation of germline-specific genes is required for limb regeneration in the Mexican axolotl » *Dev Biol* 370(1): 42-51.
- Zipori D (2004) « The nature of stem cells: state rather than entity » *Nat Rev Genet* 5(11): 873-878.
- Zipori D (2009) *Biology of Stem Cells and the Molecular Basis of the Stem State*. Dordrecht, Heidelberg, London, New York : Humana Press.
- Zuelzer WW (1964) « Implications of Long-Term Survival in Acute Stem Cell Leukemia of Childhood Treated with Composite Cyclic Therapy » *Blood* 24: 477-494.
- Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, Huang J, Futrell JW, Katz AJ, Benhaim P, Lorenz HP and Hedrick MH (2001) « Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies » *Tissue Eng* 7(2): 211-228.
- Zwaka TP and Thomson JA (2005) « Differentiation of human embryonic stem cells occurs through symmetric cell division » *Stem Cells* 23(2): 146-149.

Index des noms propres

- Abily C.....328, 338
Akashi K.....221, 272, 273, 274, 296, 393, 394,
411, 414
Albores Saavedra J.....390, 394
Alizadeh A269, 270, 399, 418, 436
Anderson C389, 394
Askanazy M.....147, 150, 157, 164, 395
Astaldi G.....104, 395
Atwell W386, 395
- Baker A.....388, 395
Barber C387, 388, 426
Barker M...24, 25, 33, 209, 210, 211, 250, 436
Barnes D.....97, 108, 109, 395, 406
Beard J147, 148, 149, 150, 164, 177, 396, 408
Beatty J365, 367, 396
Bensaude-Vincent B.....41, 267, 396
Bhagwandin V163, 396
Billroth T.....139, 224, 396
Bird A203, 210, 287, 288, 299, 396, 400
Blau H.....242, 243, 245, 397, 398, 414
Bonnet D ..49, 62, 79, 119, 124, 178, 179, 181,
182, 183, 397, 432, 434
Bonnet R145, 149, 150, 164, 170, 397
Boyd R.....210, 211, 250, 397
Brabletz T.....189, 397
Brandt C.....153, 154, 155, 159, 169, 176, 398
Brigandt I..24, 25, 33, 209, 210, 211, 250, 436
Brues A150, 151, 157, 158, 411
Budde M157, 398
Buhl L139, 398
Burian R214, 215, 251, 398
Burns C222, 223, 285, 398
Burns L19, 29, 398
- Cabarcas S.....282, 285, 399
Calabrese C.....77, 78, 281, 290, 399
Carmichael H386, 399
Ceteci F.....195, 311, 312, 333, 426
Chang J.....56, 399
Changus G390, 399
Chao M.....269, 270, 399, 412, 418, 436
Chiquoine D.....148, 149, 400
Chneiweiss H312, 313, 333, 403, 433
Choi S278, 287, 400
Chrenka P.....390, 421
Clarke M..19, 54, 61, 62, 63, 67, 68, 69, 72, 73,
77, 78, 80, 121, 184, 192, 193, 194, 196,
270, 288, 394, 400, 402, 403, 416, 423,
425, 427, 436
Clarkson BD45, 46, 105, 400
Cohnheim J132, 134, 135, 137, 140, 141, 142,
143, 144, 145, 146, 147, 149, 150, 157,
164, 166, 167, 168, 170, 177, 383, 384,
388, 392, 400, 401
Colvin G.....224, 276, 277, 401, 425
Coulombel L.....20, 22, 30, 227, 401, 408
Cowdry E.....386, 401
Crist E213, 214, 401
Critchley M386, 401
Cummins R325, 326, 327, 337, 401
Cushing H.....386, 402
- Dalprà L188
Darwin C.....70, 176, 177, 188, 189, 200, 210,
232, 368, 369, 371, 372, 380, 382, 408,
410, 415, 426
de Poulton Nicholson G.....148, 402
Dick JE .61, 62, 63, 70, 79, 102, 112, 114, 115,
116, 119, 122, 124, 125, 130, 177, 178,
181, 182, 184, 188, 192, 193, 195, 196,

266, 395, 397, 400, 403, 412, 413, 415, 419, 421, 422, 435	Ghiaur G..... 189, 407
Dirks P41, 43, 48, 49, 61, 62, 63, 106, 121, 122, 178, 184, 192, 193, 196, 400, 421, 430, 438	Gho M.....246, 247, 406
Discher D 236, 237, 267, 404, 427	Gilliland G.. 137, 181, 194, 195, 197, 282, 411, 414, 415
Dixon F 156, 157, 159, 160, 403, 424	Godfrey-Smith P..... 187, 367, 408
Dockerty M389, 403	Golan-Mashiach M..... 221, 408
Drummond W.....387	Gordon J..... 227
Duchesneau F 133, 134, 135, 138, 403	Gould S 365, 408
Duffy W.....386	Grady C.....314, 315, 334, 406
Elliott G.....390, 404	Greaves 185
Enver 185	Greaves M ... 70, 183, 184, 186, 188, 189, 201, 394, 408, 410
Enver T 183, 184, 188, 201, 394, 410	Gross N48, 49
Erdheim J.....385, 404	Gupta..... 185
Essers M.....289, 290, 291, 404	Gupta P.....310, 317, 321, 334, 408
Evans M.....154, 155, 422	Häfner S 20, 30, 408
Evans T102, 230, 405, 413	Hannover A 135, 136, 409
Ewing J.....388, 405	Hauschka T 163, 409
Fagan M. 25, 33, 112, 116, 117, 118, 122, 123, 130, 198, 205, 223, 249, 257, 258, 301, 302, 303, 305, 323, 327, 331, 336, 405	Hawkey L 388, 395
Fara M278, 287, 400	Herschel J.....369, 371, 372, 428
Farrar W 44, 282, 285, 399, 405	Hicks D 389
Fekete E..... 148, 149, 151, 157, 405	His W..... 139, 410
Ferrigno MA 148, 149, 151, 157, 405	Hochedlinger K.....226, 228, 323, 410, 430
Fialkow P ...94, 96, 98, 99, 100, 101, 102, 128, 177, 405, 406, 412, 421	Hodge M..... 369, 370, 410, 411
Fichelson P.....246, 247, 406	Hogendoorn P 391, 409
Fischer B 385, 386, 387, 389, 406	Hoquet T 176, 177, 200, 410
Fojo T314, 315, 334, 406	Huang S.....322, 324, 329, 336, 410
Ford C..... 97, 108, 109, 395, 406	Hull D 210, 211, 410, 411
Frisen J..... 208, 209, 243, 245, 400, 420	Humberstone L..... 319, 335, 411
Gayon J.....325, 369, 371, 380, 382, 402, 407	Hunter I..... 391, 411
Gazave E.....218, 220, 407	Illmensee K..... 154, 159, 420
Gerber J 189, 407	Ironside R..... 386, 401
Germain P-L 187, 407	Izpisua Belmonte JC..... 229, 231, 400, 412
	Jackson E 150, 151, 157, 158, 411
	Jacobsen S235, 272, 273, 296, 393, 425
	Jaenisch R..... 226, 410
	Jain D..... 391, 412

- Jones R 189, 407
Junier M-P 312, 313, 333, 403, 433
- Kavaloski V 368, 369, 372, 412
Kelly 185
Kelly P 181, 183, 413
Kernohan J 391, 417
Khamara E 319
Knapp D 232, 413, 414
Kohler G 391, 414
- Lajtha L 101, 414
Lambert J-F 224, 276, 277, 425
Lander A 317
Lander E 309, 317, 321, 322, 333, 336
Lauche A 389, 415
Lederer H 389, 390, 416
Levan A 163
Lewis D 264, 287, 318, 319, 320, 335, 386,
416
Leychkis Y 25, 33, 249, 257, 416
Lichtenstein L 391, 416
Lim B 222, 406
Lindeman G 191, 435
Little C 150, 431
Llombart-Bosch A 390, 417
Lloyd E 366, 372, 417
Louvard D 49, 50
Löwy I 213, 417
Luse S 391, 417
- Machinami R 391, 411
Maienschein J 226, 418
Majeti R 269, 270, 399, 404, 412, 418, 436
Makino S 95, 163, 418
Malanchi I 283, 284, 290, 418
Malassez C-L 384, 385, 387, 388, 418
Malassez L-C 384
Marchand F 145, 146, 149, 150, 164, 168,
170, 419
- Martin G 146, 154, 155, 169, 419
Mathews L 282, 285, 399
Mauri C 104, 395
McCulloch E 101, 108, 109, 111, 112, 113,
129, 238, 396, 398, 411, 419, 433
McFarland J 386, 388
McShea D 365, 427
Medema JP 196, 306, 307, 308, 315, 316, 332,
334, 419, 434
Melton D 221, 222, 323, 411, 422, 426
Metcalf D 110, 111, 112, 398, 420
Meyerding H 389, 403
Mikkers H 208, 209, 245, 420
Mill S 369
Mintz B 149, 154, 159, 420
Mitalipov S 226, 227, 432
Moore M 111, 112, 289, 409, 420
Moore R 156, 403
Morange M. 144, 155, 159, 213, 365, 420, 425
Morrison S 19, 54, 61, 62, 63, 67, 68, 69, 72,
73, 77, 80, 121, 180, 182, 187, 194, 221,
291, 394, 418, 420, 421, 423, 425, 427,
429, 437
Mugneret-Béghé S 327, 329, 338
Müller J 134, 135, 421
Munzer S 25, 33, 249, 257, 416
- Newton I 319, 368, 369, 371, 372, 412, 413
Nixon R 17, 29
Nowell P 70, 75, 84, 85, 97, 186, 376, 422
- Ogura A 226, 411
Oliver M 387, 422
Ortuno-Pacheco G 390, 417
- Patterson H 386, 388
Peyron A 148, 423
Pierce GB ... 143, 150, 156, 157, 158, 159, 160,
161, 162, 163, 168, 169, 177, 394, 413,
423, 424, 429

Pincus G.....	391, 427	Sinclair A.....	390, 416
Pradeu T.....	117, 213, 214, 363, 424, 425	Sloane D.....	388
Puisieux A.....	307, 332, 420	Smart J.....	365, 430
Quesenberry P.....	224, 276, 277, 401, 425	Sober E.....	365, 366, 430
Rak J.....	305, 332, 425	Speed J.....	390, 399
Rankin J.....	388, 426	Spjut H.....	390, 430
Rapp U.....	195, 311, 312, 333, 426	Stevens L... 143, 150, 151, 152, 153, 154, 156,	157, 158, 160, 162, 164, 168, 169, 170,
Rather L.....	133, 139, 140, 147, 224, 426	200, 431	
Recker D.....	372, 426	Stewart F.....	390, 399
Reed R.....	390, 426	Strathern M.....	320, 335, 431
Rehbock D.....	387, 388, 426	Suppe F.....	364, 366
Remak R.... 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138,		Suppes P.....	364, 367, 431
140, 142, 143, 144, 164, 166, 167, 168,		Susman W.....	386, 387
170, 177, 383, 384, 426		Tanaka E.....	230, 231, 232, 404, 413, 414
Reya T...19, 61, 63, 67, 68, 69, 72, 73, 80, 235,		Tauber A.....	213, 214, 401, 417
379, 426, 427		Thagard P.....	372, 432
Richardson J.....	25, 33, 249, 257, 416	Thiersch C.....	139, 224, 396, 433
Richter C.....	387, 427	Thiney G.....	328, 338
Robert J.....	25, 33, 215, 223, 249, 257, 427	Thomson J.....	155, 207, 228, 437, 438
Rosai J.....	390, 391, 427	Till J.... 101, 108, 109, 111, 112, 129, 238, 396,	
Rosenberg A.....	365, 427	398, 419, 433	
Rossner J.....	391, 414	Trumpp A.....	207, 289, 290, 291, 404, 436
Ruphy S.....	248, 254, 428	Tu S-M.....	193, 205, 434
Ruse M.....	365, 369, 372, 428	Tüting T.....	311, 333
Ryrie B.....	389, 428	van Fraassen B.....	364, 367, 434
Saunders J.....	389, 394	Varet B.....	193, 434
Schleiden M.....	133, 428	Vermeulen L.....	196, 208, 308, 315, 316, 334,
Schofield R.....	232, 238, 239, 305, 428	398, 419, 434	
Schreck R.....	195, 311, 312, 333, 426	Vervoort M.....	213, 218, 220, 407, 425
Schulenburg C.....	383, 388	Vescovi A.....	188, 189, 243, 407, 423
Schwann T.....	132, 133, 134, 137, 429	Virchow R. 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138,	
Scott E.....	387, 422	139, 140, 142, 143, 144, 164, 166, 168,	
Shay J.....	163, 396	170, 177, 383, 384, 393, 434, 435	
Shen.....	185	Visvader J 47, 61, 63, 184, 191, 192, 193, 196,	
Shen M.....	184, 429	400, 435	
Shibata.....	185	Vorms M.....	364, 367, 435
Shibata M.....	184, 429		

Waddington C.....	323, 324, 336, 405, 435	Williams M.....	366, 436
Waldeyer W.....	140	Willingham S.....	269, 270, 404, 413, 436
Waldherr R.....	391, 414	Willis R.....	157, 436
Warner N.....	111, 112, 420	Wilms M.....	145, 146, 149, 150, 164, 436
Waters K.....	372, 435	Wilson R ..	24, 25, 33, 209, 210, 211, 250, 397, 436
Weinberg.....	18	Witschi E.....	148, 149, 436
Weinberg R306, 307, 309, 317, 332, 334, 399, 418, 428		Wolfort B.....	388
Weissman I.....	61, 67	Yamanaka S.....	227, 228, 323, 422, 432, 437
Weissman IL. 19, 61, 62, 63, 68, 69, 72, 73, 78, 80, 115, 117, 118, 119, 121, 184, 192, 193, 194, 195, 196, 221, 226, 235, 237, 243, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 285, 286, 290, 295, 296, 297, 393, 394, 399, 400, 401, 403, 404, 406, 412, 413, 414, 417, 418, 419, 420, 421, 423, 425, 426, 427, 432, 435, 436		Zegarelli E.....	388, 438
Whewell W.....	369, 371, 372, 428	Zhang B.....	284, 438
Wicha M.....	45, 54, 56, 62, 77, 121, 195, 281, 282, 394, 399, 401, 403, 416, 436	Zhang C.....	307
		Zhang X.....	237
		Zipori D.....	25, 26, 33, 34, 207, 208, 209, 221, 229, 242, 245, 249, 254, 257, 258, 261, 289, 302, 303, 331, 332, 341, 353, 395, 415, 423, 438

Cellules souches cancéreuses : ontologie et thérapies.

Résumé : Une nouvelle théorie du cancer s'est récemment imposée dans la communauté scientifique. Selon cette dernière, les cancers se développeraient à partir d'une sous-population bien particulière de cellules cancéreuses, appelées «cellules souches cancéreuses» (CSC). Les partisans de la théorie des CSC soutiennent que les rechutes seraient causées par ces cellules, plus aptes à échapper aux thérapies classiques. En conséquence, ils soutiennent que l'élimination de toutes les CSC, dans un cancer donné, est nécessaire et suffisante pour guérir le patient. Dans cette thèse, je propose d'examiner cette stratégie thérapeutique de ciblage des CSC et je montre que sa capacité à guérir les cancers dépend de la façon dont on envisage la nature de la propriété souche. En effet, les cellules souches cancéreuses sont définies par la possession de la propriété souche, c'est-à-dire par leur capacité à s'auto-renouveler et à se différencier. Cependant, cette propriété elle-même reste obscure quant à sa nature. S'agit-il d'une propriété catégorique ou d'une disposition ? Une cellule non-souche (cancéreuse ou non) peut-elle acquérir la propriété souche et sous quelle condition ? En me basant sur une analyse de la littérature scientifique, je montre que quatre conceptions distinctes de la nature de la propriété souche sont aujourd'hui possibles et que, si la théorie des CSC est vraie, déterminer la nature exacte de la propriété souche est capital pour le traitement des cancers.

Mots clés : Philosophie de la biologie ; Épistémologie ; Métaphysique ; Histoire des sciences ; philosophie de terrain ; Cellules souches ; Cancers ; Cellules souches cancéreuses ; Thérapies ; Propriété catégorique ; Disposition ; Propriété relationnelle ; Propriété systémique.

Discipline : Philosophie ; Épistémologie.

Cancer stem cells: ontology and therapies.

Abstract: A new theory of cancer has recently gained importance in the scientific community. According to this theory, cancers develop from a particular sub-population of cancer cells, named "cancer stem cells" (CSCs). The proponents of the CSC theory argue that relapses are caused by CSCs because they escape classical therapies. Consequently, they claim that eliminating all the CSCs of a given cancer is a necessary and sufficient condition to cure the patient. In this dissertation, I scrutinize this therapeutic strategy and I argue that its ability to cure cancers will depend on our understanding of the nature of stemness. Indeed, cancer stem cells are characterized by this property, that is, the capacity to self-renew and to differentiate. However, the nature of stemness is rather obscure. Is it a categorical property or a disposition? Can a non-stem cell (cancerous or not) acquire stemness, and under which conditions? On the basis of analysis survey of the scientific literature, I distinguish four possible concepts of the nature of stemness. I contend that if the CSC theory is true, determining the exact nature of stemness is essential for cancers treatments.

Key words: Philosophy of biology; Epistemology; Metaphysics; History of science; Field philosophy; Stem cells; Cancer stem cells; Cancers; Therapies; Categorical property; Disposition; Relational property; System property.

Discipline: Philosophy; Epistemology.