

# Hématopoïèse et vieillissement

**Pascal CHAIBI**  
**Service de Médecine Interne – Gériatrie du Professeur Piette**  
**Hopital Charles Foix**  
**Ivry sur Seine**



## Hématopoïèse normale (1)

**Cellules sanguines**      **Très différenciées**

**Pas capacité de division cellulaire**

**Peu de capacité de synthèse protéique**

**Mais en nombre constant**

**Durée de vie limitée**

**Polynucléaires neutrophiles**      **quelques heures**

**Plaquettes**      **quelques jours (6 à 8)**

**Globules rouges**      **3 mois**

**Phénomène de renouvellement des cellules sanguines =  
hématopoïèse**

## **Hématopoïèse et vieillissement**

### **Hématopoïèse normale (2)**

**Hématopoïèse** remplacement continu et régulé des cellules sanguines

**Continu** : processus fonctionnel de la vie intra-utérine à la mort

**Régulé** : doit assurer l'homéostasie à l'état de base

Adaptation et réactivité du système aux situations pathologiques, aux stress

Identification des phénomènes de régulation

### **Hématopoïèse normale (3)**

**Volumes de production hématopoïèse (situation de base)**

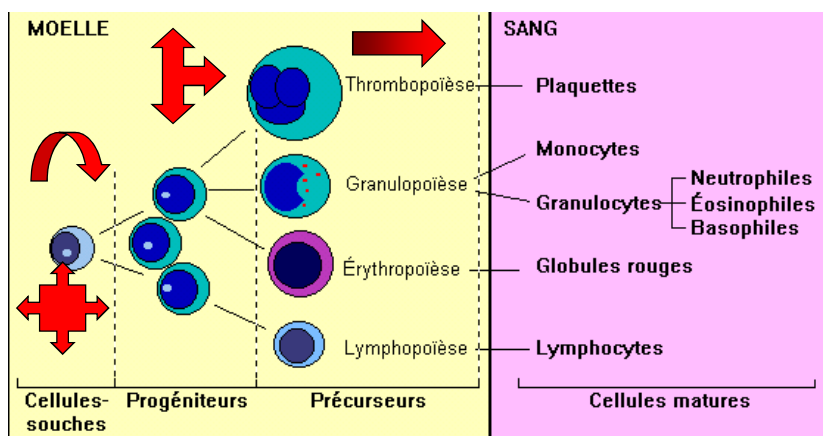
$10^{13}$  cellules/ jour

2 millions de globules rouges par seconde

**Usine de production** : cellules souches hématopoïétiques

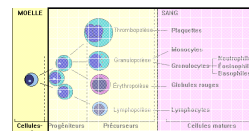
**Moelle osseuse** : se met en place 4° au 6° mois vie foetale  
dans tous les os jusqu'à 5 ans  
puis os courts et plats (sternum, côtes, vertèbres et os iliaques)

## Les compartiments de l'hématopoïèse



**Renouvellement**   **Engagement**   **Différenciation**  
**Totipotence**   **Prolifération**   **Maturation**

## Les cellules souches hématopoïétiques



**Auto - renouvellement** : pérennité activité médullaire; greffe de moelle

**Totipotence** : peuvent donner toutes les lignées hématopoïétiques

Cultures in vitro difficiles : milieu liquide, > 1 mois

Cellules qui donnent en culture à long terme des colonies où sont présentes toutes les lignées myéloïde et lymphoïde

CFU-S chez la souris; CFU-bl chez l'homme

Localisées dans la moelle osseuse mais peuvent passer transitoirement dans le sang (mobilisation par chimiothérapie)

Ne représentent que 0,01 à 0,05 % des cellules médullaires

Pas de caractéristiques morphologiques particulières

Possèdent des marqueurs antigéniques de surface : immunophénotype

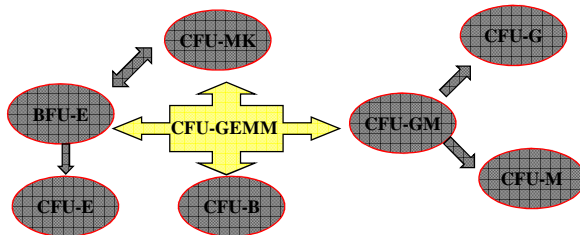
**CD 34 + CD 33 – HLA-DR faible**

## Les progéniteurs hématopoïétiques

Perte de la capacité d'autorenouvellement

Capacité importante de **prolifération**

**Différentiation** : engagement progressif et irréversible dans une lignée

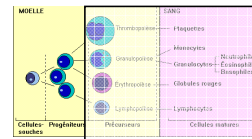


Non identifiables par cytologie

Représentent seulement 0,1 % des cellules médullaires

Possèdent des marqueurs antigéniques de surface : immunophénotype

**CD 34 + CD 33 + HLA-DR +**



## Les précurseurs médullaires

Précurseurs Identifiables en cytologie

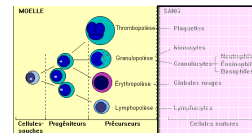
Pas autorenouvellement, engagés de manière irréversible dans une lignée

Étape de **prolifération** : du précurseur à la cellule mature, 3 à 5 mitoses

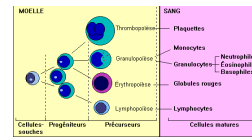
Dernière étape hématopoïèse : phase de **maturation**

Modifications spécifiques

- polylobulation noyaux myéloblastes
- granulations cytoplasmiques
- hémoglobinisation cytoplasme
- antigènes membranaires caractéristiques



## Les cellules sanguines matures



Assurent des fonctions essentielles à l'organisme

Oxygénation tissulaire

Lutte anti-infectieuse

Protection endothéliale et anti-hémorragique

Matures et fonctionnelles lors de leur passage sanguin

Pool de réserve médullaire pour réactivité rapide de la moelle en cas d'événement aigu (polynucléaires neutrophiles)

Différenciation post-médullaire seulement pour les monocytes (acquisition propriétés et phénotype macrophagiques lors de leur passage tissulaire)

## Régulation de l'hématopoïèse normale

### Facteurs de croissance hématopoïétique (CSF)

Nécessaires pour la culture in vitro de moelle

- survie
- prolifération
- différenciation et maturation

Glycoprotéines agissant comme des « hormones hématopoïétiques »

Assurent la régulation hématopoïèse

- continuité du processus
- hématopoïèse de stress (adaptation)
- rôle dans la leucémogénèse ???

Origines cellulaires multiples : Lymphocytes, cellules endothéliales  
Fibroblastes, monocytes/macrophages ...

Mode de sécrétion

- endocrine (EPO, rein)
- paracrine surtout (stroma médullaire)**
- autocrine parfois (boucles de régulation)

## **CSF de promotion : le facteur Steel**

**Hypothèse d'un CSF actif aux temps précoces de l'hématopoïèse  
sur la cellule souche primitive  
stimulant sa survie et son autorenouvellement**

**Facteur Steel** isolé dans des modèles murins  
synthétisé par le stroma médullaire  
diffusible et lié aux membranes

**Animaux mutants pour gène F Steel : tableau aplasie médullaire  
Equivalent humain : SCF (stem cell factor)**

**Par ailleurs action de** synergie avec autres CSF (EPO +++)  
différenciation mastocytaire

## **Facteurs de croissance hématopoïétique multipotents**

**CSF actifs sur les cellules souches et les progéniteurs**

**Favorisent la survie et la différenciation**

**Interleukine-3** synthèse extra médullaire (lymphocytes T, mastocytes  
et cellules gliales)  
induit une prolifération des progéniteurs  
favorise une différenciation de toutes les lignées  
(sauf érythroblastique)

**GM-CSF** synthèse par les monocytes, les fibroblastes  
synthèse par les lymphocytes T et les cellules  
endothéliales (après activation par IL-1)  
active prolifération CFU-GEMM

## **Facteurs de croissance hématopoïétique restreints**

CSF spécifiques d'une lignée progéniteurs engagés; précurseurs

Applications thérapeutiques + + +

**Erythropoïétine (EPO)** synthèse par rein (hypoxie); la moelle osseuse  
action tardive différenciation érythroblastique  
indispensable in vitro pousse érythroblastique

**G-CSF** synthèse par les fibroblastes, les monocytes et les cellules épithéliales  
différenciation et activation de la lignée granuleuse

**Thrombopoïétine (TPO)** action différenciation mégacaryocytaire

**Interleukine-5** synthèse par les lymphocytes T; différenciation éosinophiles

**M-CSF** action sur la lignée monocyttaire

peu différenciant; favorise la survie et l'activation des monocytes  
synthèse par les fibroblastes; les monocytes (régulation autocrine)  
catabolisé par les monocytes/macrophages (auto régulation terminale)

## **Régulation de l'hématopoïèse normale Micro-environnement médullaire**

Constitué par

- \* les cellules du stroma médullaire Fibroblastes, cellules endothéliales  
Cellules épithéliales, macrophages  
Adipocytes, cellules dendritiques
- \* Matrice extracellulaire Collagène I et III  
Protéoglycanes

Rôle dans l'hématopoïèse illustré par

- \* Aplasie médullaire dans déficit murin en facteur Steel (stromal)
- \* Organisation spontanée des cultures de moelle hématopoïétique à long terme
  - Couche stromale profonde
  - Couche adhérente au stroma (cellules souches)
  - Phase libre : progéniteurs engagés; précurseurs

## **Micro-environnement médullaire**

**Coopération intercellulaire pour phénotype tissulaire**

**Sécrétion des CSF (sauf IL-3)**

**Faible à l'état de base**

**Inductible (IL-1, TNF, endotoxine) (adaptation hématopoïèse)**

**Régulation paracrine**

**Facteurs membranaires probables (interactions cellules-cellules)**

**Sécrétion molécules inhibitrices**    **TNF  $\beta$ , TGF  $\beta$ , IL - 10, P-sélectine**

**Rôle de la matrice extracellulaire**

**Réseau de soutien tissulaire, mais pas seulement**

**Homing médullaire des cellules hématopoïétiques (interaction antigènes matrice molécules d'adhésion)**

**Activation ? Concentration des CSF (protéoglycanes)**

## **Régulation de l'hématopoïèse normale: Autres facteurs**

**Facteurs vitaminiques nécessaires synthèse ADN (B12, folates)**

**Facteurs hormonaux implications connues surtout dans érythropoïèse (facilité étude)**

**Insuline, IGF1 et IGF2      Potentialisation de l'EPO**

**Hormone de croissance(GH) Erythropoïèse**

**Dexaméthasone, cortisone      Stimulation formation colonies érythroïdes**

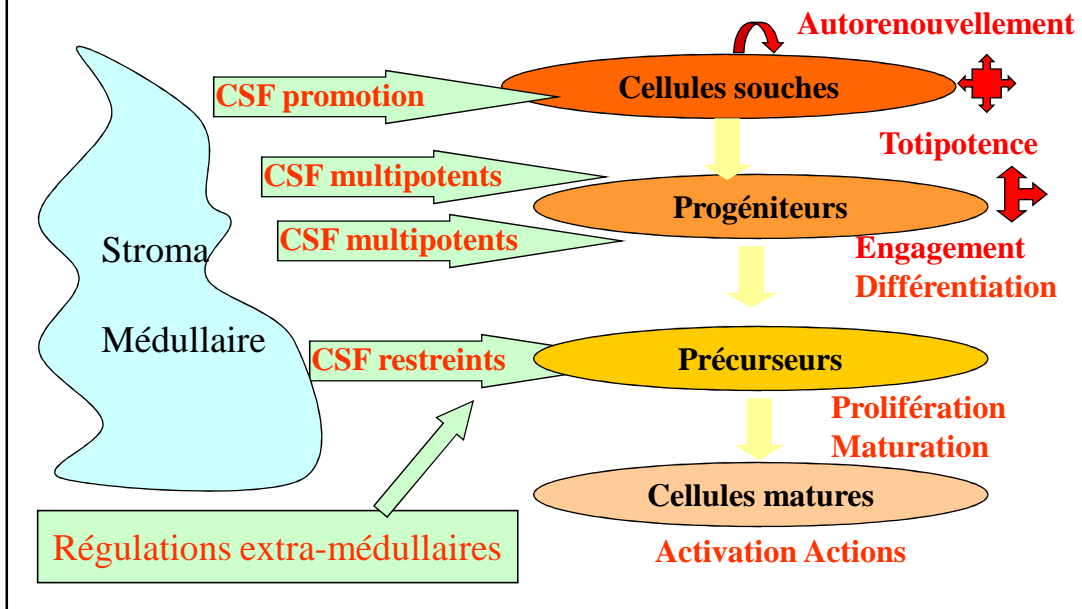
**Potentialisation G et M**

**Hormones thyroïdiennes      Potentialisation érythropoïèse**

**Androgènes      CFU-S : mise en cycle**



## Schéma général de l'hématopoïèse normale



## Modifications de l'hématopoïèse au cours du vieillissement

## **Hématopoïèse et vieillissement : constatations cliniques (1)**

### **A l'état de base**

#### **Pas d'anémie de la sénescence**

**Renouvellement érythrocytaire plus rapide ?**

**Proportion de Low Density Erythrocytes plus élevée**

**Taux de réticulocytes x 2 (tout en restant < 100 000)**

**Pas de diminution populations leucocytaires**

**Pas de modification majeure des fonctions des polynucléaires neutrophiles**

**Adhérence, chimiotactisme**

**Phagocytose, bactéricidie**

**Réponse CSF**

## **Hématopoïèse et vieillissement : constatations cliniques (2)**

### **Situations de « stress hématologique »**

**Neutropénie lors infections graves**

**Toxicité hématologique plus importante des chimiothérapies**

**Echec prise de greffe de moelle si donneurs de moelle âgés**

### **Leucémies et myélodysplasies**

**Facteurs environnementaux (effet cohorte)**

**Profil phénotypique particulier et spécifique de ces hémopathies  
chez les sujets âgés**



## **Hématopoïèse et vieillissement : qu'est-on en droit d'attendre?**

### **Modifications hématopoïèse liées au vieillissement**

**Pas d'influence sur état de base**

**Réponse diminuée en situation de stress**

**Sensibilité accrue stress mineurs ?**

**Rôle dans hémopathies malignes ?**

## **Hématopoïèse et vieillissement : difficultés d'étude**

### **Modèle « idéal » : moelle osseuse humaine in vivo**

**Modèles d'étude réels**

**In vivo, modèles murins**

**Etude in vitro moelle humaine : fractions de moelle surtout**

**Etude in vitro de cellules souches circulantes (CD 34 +)**

**Etudes in vitro : cultures dans des conditions optimales de  
pousse in vitro, sans rapport avec les conditions intra  
médullaires in vivo**

**Etude facteurs de croissance ou cytokines :**

- dosages plasmatiques (rapport avec taux médullaires?)
- effet de doses pharmacologiques

## Modifications des cellules souches (1) Reconstitution hématopoïétique

### Pool cellules souches hématopoïétiques

(difficultés étude; phénotype CD 34+ - CD33-)

- \* Plus élevé chez individus âgés (x 5 chez animaux âgés)
- \* Mais échec de prise de greffe x 4 (expériences animales; clinique humaine)

### Expérience de reconstitution compétitive

- Animaux syngéniques; 2 donneurs simultanés, âge différent; marqueurs cytogénétiques; reconstitution à long terme
- Progéniteurs au moins aussi nombreux animaux âgés
- \* Reconstitution à long terme moins bonne donneurs âgés

## Modifications des cellules souches (1 bis) Reconstitution hématopoïétique

Effects of aging on the homing and engraftment of murine hematopoietic stem and progenitor cells

Ying Liang, Gary Van Zant, and Stephen J. Szilvassy

BLOOD, 15 AUGUST 2005 • VOLUME 106, NUMBER 4

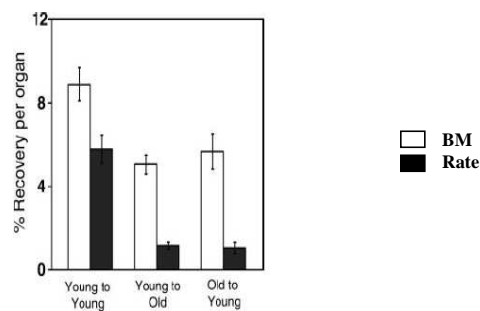


Figure 1. Reduced homing capacity of HPCs with donor and recipient age.

Défaut homing dû à des modifications des cellules souches (old to young) et du microenvironnement médullaire ((young to old)

## **Modifications des cellules souches (2)**

### **Cellules souches en cycle (S/G2/M)**

- \* Très faible pourcentage de manière physiologique
- \* Proportion de cellules souches en cycle augmente avec l'âge
- \* Il existe, *in vitro*, une corrélation inverse entre le pourcentage de cellules souches en cycle et la durée vie des cultures de CSH
- \* Rôle éventuel dans la survenue de mutations oncogéniques ?  
(accidents du cycle cellulaire)  
Plus grande fréquence des anomalies cytogénétiques moelle osseuse des sujets âgés

## **Modifications des cellules souches (3)**

### **Auto renouvellement (1)**

**Capacité limitée autorenouvellement      Excède la durée de vie**

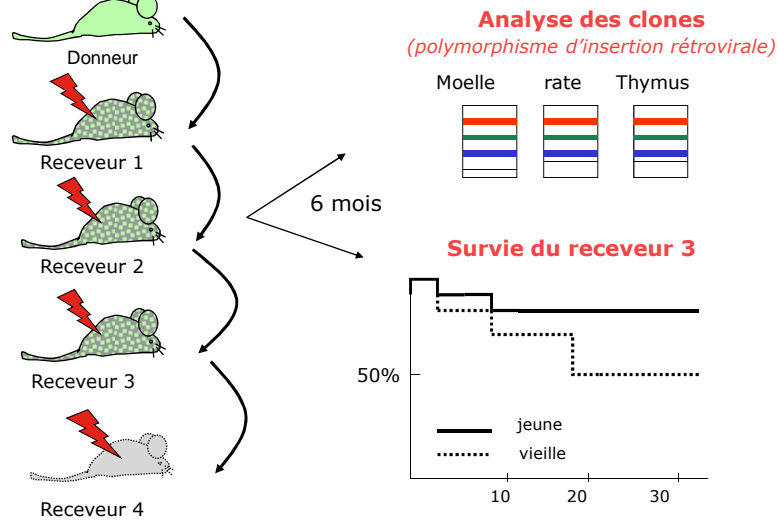
### **Greffes en série (in vitro, modèles animaux)**

- \* Epuisement après nombre limité de greffes
- \* Epuisement dû surtout à une perte de la capacité d'autorenouvellement des CSH
- \* Si donneur âgé, nombre significativement plus faible de greffes

### **Etudes par toxicités répétées (chimiothérapies)**

- \* moins concluantes
- \* Rôle majeur de l'intensité des stress hématopoïétiques
- \* Effet âge de l'animal « écrasé » par la chimiothérapie

## Epuisement de la capacité de reconstitution des cellules souches hématopoïétiques



**Situation expérimentale in vitro très différente de la situation in vivo**

## Modifications des cellules souches (4)

### Auto renouvellement (2)

#### Région télomérique

**Région hautement répétitive extrémités des chromosomes**

**Rôle protection fusion; activité exonucléasique**

**Perte quelques dizaines de paires de bases à chaque division**

#### Sénescence cellulaire répliative

**Raccourcissement progressif des télomères**

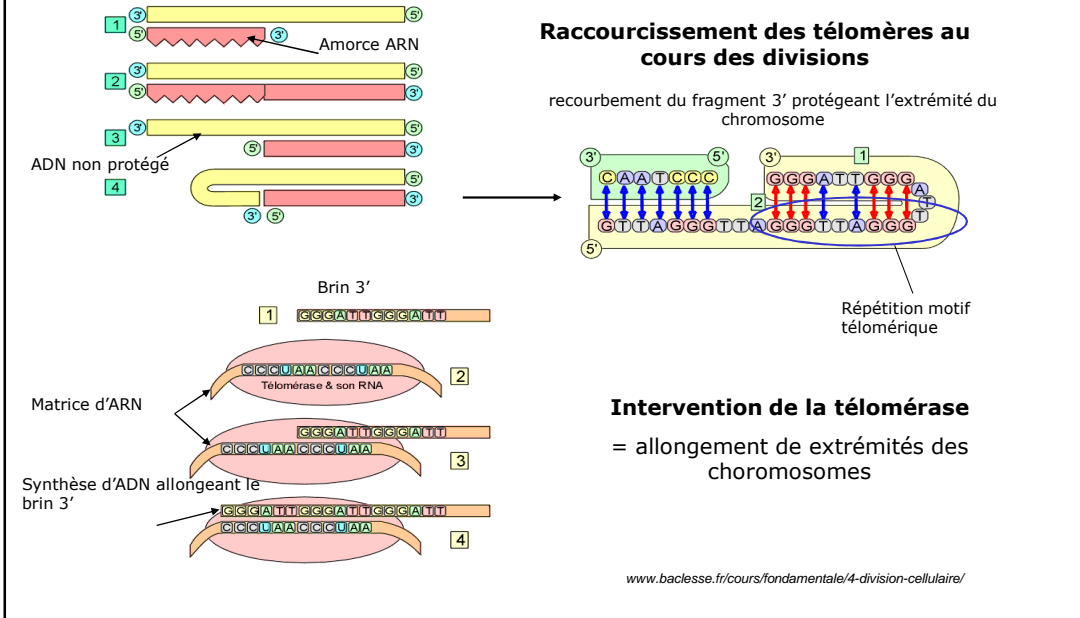
**Longueur inversement proportionnelle histoire répliative antérieure**

**proportionnelle potentiel résiduel répliation**

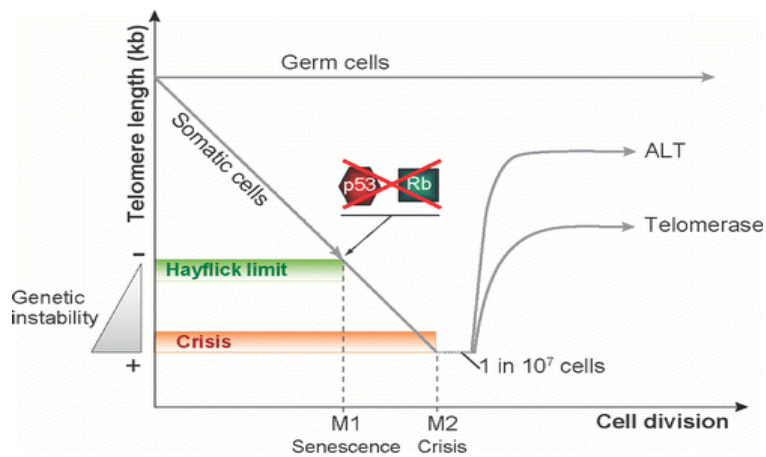
**Raccourcissement critique : sénescence répliative**

**Arrêt de division, modifications cellulaires morphologiques et fonctionnelles**

## Activité de la télomérase



## Sénescence répllicative



Stewart SA, Weinberg RA. 2006. Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 22:531–57



## **Modifications des cellules souches (5)**

### **Auto renouvellement (3)**

**Protection des télomères par activité enzymatique de type télomérase**

- \* cellules germinales (intégrité transmission patrimoine génétique)
- \* cellules souches (CSH, cellules cryptiques intestinales ...)

**Dans les CSH      expression faible télomérase à l'état de base  
                          expression télomérase induite par la prolifération**

**La protection par la télomérase des cellules souches hématopoïétiques est incomplètement efficace**

**Raccourcissement des télomères fonction de  
                          âge individu  
                          stress hématopoïétiques antérieurs**

**Rôle de ce raccourcissement télomérique dans la diminution capacité d'autorenouvellement des cellules souches hématopoïétiques ?**

## **Modifications des cellules souches (6)**

### **Anomalies qualitatives : études de clonalité**

**Le chromosome X est porteur d'un certain nombre de gènes connus  
Chez la femme, dans chaque cellule, inactivation aléatoire d'un des 2 chromosomes X**

**Chez les femmes hétérozygotes pour un des gènes (par exemple gène codant pour G6PD) portés par X, on peut étudier le profil d'expression des 2 allèles dans un tissu**

**Profil normal 1/1 chez hétérozygotes**

**Modifications des cellules souches (7)**  
**Anomalies qualitatives : études de clonalité**

**Etudes inactivation X femmes hétérozygotes (par exemple pour G6PD)**

**Profil tissulaire (fibroblastes) normal (1/1) femmes âgées**

**Dans les cellules hématopoïétiques, on trouve un profil oligoclonal (10/1)**  
 < 2 % chez les sujets jeunes  
 20 à 25 % chez les plus de 60 ans

**Hypothèses**

- \* réduction du pool de CSH (*voir supra*)
- \* avantage de survie conféré par un des 2 allèles (peu probable car observé pour des gènes portés par X différents)

**Hématopoïèse oligoclonale (peu de cellules souches « efficaces »)**

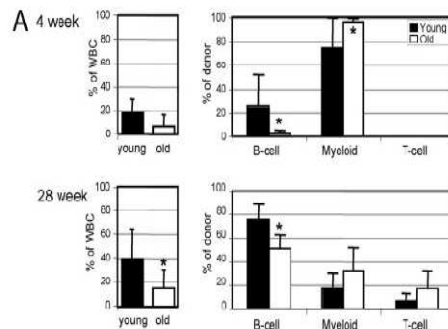
- \* baisse réactivité moelle
- \* rôle dans hématopoïèse maligne

**Modifications des cellules souches**

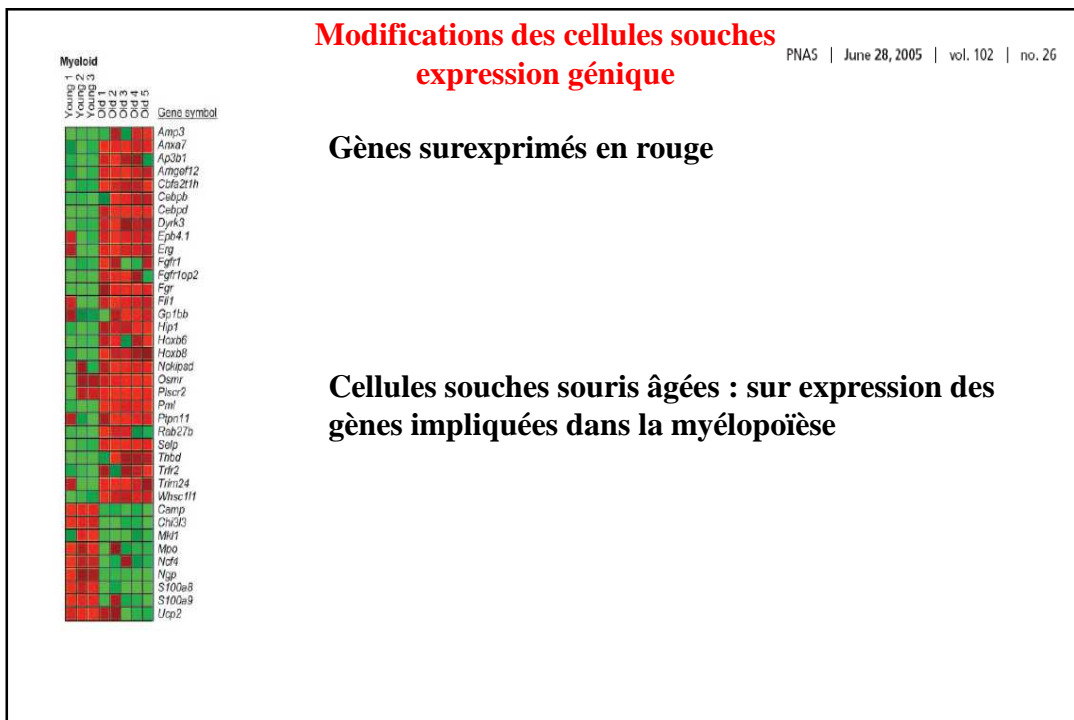
**Cell intrinsic alterations underlie hematopoietic stem cell aging**

PNAS | June 28, 2005 | vol. 102 | no. 26

Derrick J. Rossi<sup>1,2</sup>, David Bryder<sup>1,2</sup>, Jacob M. Zahn<sup>3</sup>, Henrik Ahlenius<sup>4</sup>, Rebecca Sonu<sup>5</sup>, Amy J. Wagers<sup>6</sup>, and Irving L. Weissman<sup>1,2</sup>

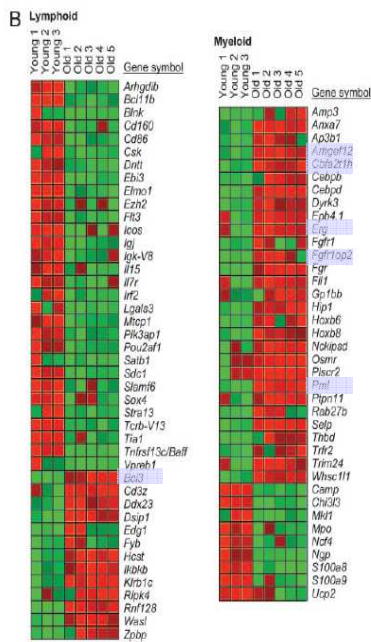


**Reconstitution moins efficace de la lymphopoïèse : rôle dans la baisse d'efficacité du système immunitaire**



## Modifications des cellules souches expression génique

PNAS | June 28, 2005 | vol. 102 | no. 26



**5 % des gènes surexprimés dans les cellules souches des souris âgées sont des gènes impliqués dans la leucémogénèse**

**Myéloblastique : Aml, Erg, ETO, Fgfrf, Pml**

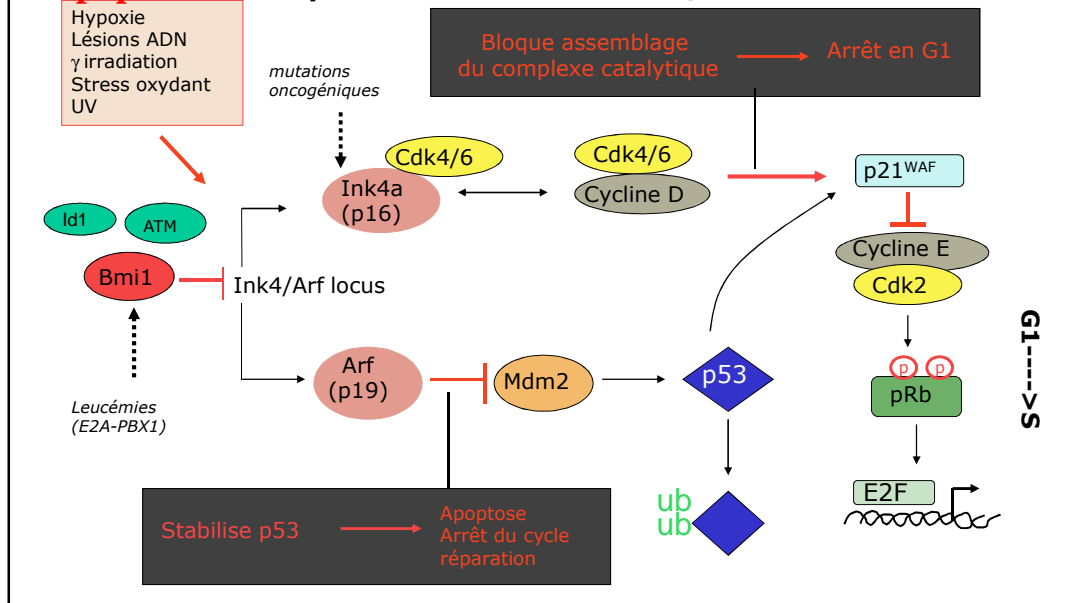
**Lymphoblastique : Bcl3, Pbx1, Maf**

## Modifications des cellules souches expression génique et apoptose

### Contradiction apparente

- **Stabilité du nombre de cellules souches hématopoïétiques**
- **Augmentation du pourcentage de cellules souches en cycle**
- **Moindre efficacité en termes d'autorenouvellement et de prolifération**

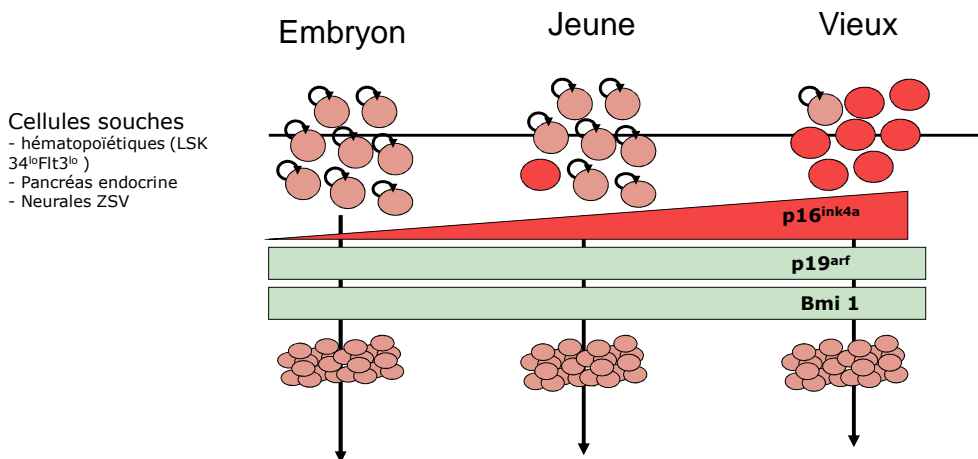
## Modifications des cellules souches : expression génique et apoptose



## Modifications des cellules souches : expression génique et apoptose

### Expression de p16<sup>ink4a</sup> dans les cellules souches au cours de la vie

### Augmentation apoptose médullaire au cours du vieillissement ?



Cell october 2006, Nature 2006

## Modifications des progéniteurs hématopoïétiques au cours du vieillissement (1)

### Etude sur moelle donneur volontaire

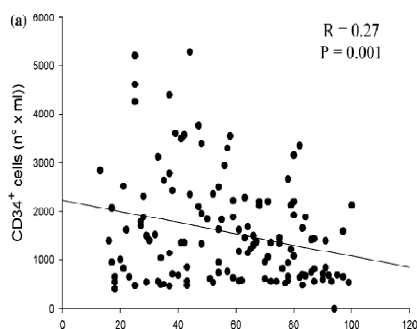
- Augmentation exponentielle du nombre de progéniteurs, estimé sur les CFU-GM, avec l'âge
- \* Mais moindre capacité de réplication (capacité à donner une 2<sup>o</sup> colonie après repiquage d'une cellule de CFU-GM)
- \* Ce phénomène débute dès la naissance (comparaison sang de cordon – moelle adulte jeune)
- \* Peut-être atteint-il un point critique chez les sujets âgés ?

## Modifications des progéniteurs hématopoïétiques au cours du vieillissement (2)

Age- and gender-related alterations of the number and clonogenic capacity of circulating CD34<sup>+</sup> progenitor cells

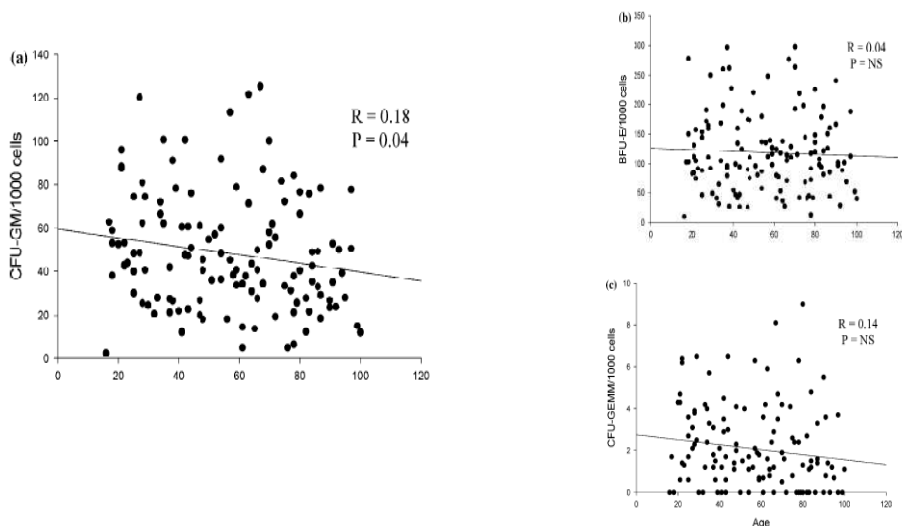
Biogerontology (2005) 6:185–192  
DOI 10.1007/s10522-005-7954-5

130 healthy subjects (80 females and 50 males) ranging in age from 16 to 100 years.



\* Signification CD 34 + circulants

## Modifications des progéniteurs hématopoïétiques au cours du vieillissement : clonogénicité(3)



Signification : diminution de capacité ou de sensibilité aux CSF?

## Modifications des progéniteurs hématopoïétiques au cours du vieillissement (2)

### Etudes de la sensibilité aux CSF

- \* Mobilisation de CFU-GM par G-CSF
- \* Volontaires sains (in vivo, humains)
- \* Diminution de la sensibilité G-CSF (même effet, doses x 2) chez les sujets âgés

### Hypothèses physiopathologiques

- \* Moindre expression des récepteurs au G-CSF
- \* Modification affinité des récepteurs au G-CSF pour leur ligand
- \* Défaut de transduction du signal

Autres CSF ?

Rôle dans le retard de réponse hématopoïétique lors des stress

## **Modifications du stroma médullaire et de la production de CSF au cours du vieillissement (1)**

### Expérience murine de greffe de moelle croisée

- \* Echec greffe donneur âgé chez animal jeune : modifications des CSF
- \* Echec greffe donneur jeune chez animal âgé : modifications du stroma

### Sécrétion des CSF en situation clinique

- \* Taux G-CSF infection sévère
- \* Taux EPO anémie (à fonction rénale égale et même étiologie d'anémie)

Résultats équivalents dans les groupes d'âge

Mais ces dosages plasmatiques ne reflètent qu'imparfaitement les concentrations médullaires (or la régulation de l'hématopoïèse par les CSF est paracrine bien plus qu'endocrine)

### Etude in vitro de la sécrétion G, GM et M-CSF

- \* Culture fibroblastes médullaires
- \* Sécrétion spontanée faible, non différente selon l'âge du donneur sain
- \* Sécrétion induite par IL-1 significativement plus faible chez donneurs âgés

## **Modifications du stroma médullaire et de la production de CSF au cours du vieillissement (2)**

### Modifications des facteurs inhibant l'hématopoïèse

- \* Augmentation au cours du vieillissement production **TNF  $\alpha$**   
susceptible induire apoptose des progéniteurs hématopoïétiques
  
- \* Augmentation au cours du vieillissement production **IL-10**  
inhibition prolifération progéniteurs et précurseurs  
inhibition production GM-CSF par stroma  
inhibition croissance lignée érythrocytaire
  
- \* Augmentation au cours du vieillissement production **P-sélectine**  
inhibition prolifération des cellules CD 34+



## Modifications du stroma médullaire et de la production de CSF au cours du vieillissement (2)

### Modifications des facteurs croissance non hématopoïétiques

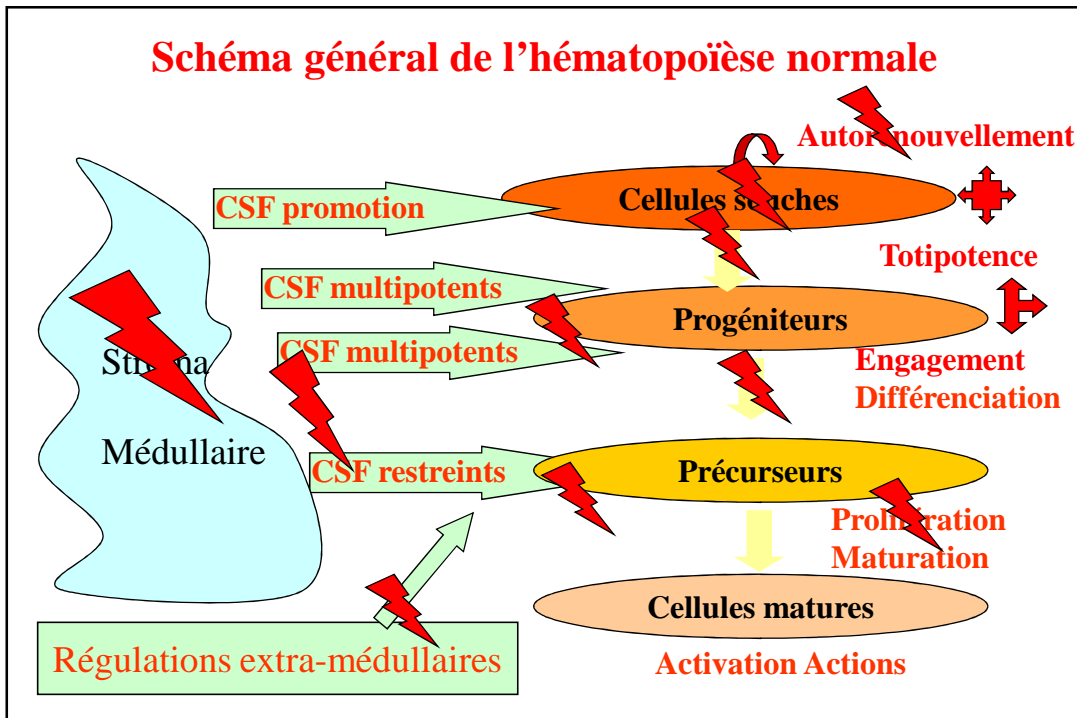
- \* Diminution au cours du vieillissement IGF1  
GH  
androgènes

### Modification du profil de production des CSF

- \* Augmentation de production IL-6, IL-3 (facteurs de prolifération (% CSH en cycle) et de différenciation)
- \* Augmentation de production de PGE2, TNF (F inhibiteurs)
- \* Diminution de production de GM-CSF

Restauration in vitro d'un profil de production des CSF comparable à celui des animaux jeunes par adjonction de DHEAS dans le milieu

## Schéma général de l'hématopoïèse normale



## **Hématopoïèse et vieillissement : constatations physiopathologiques**

### **Cellules souches hématopoïétiques**

- \* Conservation du pool total
- \* Diminution de leur capacité d'autorenouvellement
- \* Anomalies qualitatives (cellules en cycle, oligoclonalité)

### **Progéniteurs**

- \* Altération de leurs capacités d'amplification et de différenciation
- \* Moindre sensibilité aux CSF

### **Micro environnement médullaire**

- \* Moindre capacité de production de CSF stimulant l'hématopoïèse
- \* Production augmentée de facteurs inhibant l'hématopoïèse
- \* Homing moins efficace (échec prise de greffe)

## **Modifications de l'hématopoïèse liées au vieillissement Conclusions**

**Pas d'influence sur état de base**

- \* *Modifications subtiles, pas faillite globale*

**Réponse diminuée en situation de stress**

- \* *Réactivité diminuée à tous les niveaux*

**Sensibilité accrue stress mineurs ?**

- \* *Possible, arguments insuffisants*

**Rôle dans hémopathies malignes ?**

- \* *Probable, augmentation activité mitotique des CSH et profil oligoclonal*