



Disponible en ligne sur
SciVerse ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
EM|consulte
www.em-consulte.com



Dix-huitièmes Journées nationales de la Fédération française d'étude de la reproduction
 (Rouen, 25–27 septembre 2013)

Préservation de la fertilité chez le garçon prépubère : transplantation de cellules souches spermatogoniales et greffe testiculaire



Fertility preservation in boys: Spermatogonial stem cell transplantation and testicular grafting

E. Goossens^{a,*}, H. Tournaye^{a,b}

^a *Biology of the Testis (BITE), Vrije Universiteit Brussel, Laarbeeklaan 103, 1090 Brussel, Belgique*

^b *Centrum voor Reproductieve Geneeskunde, Universitair Ziekenhuis Brussel, Laarbeeklaan 101, 1090 Brussel, Belgique*

INFO ARTICLE

Historique de l'article :

Reçu le 28 mai 2013

Accepté le 24 juin 2013

Disponible sur Internet le 21 août 2013

Mots clés :

Cellule souche spermatogonale

Tissu testiculaire

Transplantation

Keywords:

Spermatogonial stem cell

Testicular tissue

Transplantation

R É S U M É

Les cellules souches spermatogoniales (SSC) sont les cellules fondatrices de la spermatogenèse. La cryopréservation et la transplantation de ces cellules ont été proposées comme stratégie pour préserver la fertilité chez le garçon prépubère qui serait à risque de perdre ses cellules souches, comme par exemple dans le cadre d'une chimiothérapie pour cancer ou d'un traitement de conditionnement pour une greffe de moelle osseuse. Pour prévenir la stérilité permanente chez les garçons, deux stratégies de rétablissement de la fertilité ont été développées : l'injection des SSC et la greffe de tissu testiculaire contenant des SSC. Selon la maladie du patient, une de ces deux approches sera choisie. La greffe peut être considérée comme stratégie de premier choix : cette méthode a l'avantage de maintenir les SSC dans leur niche naturelle, tout en préservant les interactions entre les cellules germinales et leurs cellules de soutien. Toutefois, si le risque de contamination maligne du tissu testiculaire est réel, par exemple dans le cas d'une leucémie, l'injection de SSC isolées est préférable à la greffe.

© 2013 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

A B S T R A C T

Spermatogonial stem cells (SSC) are the founder cells of spermatogenesis and are responsible for the lifelong production of spermatozoa. The cryopreservation and transplantation of these cells has been proposed as a fertility preservation strategy for young boys at risk for stem cell loss, i.e. patients undergoing chemotherapy for cancer or as a conditioning treatment for bone marrow transplantation. To prevent lifelong sterility in boys, two fertility restoration strategies are being developed: the injection of SSC and the grafting of testicular tissue containing SSC. Depending on the disease of the patient one of these two approaches will be applicable. Grafting has the advantage that SSC can reside within their natural niche, preserving the interactions between germ cells and their supporting cells and may therefore be regarded as the first choice strategy. However, in cases where the risk for malignant contamination of the testicular tissue is real, e.g. leukemia, transplantation of SSC by injection is preferable over grafting.

© 2013 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Les maladies malignes ont une incidence d'environ 1/6000 chez l'enfant de moins de 15 ans. Heureusement, aujourd'hui, 80 % de ces patients peuvent être guéris. Le sous-groupe de patients, qui

nécessite une chimiothérapie associée à une greffe de moelle osseuse, risque une stérilité à long terme. D'autres maladies nécessitant des traitements gonadotoxiques (par exemple la drépanocytose et la thalassémie) peuvent aussi entraîner la perte de cellules souches spermatogoniales (SSC). Contrairement à l'homme adulte, pour lequel la stérilité peut être évitée par congélation d'échantillons de sperme, le patient prépubère ne peut

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : ellen.goossens@vub.ac.be (E. Goossens).

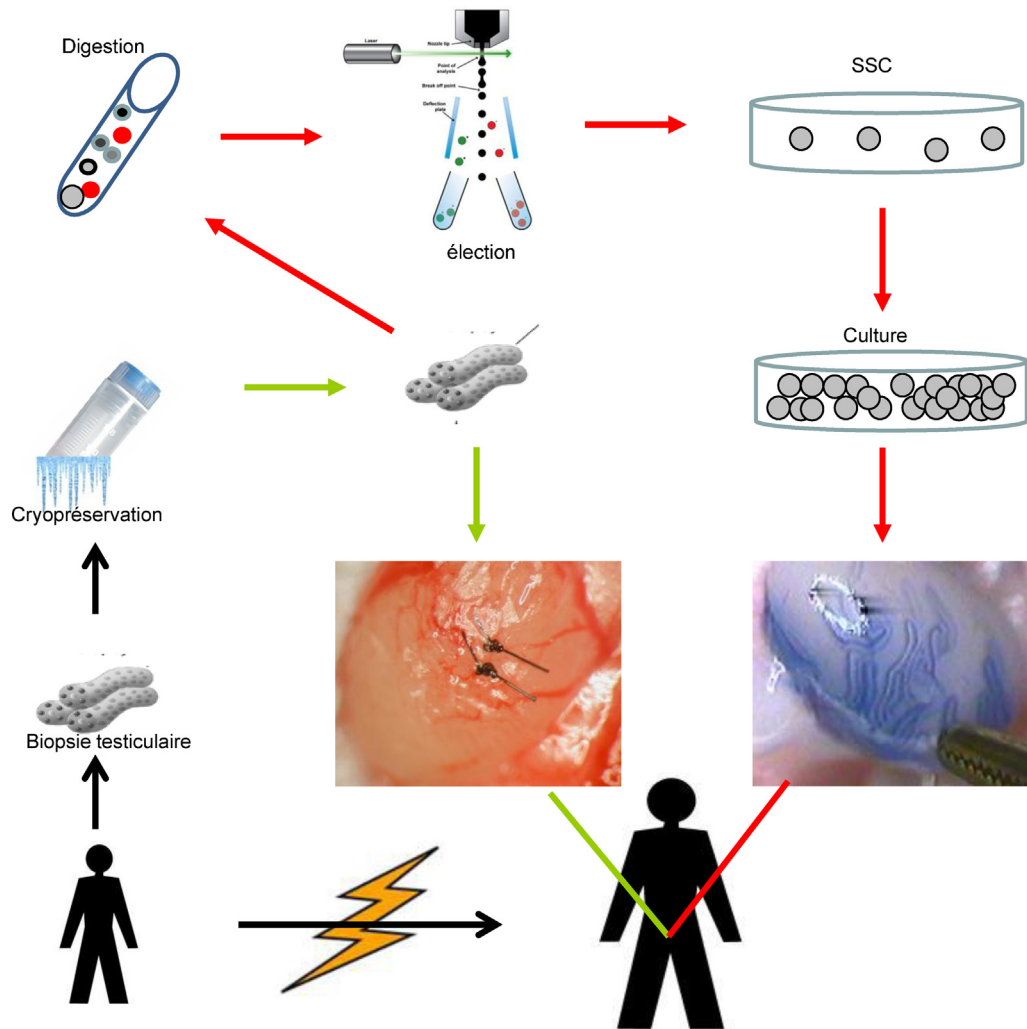


Fig. 1. Selon la maladie du patient, l'utilisation finale des tissus préservés sera différente. Si le patient souffre d'une maladie non-maligne, du tissu testiculaire sera cryopréservé pendant le traitement du patient. Une fois guéri, le patient peut revenir pour la greffe intra-testiculaire (flèches vertes). Cependant, si le patient présente un risque de contamination par des cellules malignes des testicules (points rouges), la biopsie décongelée doit être digérée par voie enzymatique pour permettre l'élimination des cellules malignes. Pour augmenter les chances de restauration de la fertilité, le nombre de SSC doit être élevé in-vitro. Dans ce cas, les SSC seront injectées dans le testicule (flèches rouges).

bénéficier de cette stratégie. La cryoconservation du tissu testiculaire, y compris les SSC, avant tout traitement gonadotoxique suivi d'une autogreffe intratesticulaire après guérison est peut-être la seule option pour ces patients [1].

À l'heure actuelle, la greffe de tissu testiculaire semble être l'outil le plus prometteur pour rétablir la fertilité. Cependant, cette technique n'est pas sans risque. Le tissu testiculaire de patients atteints de cancer pourrait être contaminé par des cellules cancéreuses. Il est évident que la réintroduction de cellules malignes chez un patient guéri doit être évitée à tout prix. Une greffe testiculaire peut être proposée en cas de maladies non malignes. Le tissu testiculaire de patients cancéreux doit d'abord subir une digestion, ensuite être décontaminé avant toute transplantation de SSC (Fig. 1).

1. La greffe de tissu testiculaire

La greffe est une approche prometteuse pour rétablir la fertilité chez les patients présentant des maladies non malignes. Chez la souris, la greffe a été réalisée au niveau de sites ectopiques (oreille, peau dorsale ou dans l'espace péritonéal) [2,3]. Bien que le tissu pré-pubère soit greffé avec succès chez la

souris [3–5], montrant une spermatogenèse dans presque toutes les greffes, les greffes de souris et humaines adultes sont généralement perdues à cause d'une sclérose ou d'une atrophie [6,7]. Dans les sites ectopiques, la température est plus élevée que dans les testicules, causant la sclérose et l'arrêt de la maturation des SSC. Dans les expériences ultérieures, le tissu a été greffé dans le scrotum [8]. Une étude récente, dans laquelle des fragments de testicules autologues greffés à plusieurs endroits dans le corps irradié de primates, a montré que la spermatogenèse ne pouvait être rétablie que lorsque le greffon est placé à l'intérieur du scrotum [9]. Cependant, bien que de nombreux fragments aient été transplantés, une très faible efficacité a été rapportée. La transplantation du tissu sous la membrane albuginée du testicule (greffe intratesticulaire) pourrait améliorer l'efficacité. Chez la souris, cette technique de transplantation est très efficace, la spermatogenèse complète étant établie dans toutes les greffes [10]. L'injection de spermatozoïdes intracytoplasmique (ICSI) à l'aide de sperme prélevé sur les allogreffes ectopiques et intratesticulaires de la souris a démontré que les spermatozoïdes étaient en mesure d'assurer à terme le développement de cellules progénitrices [11,12].

2. La transplantation de cellules souches spermatogoniales

La technique de transplantation de SSC a été décrite pour la première fois par l'équipe de Brinster en 1994 [13,14]. Les auteurs ont introduit une suspension de cellules germinales d'un testicule donneur fertile dans les tubules séminifères d'un récepteur stérile [15]. Les SSC ont pu se greffer sur la membrane basale des tubules et les coloniser durant le premier mois après la transplantation. Ensuite, les SSC ont commencé à proliférer. Les premières cellules méiotiques sont apparues après un mois et leur nombre a augmenté progressivement [16]. Les auteurs ont montré que les souris réceptrices pouvaient produire des descendants transgéniques après transplantation [17]. Des expériences similaires ont été réalisées en utilisant des SSC congelées [18]. Cette technologie a été ensuite réalisée chez d'autres mammifères, y compris des primates [19–21]. Récemment, la transplantation de SSC a été effectuée chez des singes rhesus stérilisés. Ces singes, devenus matures, ont produit des spermatozoïdes qui ont pu féconder des ovocytes par ICSI. Le modèle primate s'approchant fort du modèle humain, on peut ainsi espérer que cette technique soit reproductible chez l'homme et puisse être utilisée en clinique [22]. Des expériences sur les testicules de cadavres humains ont montré que le rete testis est le meilleur site pour l'injection de SSC [17,23]. Ces résultats encourageants nous permettent d'envisager le stockage et la transplantation de SSC dans le but de prévenir la stérilité. Dans le cas de patients cancéreux, l'élimination des cellules malignes doit être effectuée avant transplantation de SSC. Des stratégies de décontamination ont été étudiées mais jusqu'à présent elles semblent insuffisantes [24–26]. Avant toute application clinique, l'efficacité de la technique doit être améliorée. Seules les SSC se déplacent vers la membrane basale pour y commencer la colonisation. L'augmentation de la proportion de SSC dans la suspension pourrait améliorer l'efficacité de la colonisation [27,28]. Le prélèvement de tissu testiculaire chez le jeune garçon contient peu de SSC, ce qui nécessite la prolifération des SSC *in vitro*. Ce système de culture a été développé pour SSC humains [29].

3. Conclusion

Un cancer peut actuellement être traité avec des chances accrues de survie. Cependant, ce qui compte est la qualité de vie après traitement. Chez l'adulte et l'adolescent, la cryoconservation de sperme ou de tissu testiculaire avant traitement permet de prévenir la stérilité. La cryopréservation de tissu testiculaire du garçon prépubère est considérée comme une stratégie acceptable. Plusieurs institutions ont déjà mis en place des banques de tissu testiculaire. Bien qu'elle soit à ce stade expérimentale, la transplantation de SSC peut offrir une solution acceptable en vue de rétablir la fertilité chez le garçon prépubère. Les résultats mentionnés sont primordiaux pour la suite du développement de cette technique prometteuse.

Déclaration d'intérêts

Les auteurs déclarent ne pas avoir de conflits d'intérêts en relation avec cet article.

Références

- [1] Tournaye H, et al. Preserving the male reproductive potential of men and boys after cancer: current concepts and future prospects. *Hum Reprod Update* 2004;10:525–32.
- [2] Boyle PF, et al. Transplantation of interstitial cells of the testis: effect of implant site, graft mass and ischaemia. *Br J Urol* 1975;47:891–8.
- [3] Schlatt S, et al. Spermatogenesis and steroidogenesis in mouse, hamster and monkey testicular tissue after cryopreservation and grafting. *Reproduction* 2002;124:323–9.
- [4] Honaramooz A, et al. Sperm from neonatal mammalian testis grafted in mice. *Nature* 2002;418:778–81.
- [5] Rathi R, et al. Germ cell development in equine testis tissue xenografted into mice. *Reproduction* 2006;131:1091–8.
- [6] Schlatt S, et al. Limited survival of adult human testicular tissue as ectopic xenograft. *Hum Reprod* 2006;21:384–9.
- [7] Geens M, et al. Spermatogonial survival after grafting human testicular tissue to immunodeficient mice. *Hum Reprod* 2006;21:390–6.
- [8] Luetjens CM, et al. Complete spermatogenesis in orthotopic but not in ectopic transplants of autologously grafted marmoset testicular tissue. *Endocrinology* 2008;149:1736–47.
- [9] Jahnukainen K, et al. Autologous ectopic grafting of cryopreserved testicular tissue preserves the fertility of prepubertal monkeys which receive a sterilizing cytotoxic therapy. *Cancer Res* 2012;72:5174–8.
- [10] Van Saen D, et al. Regeneration of spermatogenesis by grafting testicular tissue or injecting testicular cells into the testes of sterile mice: a comparative study. *Fertil Steril* 2009;91:2264–72.
- [11] Schlatt S, et al. Progeny from sperm obtained after ectopic grafting of neonatal mouse testes. *Biol Reprod* 2003;68:2331–5.
- [12] Ohta H, Wakayama T. Generation of normal progeny by intracytoplasmic sperm injection following grafting of testicular tissue from cloned mice that died postnatally. *Biol Reprod* 2005;73:390–5.
- [13] Brinster RL, Zimmermann JW. Spermatogenesis following male germ-cell transplantation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91:11298–302.
- [14] Parreira GG, et al. Development of germ cell transplants in mice. *Biol Reprod* 1998;59:1360–70.
- [15] Brinster RL, Avarbock MR. Germline transmission of donor haplotype following spermatogonial transplantation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91:11303–7.
- [16] Avarbock MR, et al. Reconstitution of spermatogenesis from frozen spermatogonial stem cells. *Nat Med* 1996;2:693–6.
- [17] Schlatt S, et al. Germ cell transfer into rat, bovine, monkey and human testes. *Hum Reprod* 1999;14:144–50.
- [18] Honaramooz A, et al. Germ cell transplantation in goats. *Mol Reprod Dev* 2003;64:422–8.
- [19] Mikkola M, et al. Transplantation of normal boar testicular cells resulted in complete focal spermatogenesis in a boar affected by the immotile short-tail sperm defect. *Reprod Domest Anim* 2006;41:124–8.
- [20] Kim Y, et al. Production of donor-derived sperm after spermatogonial stem cell transplantation in the dog. *Reproduction* 2008;136:823–31.
- [21] Hermann BP, et al. Spermatogonial stem cells in higher primates: are there differences from those in rodents? *Reproduction* 2010;139:479–93.
- [22] Hermann BP, et al. Spermatogonial stem cell transplantation into rhesus testes regenerates spermatogenesis producing functional sperm. *Cell Stem Cell* 2012;11:715–26.
- [23] Ning L, et al. Spermatogonial stem cell transplantation in isolated human testis: selection of the most efficient injection site and dosage. *Fertil Steril* 2012;98:1443–1448.e1.
- [24] Fujita K, et al. Isolation of germ cells from leukemia and lymphoma cells in a human *in-vitro* model: potential clinical application for restoring human fertility after anticancer therapy. *Cancer Res* 2006;66:11166–71.
- [25] Geens M, et al. The efficiency of magnetic-activated cell sorting and fluorescence-activated cell sorting in the decontamination of testicular cell suspensions in cancer patients. *Hum Reprod* 2007;22:733–42.
- [26] Geens M, et al. Cell selection by selective matrix adhesion is not sufficiently efficient for complete malignant cell depletion from contaminated human testicular cell suspensions. *Fertil Steril* 2011;95:787–91.
- [27] Shinohara T, et al. Spermatogonial stem cell enrichment by multiparameter selection of mouse testis cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97:8346–51.
- [28] Kubota H, et al. Spermatogonial stem cells share some, but not all, phenotypic and functional characteristics with other stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:6487–92.
- [29] Sadri-Ardekani H, et al. Propagation of human spermatogonial stem cells in vitro. *JAMA* 2009;302:2127–34.