

# LES CELLULES SOUCHES MUSCULAIRES RESTENT VIABLES ET GARDENT LEURS FONCTIONNALITÉS PLUSIEURS JOURS APRÈS LA MORT

## MUSCLE STEM CELLS REMAIN VIABLE AND KEEP THEIR FUNCTIONALITY MANY DAYS AFTER DEATH

Par Mathilde LATIL, Pierre ROCHETEAU et Fabrice CHRETIEN<sup>(1)</sup>  
(Communication présentée par Fabrice Chrétien le 28 Janvier 2016  
Manuscrit accepté le 19 Avril 2016)

### RÉSUMÉ

Dernièrement, nous avons montré que les cellules souches du muscle (cellules satellites), tout comme les cellules souches hématopoïétiques, survivent très longtemps dans les tissus après la mort chez l'homme et la souris. Ces cellules restent fonctionnelles et capables de se différencier *in vitro* et *in vivo*. Nous avons modélisé *in vitro* l'absence d'oxygène (anoxie), très vite observée dans les tissus après la mort et mis en évidence que, de façon surprenante, les cellules satellites du muscle résistent à des séjours prolongés en anoxie et plus longtemps que lorsque les cellules sont entourées d'oxygène ambiant (normoxie). Cette caractéristique, propre aux cellules souches, déclenche une réponse de ces cellules qui induit un état de quiescence plus profond que nous avons décrit et qualifié de « dormance cellulaire ». Ces travaux montrent la possibilité d'utiliser les tissus *post mortem* comme source de cellules souches pour leur étude ou la thérapeutique.

**Mots-Clés :** cellules souches, cellules satellites, muscle, régénération, anoxie, moelle osseuse hématopoïétique.

### ABSTRACT

Recently, we showed that muscle stem cells, but also hematopoietic stem cells, survive for a very long time after death in human and mice tissues. These cells remain functional and capable of regeneration *in vitro* and *in vivo*. We modelled *in vitro* the absence of oxygen, very quickly observed in tissues after death and highlighted that muscle stem cells, surprisingly, survive for an extended period of time in the absence of oxygen, (anoxia), and longer than in the presence of ambient oxygen levels (normoxia). This characteristic is specific to stem cells and not to other cell types. This lack of oxygen induces a state of deeper quiescence than previously described and that we qualified as "dormancy". This work shows the possibility of using *post-mortem* tissues as a source of stem cells for their study or for therapeutics.

**Key words:** stem cells, satellite cells, muscle, regeneration, anoxia, bone marrow.

### INTRODUCTION

Une des limitations à l'utilisation des cellules souches pour des applications thérapeutiques en médecine régénérative ou pour la recherche fondamentale est leur accessibilité. Il existe par conséquent des enjeux cliniques et scientifiques à trouver de nouvelles sources de cellules souches spécifiques des tissus, qui

peuvent être obtenues à partir d'un grand nombre d'individus. Néanmoins, ces cellules sont souvent rares et disponibles en faibles quantités lorsqu'elles sont isolées des patients après une biopsie tissulaire. De plus, après leur extraction d'un tissu ou d'un organe, les cellules souches sont difficiles à purifier des

(1) Médecin, Professeur d'Histologie, Directeur de l'unité Histopathologie Humaine et Modèles Animaux à l'Institut Pasteur et Chef du Service de Neuropathologie à l'hôpital Sainte Anne, Paris.  
Institut Pasteur, 25-28 rue du Dr. Roux, 75724 Paris cedex 15, France.  
Tel +33-1 40 61 31 44  
Mail : [fabrice.chretien@pasteur.fr](mailto:fabrice.chretien@pasteur.fr)

autres types cellulaires comme les fibroblastes. Ainsi, l'isolement des populations de cellules souches qui est effectué habituellement sur des tissus adultes est techniquement difficile et coûteux. Bien que certains de ces obstacles puissent être surmontés, il existe d'autres limitations comme le manque de donneurs, ainsi que la difficulté à trouver des donneurs compatibles, en particulier dans les groupes minoritaires.

Le tissu musculaire constitue un tissu de choix pour l'étude de la biologie des cellules souches. En effet, le tissu musculaire strié squelettique adulte héberge une population de cellules souches, les cellules satellites (CS), situées sous la lame basale des myocytes jouant un rôle crucial dans la croissance post-natale du muscle ou lors de sa régénération post-lésionnelle. Lors de ces processus, et à la faveur d'une division asymétrique, ces CS s'activent, prolifèrent, fusionnent avec les myocytes mais une partie d'entre elles retourne dans un état de quiescence pour reconstituer le « pool » des cellules souches (Sambasivan & Tajbakhsh, 2007). Durant la croissance post-natale et la régénération post-lésionnelle du muscle, les différentes étapes et séquences moléculaires ayant lieu durant l'embryogenèse musculaire sont récapitulées (Sambasivan & Tajbakhsh, 2007). De plus, il a été montré qu'à l'âge adulte, les CS constituent une population cellulaire hétérogène tant au niveau de l'expression de facteurs de régulations spécifiques (appelés MRF pour *muscle regulatory factors*) qu'au niveau de leur capacité à réaliser des cycles de division asymétrique (Kassar-Duchossoy *et al.* 2005; Relaix *et al.* 2005; Shinin *et al.* 2006). Le fractionnement de ces différentes populations de CS est actuellement une voie de recherche très importante pour comprendre les différences de comportement et d'efficacité de ces différentes sous-populations lors de la réparation tissulaire.

Comme dans d'autres tissus de l'organisme, les CS quiescentes siègent dans une niche bien caractérisée. Cette niche des cellules souches associe à la fois des facteurs moléculaires et des acteurs cellulaires (Rocheteau *et al.* 2012). La niche des CS, comme la niche des cellules souches hématopoïétiques, est constituée, entre autres, par les cellules endothéliales des capillaires endomysiaux avec lesquelles elles entretiennent de nombreuses interactions (Christov *et al.* 2007). Il existe également à ce niveau une hétérogénéité puisque la majorité de ces cellules est située à une très faible distance (inférieure à 10 µm) des cellules endothéliales des capillaires et reçoivent donc une grande quantité d'oxygène du sang circulant tandis qu'une faible proportion est, quant à elle, beaucoup plus éloignée de ces cellules endothéliales et donc en relative hypoxie. L'hypoxie est un facteur clef de la maintenance des cellules souches hématopoïétiques (Eliasson & Jonsson, 2010). Il en est certainement de même pour les CS car l'hypoxie tissulaire est majeure dans de nombreux processus lésionnels du muscle (Gayraud-Morel *et al.* 2009). Ces cellules souches doivent donc résister et réagir à ce stimulus.

## DANS LE MUSCLE, LES CELLULES SOUCHES RESTENT EN VIE PLUSIEURS JOURS APRÈS LA MORT

Nous avons obtenu des biopsies de muscle squelettique d'hommes et de femmes d'âges différents (n=16; 57 à 95 ans). Chacune de ces biopsies a été effectuée de 6 à 17 jours *post mortem*. D'un point de vue histologique, le tissu musculaire de cadavre (entre 6 et 17 jours *post mortem*) présente des altérations autolytiques sévères avec de l'œdème, comparé au tissu normal. De manière surprenante, dans tous les cas, les cellules mononucléées extraites et cultivées à partir de ces biopsies ont généré des cellules myogéniques *in vitro*, également à partir de biopsies prélevées dans les temps *post mortem* les plus tardifs (17 jours). Par immunomarquage, nous avons pu démontrer que plus de 90% des cellules adhérentes formant de petites colonies *in vitro* expriment des marqueurs de la différenciation myogénique tels que la myogénine et la desmine. Les mêmes résultats ont été obtenus chez la souris. En effet, jusqu'à 16 jours *post mortem* nous avons pu obtenir des cellules capables de proliférer *in vitro* et de se différencier, exprimant elles aussi des marqueurs myogéniques.

En utilisant des souris transgéniques *Pax7-nGFP*, chez lesquelles le gène rapporteur de la *green fluorescent protein* (GFP) est sous le contrôle du promoteur du gène *Pax7* (Rocheteau *et al.* 2012), spécifiquement exprimé au niveau du noyau (-n) des cellules satellites du muscle, nous avons comparé le pourcentage de cellules survivant dans le *tibialis anterior* (TA) directement après le sacrifice de l'animal et après différents temps *post mortem*. De manière surprenante, nous avons pu observer que 4 jours *post mortem*, un pourcentage important du nombre initial de cellules était capable de survivre dans ces conditions (76.4 ± 4.8%). Bien que ce nombre diminue de manière significative 12 jours et 16 jours après le sacrifice de l'animal (2.7 ± 0.8% and 1.2 ± 0.1% respectivement), certaines cellules résistent à des temps *post mortem* plus tardifs.

En utilisant des souris knock-in *Pax7<sup>nlacZ/+</sup>*, qui permettent d'identifier les cellules satellites grâce à l'expression nucléaire de la β-galactosidase, nous avons démontré qu'entre le moment du sacrifice et 4 jours *post mortem*, la proportion de cellules satellites comparée aux autres types cellulaires augmentait de 1,7 fois, ce qui nous a permis de mettre en évidence que les cellules souches du muscle étaient préférentiellement enrichies dans des tissus *post mortem* par rapport aux autres cellules. De plus, des tests de viabilité nous ont permis de montrer que les cellules satellites étaient plus résistantes que les autres types cellulaires en conditions *post mortem*. En effet, 4 jours *post mortem*, 43% du nombre total de cellules sont viables comparé à 76% des cellules satellites. Cette observation est d'autant plus remarquable à 8 jours *post mortem*, où 10% du nombre total de cellules sont viables tandis que cette viabilité atteint 40% pour les cellules satellites.

Afin de savoir si d'autres types de cellules souches pouvaient survivre en conditions *post mortem*, la fraction de cellules

CD45<sup>-</sup>/CD34<sup>+</sup>/GFP<sup>-</sup> a ensuite été étudiée. Cette fraction contient des cellules souches mésenchymateuses interstitielles, des fibroblastes ainsi que des cellules endothéliales. Après l'isolement par FACS de ces cellules à partir d'animaux *Tg:Pax7-nGFP*, nous avons observé que la proportion de cellules CD34<sup>+</sup> non myogéniques diminuait de manière plus importante que la proportion de cellules satellites entre 0 et 4 jours *post mortem* (~82% de diminution des cellules CD45<sup>-</sup>/CD34<sup>+</sup>/GFP<sup>-</sup> vs ~66% de diminution des cellules satellites). De plus, la mise en culture des cellules CD45<sup>-</sup>/CD34<sup>+</sup>/GFP<sup>-</sup> ne donne aucune colonie viable de cellules à l'exception de quelques fibroblastes sénescents. Il est donc possible que cette propriété de survie en condition délétère ne soit pas une propriété générale des cellules mais une propriété spécifique des cellules souches.

### APRÈS LA MORT, LES CELLULES SOUCHES QUIESCENTES DEMEURENT FONCTIONNELLES *IN VITRO* ET *IN VIVO*

Une analyse clonale des cellules souches musculaires ne montre pas de différence significative dans leur capacité à générer des progéniteurs à partir de biopsies musculaires soit juste après le sacrifice de l'animal, soit 4 jours *post mortem* (23.1% vs. 16.3% de clonogénicité respectivement). De manière intéressante, par des expériences de vidéomicroscopie, nous avons observé que la sortie de quiescence des cellules pour effectuer leur première mitose était retardée chez les cellules isolées à partir d'animaux 4 jours *post mortem* (29h) en comparaison avec celles isolées directement après le sacrifice de l'animal (21h), suggérant que les cellules capables de résister en conditions *post mortem* sont dans un état de quiescence plus profond. En revanche, après leur première division, les cellules myogéniques se divisent de façon synchrone dans les deux conditions (une division toutes les 7h), indiquant que ce délai observé chez les animaux *post mortem* est réversible.

Pour évaluer la fonctionnalité et le potentiel *in vivo* de ces cellules souches qui résistent en conditions *post mortem*, nous avons effectué des greffes en intra musculaire, de cellules satellites isolées par FACS directement après le sacrifice des souris ou 4 jours *post mortem*. Des animaux donneurs *Tg:Pax7-nGFP::Tg:CAG-PLAP::Tg:MLC3F-nlacZ-2<sup>E</sup>* ont été utilisés, permettant l'isolement des cellules souches grâce à la GFP, leur suivi grâce à l'expression ubiquitaire de la phosphatase alcaline humaine (PLAP) et leur différenciation en cellules musculaires différenciées grâce à l'expression de la  $\beta$ -galactosidase (LacZ) (Kelly *et al.*, 1995) et les cellules satellites ont ensuite été greffées dans un muscle en régénération préalablement lésé par la cardiotoxine de souris immunodéficientes receveuses *Rag2<sup>-/-</sup>: C<sup>-/-</sup>*.

Le nombre de fibres régénérées est équivalent ou légèrement plus important (en moyenne, 75 fibres musculaires PLAP<sup>+</sup> pour les muscles greffés avec des cellules 4 jours *post mortem*) que celui obtenu avec des cellules satellites contrôle (en moyenne 54 fibres musculaires PLAP<sup>+</sup>) et démontre une prise de greffe robuste des cellules satellites *post mortem*.

Le nombre de sections capillaires autour de chaque fibre musculaire régénérée dérivée du donneur ne varie pas, quelle que soit l'origine des cellules greffées, démontrant ainsi que la capacité des cellules à stimuler la formation de capillaires n'est pas altérée par les cellules *post mortem* ou *post anoxie*.

Nous avons ensuite posé l'hypothèse que la quiescence pouvait conférer un avantage de survie aux cellules souches. Pour tester cette possibilité nous nous sommes placés dans différents paradigmes expérimentaux dans lesquels les cellules satellites sont activées et nous avons comparé le pourcentage de cellules restant, 4 jours *post mortem*. Les cellules satellites activées, soit après une inflammation systémique aiguë sévère avec du lipopolysaccharide bactérien (LPS), soit chroniquement activées dans un modèle murin de la dystrophie de Duchenne, la souris *Mdx4cv*, ou après une injection de notexine, un venin de serpent myotoxique qui active toutes les cellules satellites, perdent, pour la grande majorité d'entre elles, leur capacité à résister en conditions *post mortem*. Dans les tissus *post mortem*, la quiescence cellulaire protège les cellules souches de la mort.

Une approche par RT-qPCR nous a permis d'étudier le statut d'engagement dans le lignage myogénique des cellules satellites résistantes en conditions *post mortem*, après leur isolement par FACS. En comparant le profil transcriptionnel des cellules satellites extraites directement après le sacrifice de l'animal et 8 jours *post mortem*, on observe une diminution de l'expression de MyoD, Myogénine et troponine T et une augmentation du niveau d'expression de CD34, un marqueur de cellules souches. Les cellules souches dérivées de tissu *post mortem* sont moins préparées transcriptionnellement dans l'engagement myogénique et adoptent un état plus "souche".

Un profil génétique plus précis de ces cellules montre une augmentation de l'expression de gènes impliqués dans le stress oxydatif, l'hypoxie, la quiescence et l'arrêt du cycle cellulaire, tels que *FoxO1*, *hypoxia-inducible factor 3a2* (*Hif 3a2*), *angiopoietin 1* (*Ang1*), et *p21* respectivement. De plus, le gène suppresseur de tumeur *p53*, qui régule *p21*, est significativement augmenté dans les cellules souches musculaires *post mortem*, tout comme *Pentraxin* (*Ptx3*) qui joue un rôle dans la réponse inflammatoire. En revanche, aucun changement n'est observé dans l'expression des gènes pro et anti apoptotique tels que *Bax* et *Bcl2*.

La famille des facteurs de transcription de *NF- $\kappa$ B* est un régulateur majeur du stress cellulaire dans différents contextes. L'expression de *Nfkb1*, codant *p105*, le précurseur de *p50*, est réduite de manière significative dans les cellules isolées 4 jours *post mortem* tandis que le niveau d'expression de *p65* reste inchangé. *In vitro*, nous n'observons pas de translocation de *p65* dans le noyau et par conséquent, pas d'activation de *NF- $\kappa$ B* dans les cellules satellites normales et *post mortem*. En revanche, les cellules isolées directement après le sacrifice de l'animal ou 4 jours *post mortem* restent capables d'activer *NF- $\kappa$ B* après une stimulation avec du LPS, de l'IL1 $\beta$ , ou du *Tumor Necrosis Factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ).

Ces observations ont pu être confirmées en utilisant deux modèles différents de souris transgéniques, dans lesquels un rapporteur LacZ est corrélé à l'activation de *NF-κB*. En conditions normales, la présence de β-galactosidase nucléaire (témoignant d'une activité de *NF-κB*) sur des coupes histologiques est restreinte aux cellules endothéliales et quelques cellules interstitielles à la morphologie de fibroblastes, ou de cellules musculaires lisses. Après 4 jours et 8 jours *post mortem*, le nombre de cellules β-galactosidase positives diminue à cause de la mort cellulaire importante dans le tissu et aucune cellule satellite β-galactosidase positive n'est observée. Les cellules souches musculaires peuvent ainsi entrer dans un état de dormance, réversible et il semblerait que la quiescence soit un prérequis pour l'entrée en dormance.

### LES CELLULES SOUCHES RÉSISTANTES POST MORTEM SONT DANS UN ÉTAT METABOLIQUE DE DORMANCE

D'un point de vue métabolique, les cellules satellites extraites à partir de muscle 4 jours *post mortem* consomment moins d'oxygène *in vitro* que les cellules témoins. En effet, leur consommation est 38% moins importante après 30mn de culture et cette valeur reste réduite (23%) après 12h en culture. Le niveau d'ATP est également diminué dans les cellules prélevées 4 jours et 8 jours *post mortem* en comparaison aux cellules extraites directement après le sacrifice de l'animal.

Le ratio NAD<sup>+</sup>/NADH (Nicotinamide adénine dinucléotide), qui permet d'étudier l'état d'équilibre de réduction-oxydation (redox) des cellules et reflète l'activité métabolique ainsi que la santé des cellules, ne montre pas de différence entre 0 et 4 jours *post mortem*. Il n'y a donc pas de changement de l'état redox des cellules *post mortem*.

En revanche, le niveau de ROS (*reactive oxygen species*) dans les cellules 4 jours *post mortem* est huit fois plus important par rapport aux cellules contrôles.

Une modification de l'environnement des cellules en les protégeant des ROS en administrant aux souris un donneur de glutathion : la N-acétyl-L-cystéine (NAC) ou bien, au contraire, en diminuant le glutathion en administrant aux souris du buthionine sulfoximine (BSO), ne montre aucune modification du nombre de cellules satellites résistant 4 jours *post mortem*.

Afin de poursuivre ces observations, nous avons modélisé *in vitro* des éléments de cet environnement hostile *post mortem* en étudiant le comportement des cellules en anoxie, à une faible température. Les cellules souches isolées de souris *Tg:Pax7-nGFP* ont été stockées jusqu'à 21 jours à 4°C dans des chambres GenBag® anoxiques (moins de 0,1% d'oxygène). De manière très surprenante, les cellules souches du muscle survivent pendant de longues périodes en anoxie et significativement mieux dans un environnement anoxique par rapport aux cellules incubées à atmosphère ambiante (20% d'oxygène) à 4°C. Ces cellules

gardent leur capacité à proliférer et à se différencier même après plusieurs jours passés sans oxygène. Greffées à l'animal, elles demeurent fonctionnelles, reformant des fibres musculaires, au même titre que les cellules *post mortem* (*cf. infra*).

Contrairement aux cellules satellites issues de prélèvement *post mortem*, les cellules satellites maintenues en conditions anoxiques présentent un niveau de ROS réduit de neuf fois par rapport aux cellules isolées directement après la mort de l'animal.

Concernant l'état métabolique ainsi que le profil oxydatif des cellules satellites, nous avons étudié le statut mitochondrial des cellules satellites dans les deux scénarios : après 4 jours *post mortem* et 4 jours *post* anoxie. Nous avons observé une diminution de 28,3% de la masse mitochondriale dans les cellules isolées 4 jours *post mortem* mais pas dans les cellules ayant passé 4 jours en anoxie *ex vivo*, par rapport aux cellules fraîchement isolées. Grâce à une reconstruction 3D, nous avons pu noter que l'organisation générale du réseau mitochondrial reste, quant à elle, similaire dans les trois conditions.

L'analyse de l'ARNm (CytB) et l'ARNr (16s) révèle une diminution significative du niveau de ces transcrits par rapport aux conditions témoins, dans les cellules 4 jours *post mortem*, et de manière encore plus significative dans les cellules quatre jours après anoxie.

On observe une diminution d'expression des superoxydes dismutases CuZn-SOD1 et Mn-SOD2, des composants importants du mécanisme de défense cellulaire antioxydant, dans les cellules 4 jours *post mortem* et 4 jours après anoxie, en comparaison à des cellules témoins.

De manière intéressante, nous avons observé une augmentation significative de 57,8% de l'ADN mitochondrial (mtDNA) des cellules souches musculaires 4 jours *post mortem*. En revanche, le contenu en mtDNA diminue de manière importante (78,1%) dans les cellules stockées en anoxie pendant quatre jours. Ces observations nous permettent de conclure que l'état observé correspond bien à un nouvel état cellulaire que nous avons nommé « dormance cellulaire » et que les délais d'activation observés sont bien dus à une réactivation plus lente de ces cellules et non à un état de stress oxydatif et de blocage de l'entrée dans le cycle cellulaire.

### LES CELLULES SOUCHES HÉMATOPOIÉTIQUES PRÉSENTENT LES MÊMES CARACTÉRISTIQUES DE SURVIE POST MORTEM

Enfin, afin de savoir si cette résistance des cellules souches à ces conditions de stress pouvait également être le cas pour d'autres cellules souches, nous avons décidé de nous intéresser aux cellules souches hématopoïétiques. De la moelle osseuse prélevée à partir de fémurs de cadavres de souris *Tg:CAG-GFP* 4 jours *post mortem* ou stockée quatre jours en anoxie a été greffée chez des souris C57BL/6 receveuses, irradiées à dose létale. Dans tous les cas, nous avons observé une prise de greffe robuste des cellules



souches hématopoïétiques *post mortem* et anoxiques. Toutes les souris survivent après la greffe de moelle osseuse, même après une transplantation sériée. Une analyse phénotypique des cellules circulantes nous a permis de démontrer que toutes les lignées hématopoïétiques (lymphocytaires T et B, granuleuse et monocytaire) étaient parfaitement reconstituées. Ainsi, bien que trop tôt pour en faire une propriété générale des cellules souches, nous avons mis en évidence qu'un autre type de cellules souches, partageant certaines caractéristiques de quiescence, est capable de survivre aux conditions *post mortem* ainsi qu'à l'anoxie. Les cellules souches hématopoïétiques et satellites semblent toutes les deux pouvoir entrer en dormance cellulaire.

## CONCLUSIONS

Ce travail nous a permis de montrer pour la première fois que les cellules souches musculaires humaines et murines, tout comme les cellules souches hématopoïétiques, avaient la capacité de survivre dans des conditions extrêmes, en conditions *post mortem* et en anoxie tout en conservant leur fonctionnalités *in vitro* et *in vivo*. Le manque d'oxygène, de nutriments ou la présence d'une autolyse tissulaire importante déclenche une réponse des cellules souches qui induit un état de quiescence profond ou une dormance cellulaire.

La résistance à l'hypoxie sévère ou à l'anoxie pourrait être considérée soit comme une caractéristique intrinsèque d'une sous-population de cellules souches, soit comme un mécanisme général de toutes les cellules souches qui ont développé la capacité à réduire leur activité métabolique et adoptent un état « plus quiescent » lorsqu'elles sont soumises à d'extrêmes conditions de stress.

Cet état de dormance atteint par les cellules est le garant de leur survie. Cet état est réversible et elles peuvent s'activer et entrer dans le cycle cellulaire en cas de besoin. Induire un état de dormance est, à l'heure actuelle, un des enjeux importants pour le stockage cellulaire dans la perspective de futures thérapies cellulaires. L'anoxie et les faibles températures, qui permettent de diminuer considérablement le métabolisme des cellules, pourraient constituer une méthode afin d'induire un état de dormance cellulaire et pousser les cellules en « hibernation » sans les congeler, pendant plusieurs semaines.

Les résultats de ce travail fournissent des explications sur une partie des mécanismes qui permettent à ces cellules souches de survivre après la mort d'un organisme en montrant qu'il existe une corrélation directe entre le niveau d'énergie de la cellule, qui lui permet d'assurer une activité cellulaire basale indispensable à sa survie, et sa capacité à résister à un environnement hostile. De plus, nous avons observé que, lorsqu'une population cellulaire, non homogène, contenant à la fois des cellules différenciées et des cellules souches, était stockée en anoxie, cela déclenchait la mort spécifiquement des cellules différenciées, épargnant la majorité des cellules souches. Cette mise en anoxie constitue donc un moyen simple de purifier et d'enrichir les cellules souches. Ainsi l'utilisation de cellules provenant de cadavres ou après stockage en anoxie pourrait permettre de surmonter un des principaux problèmes que la recherche et la médecine rencontrent aujourd'hui, à savoir la limitation de l'accès au matériel biologique permettant l'essor de cette nouvelle stratégie thérapeutique.

Les auteurs déclarent l'absence de conflit d'intérêt.

Toutes les expériences animales ont été réalisées en accord avec les règles éthiques du comité local d'éthique animale de l'Institut Pasteur et en accord avec la réglementation.

Les expériences chez l'homme ont fait l'objet d'une déclaration à l'agence de la biomédecine (cf. Latil *et al.* 2006)

## REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient le Dr Serge Rosolen pour son invitation à présenter leurs travaux devant cette prestigieuse académie.

## BIBLIOGRAPHIE

- Christov C, Chrétien F, Abou-Khalil R, Bassez G, Vallet G, Authier FJ *et al.* Muscle satellite cells and endothelial cells: close neighbours and privileged partners. *Mol Biol Cell* 2007;18:397-409.
- Eliasson P & Jonsson JI. The hematopoietic stem cell niche: low oxygen but a nice place to be. *J Cell Physiol*. 2010;222:7-22.
- Gayraud-Morel B, Chrétien F, Tajbakhsh S. Skeletal muscle as a paradigm for regenerative biology and medicine *Regen Med*. 2009;4:293-319.
- Gayraud-Morel B, Chrétien F, Flamant P, Gomes D, Zammit PS, Tajbakhsh S. A role for the myogenic determination gene *Myf5* in adult regenerative myogenesis. *Dev Biol*. 2007;312:13-28.
- Kassari-Duchossoy L, Gayraud-Morel B, Gomes D, Rocancourt D, Buckingham M, Shinin V *et al.* *Mrf4* determines skeletal muscle identity in *Myf5*:MyoD double mutant mice. *Nature* 2004; 431:466-71.
- Kassari-Duchossoy L, Giaccone E, Gayraud-Morel B, Jory A, Gomes D, Tajbakhsh S. Pax3/Pax7 mark a novel population of primitive myogenic cells during development. *Genes Dev*. 2005;19:1426-31.
- Kelly R, Alonso S, Tajbakhsh S, Cossu G, Buckingham M. Myosin light chain 3F regulatory sequences confer regionalized cardiac and skeletal muscle expression in transgenic mice. *J Cell Biol*. 1995;129:383-96.
- Latil M, Rocheteau P, Châtre L, Sanulli S, Mémet S, Ricchetti M *et al.* Skeletal muscle stem cells adopt a dormant cell state post mortem and retain regenerative capacity. *Nat Commun*. 2012;3:903-6.
- Relaix F, Montarras D, Zaffran S, Gayraud-Morel B, Rocancourt D, Tajbakhsh S *et al.* Pax3 and Pax 7 have distinct and overlapping functions in adult muscle progenitor cells. *J Cell Biol*. 2006;172:91-102.
- Rocheteau P, Gayraud-Morel B, Siegl-Cachedenier I, Blasco MA, Tajbakhsh S. A subpopulation of adult skeletal muscle stem cells retains all template DNA strands after cell division. *Cell* 2012;148:112-25.
- Sambasivan R & Tajbakhsh S. Skeletal muscle stem cell birth and properties. *Semin Cell Dev Biol*. 2007;18:870-82.
- Shinin V, Gayraud-Morel B, Gomes D, Tajbakhsh S. Asymmetric division and co-segregation of template DNA strands in adult muscle satellite cells. *Nat Cell Biol*. 2006;8:677-87.