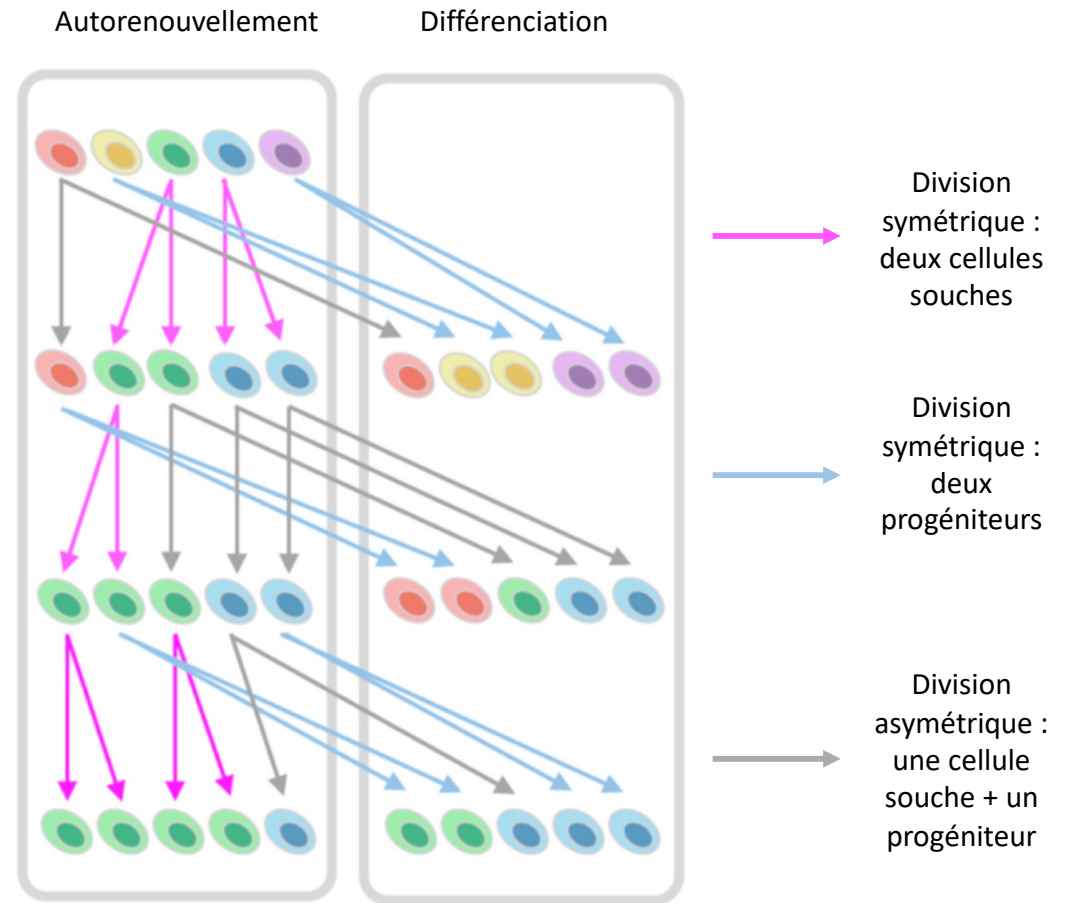
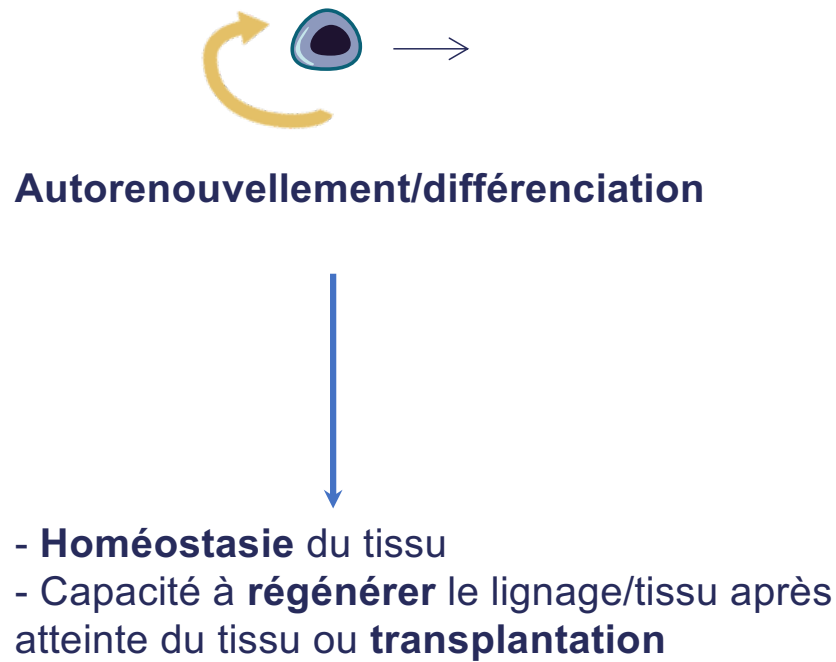


# Caractérisation des cellules souches spermatogoniales murines et humaines

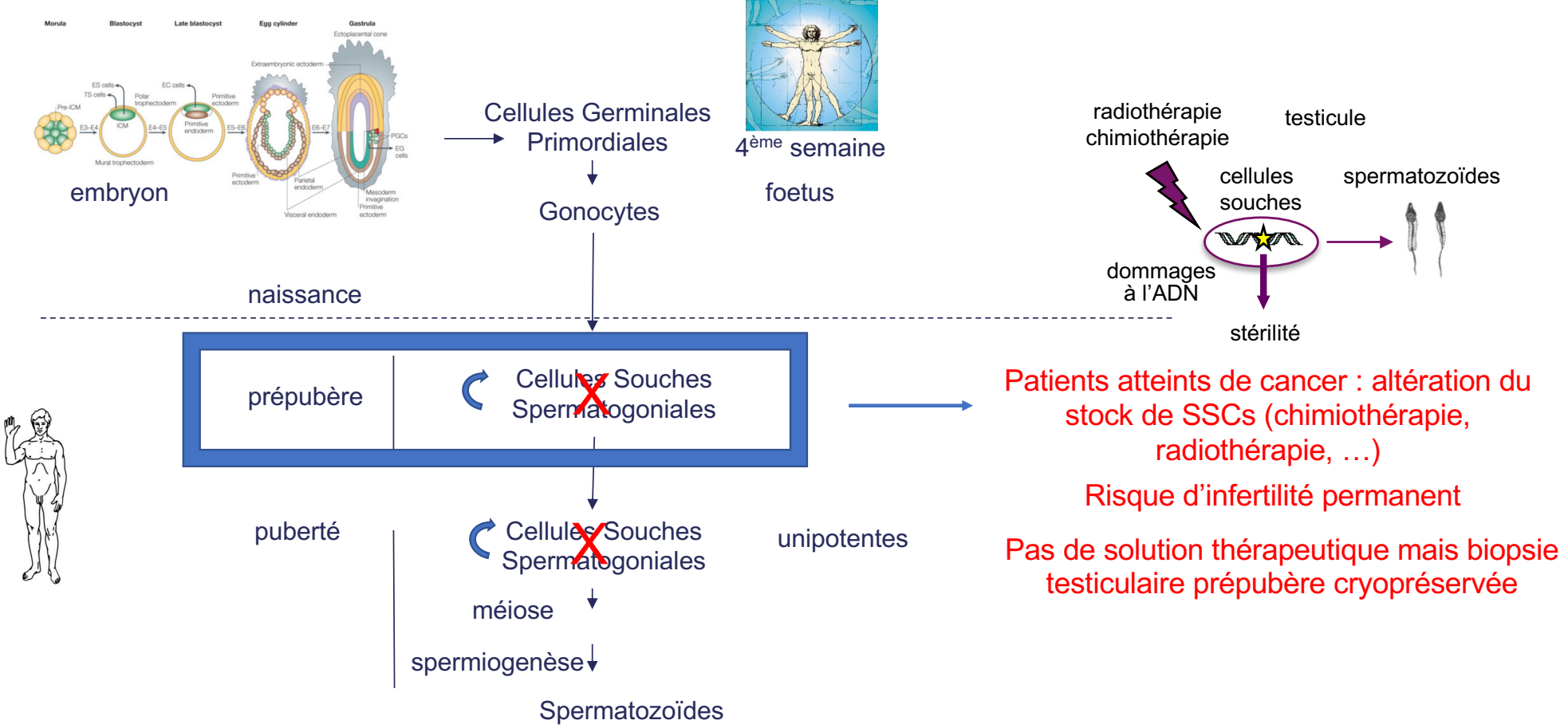
**P. Fouchet**  
**Laboratoire des Cellules Souches Germinales**  
**UMR SGCSR**  
**Fontenay aux roses**

# Cellule souche ?



D'après Yoshida, 2018

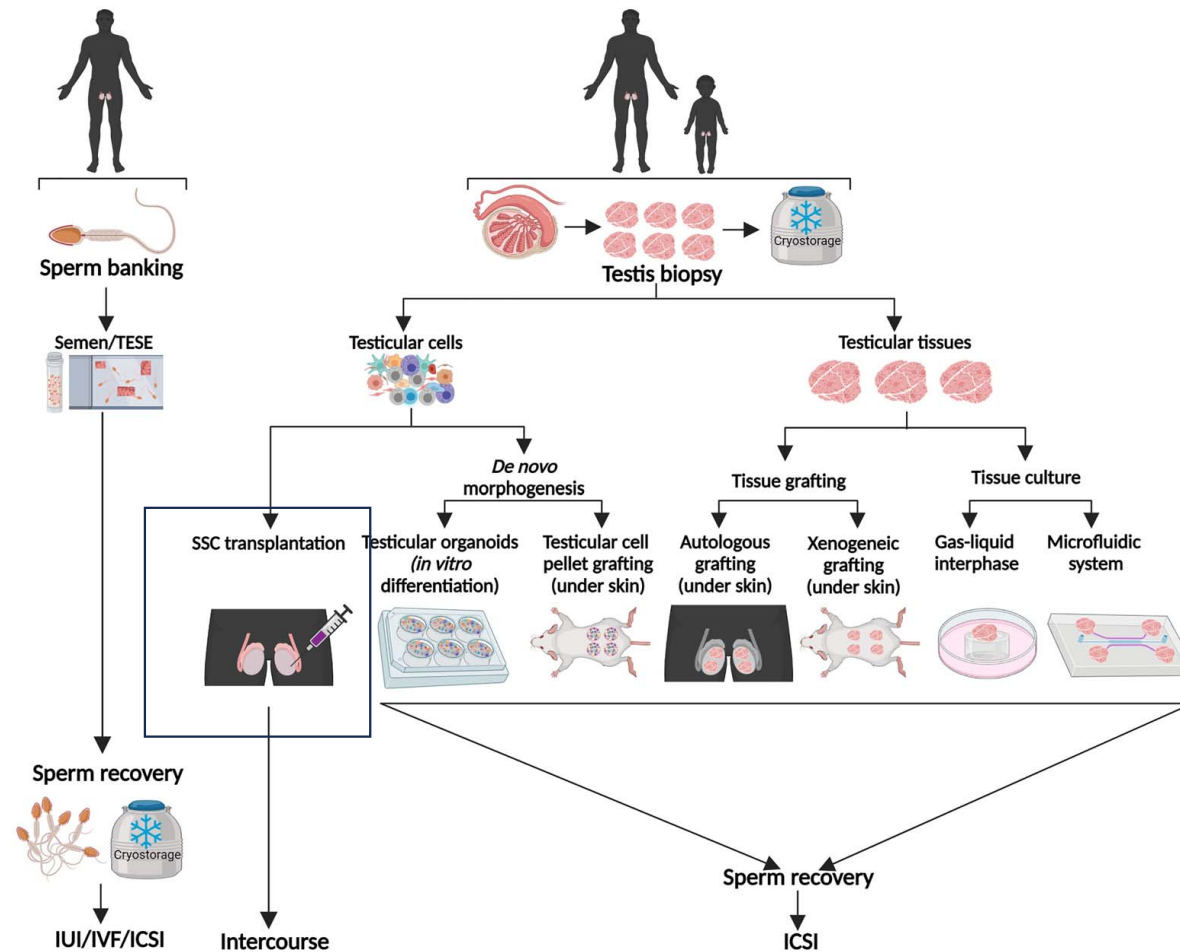
# La spermatogénèse



**Un point crucial: préserver le stock de SSCs disponible** dans la biopsie (nombre, qualité/fonctionnalité des SSCs, dommages ADN/épigénétiques), et **une niche testiculaire fonctionnelle**

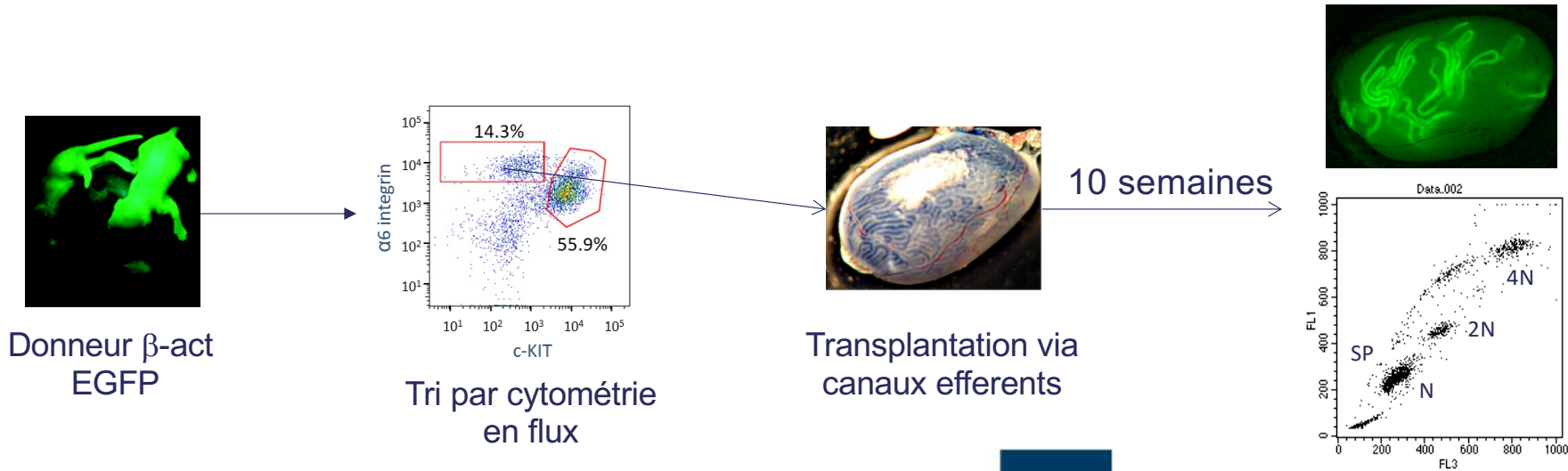
**Développer** des biothérapies pour l'infertilité **par thérapie cellulaire**, par exemple, **à partir des SSCs** présentes dans la biopsie

# Développement des techniques d'AMP, des exemples de projet de thérapie de l'infertilité masculine...



D'après Tran et al., 2022

## Transplantation testiculaire de SSCs et régénération de la spermatogénèse



Cell Stem Cell  
**Clinical Progress**



### Spermatogonial Stem Cell Transplantation into Rhesus Testes Regenerates Spermatogenesis Producing Functional Sperm

Brian P. Hermann,<sup>1,4,7,16</sup> Meena Sukhwani,<sup>7</sup> Felicity Winkler,<sup>7</sup> Julia N. Pascarella,<sup>7</sup> Karen A. Peters,<sup>7</sup> Yi Sheng,<sup>1,7</sup>  
Hanna Valli,<sup>5,7</sup> Mario Rodriguez,<sup>7</sup> Mohamed Ezzelarab,<sup>5</sup> Gina Dargo,<sup>13</sup> Kim Peterson,<sup>13</sup> Keith Masterson,<sup>8</sup> Cathy Ramsey,<sup>8</sup>  
Thea Ward,<sup>12</sup> Maura Lienesch,<sup>14</sup> Angie Volk,<sup>14</sup> David K. Cooper,<sup>5</sup> Angus W. Thomson,<sup>5</sup> Joseph E. Kiss,<sup>3,13</sup>  
Maria Cecilia T. Penedo,<sup>12</sup> Gerald P. Schatten,<sup>1,7</sup> Shoukhrat Mitalipov,<sup>8,9,10,11</sup> and Kyle E. Orwig<sup>1,2,4,7,\*</sup>

Mice : Brinster and Zimmermann 1994  
Pig : Honaramooz et al 2002  
Goat : Honaramooz et al 2003  
Chicken : Lee et al 2006  
Bovine : Herrid et al 2006  
Monkey : Hermann 2012

# Vers une application clinique chez l'homme?

---

## ***Principaux problèmes:***

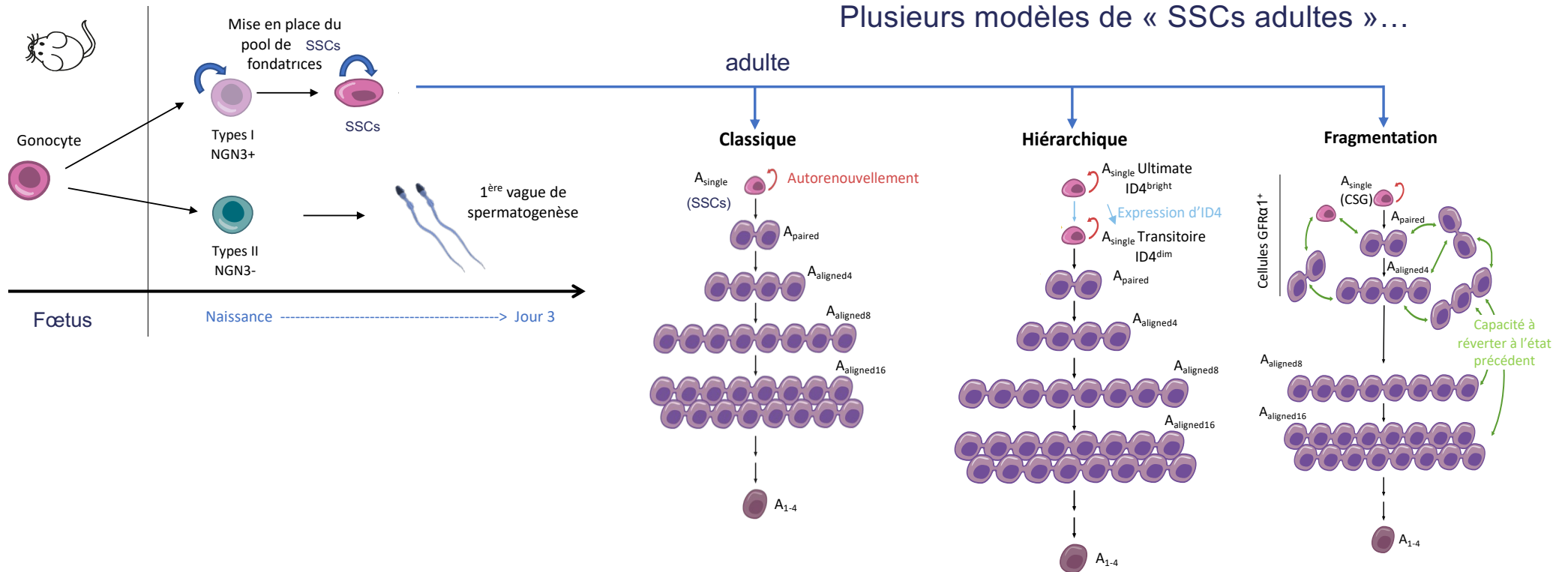
### ***Faible efficacité de la régénération de la spermatogenèse***

- **Augmentation du nombre de SSCs à transplanter via leur amplification in vitro : développement d'un système de culture de SSCs...**
- **Améliorer le conditionnement/traitement anticancéreux pour préserver la niche du receveur (patient) ?**

### ***Purification des SSCs pour éviter la réintroduction de cellules souches cancéreuses***

- **Recherche sur la biologie des SSCs et la niche chez l'homme**

# Modèle murin de SSCs: modèle le mieux décrit chez les mammifères

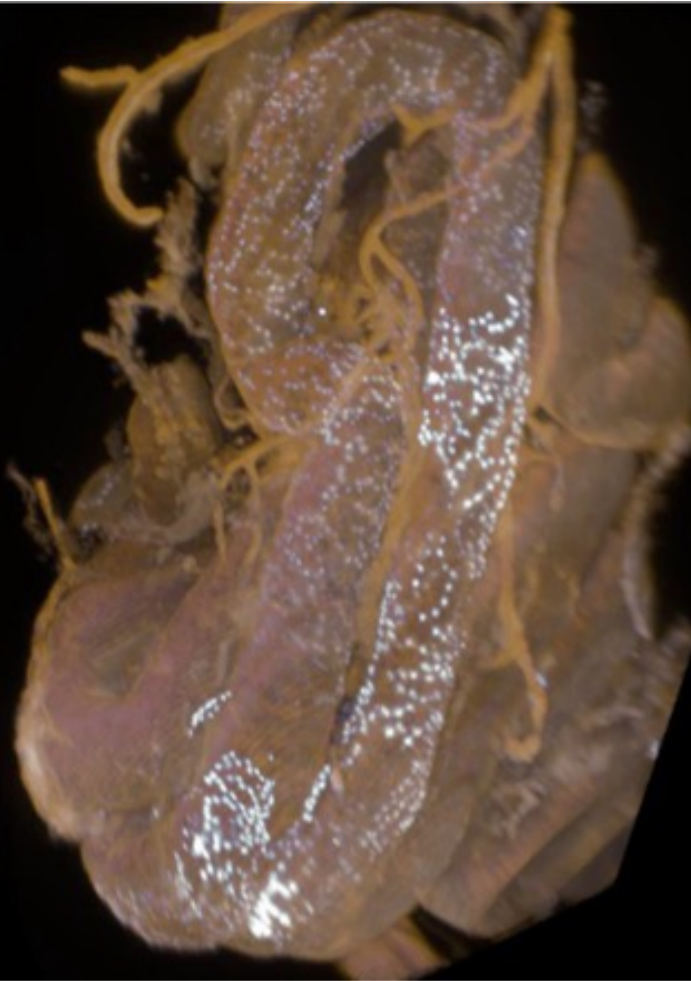


Mécanismes moléculaires de l'autorenouvellement/différenciation: notamment le rôle du **GDNF**, **FGFs**, ...

→ maîtrise de la culture et de l'amplification *in vitro* des SSCs sur des mois

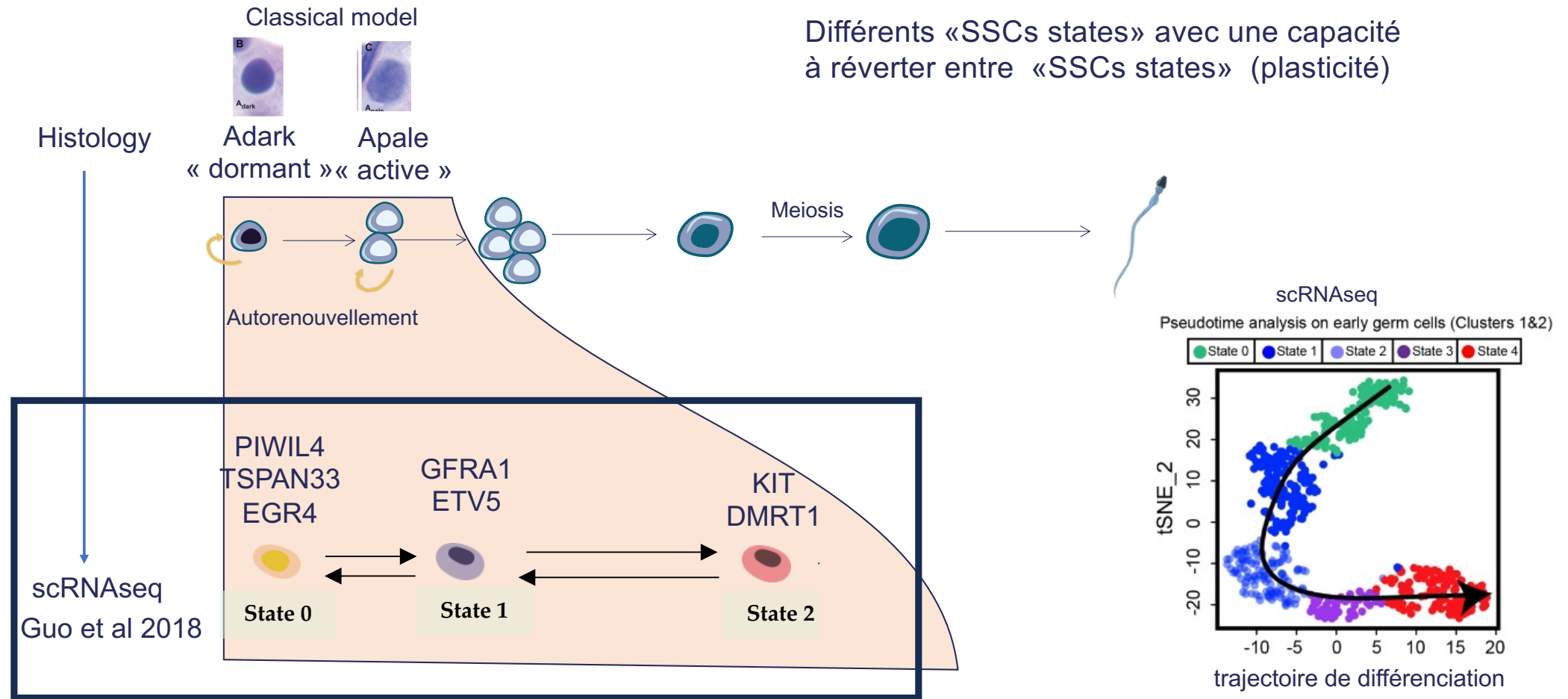


**Analyse 3-D de tubules  
séminifères avec des chaînes  
de SSC et de progéniteurs**

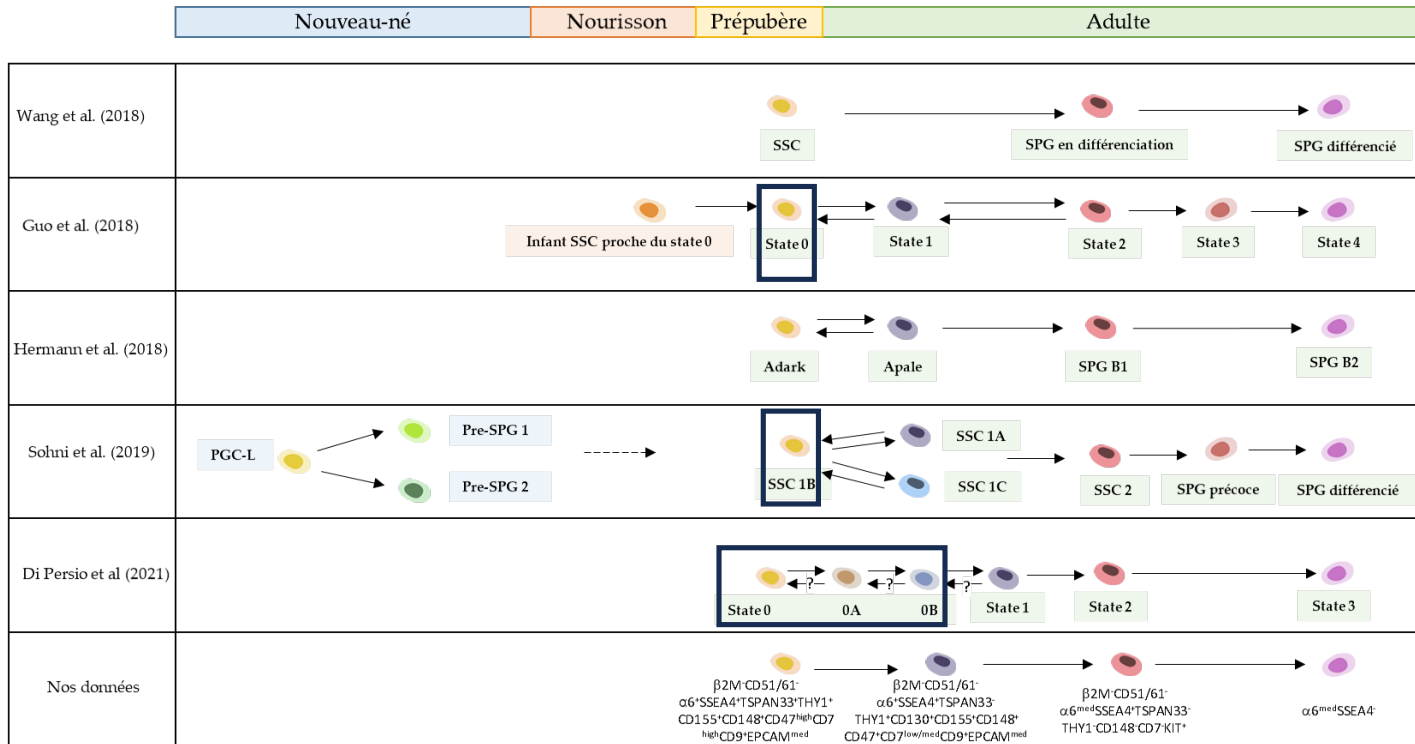


# MODÈLE DE CELLULES SOUCHES HUMAINES?

# Et chez l'homme?



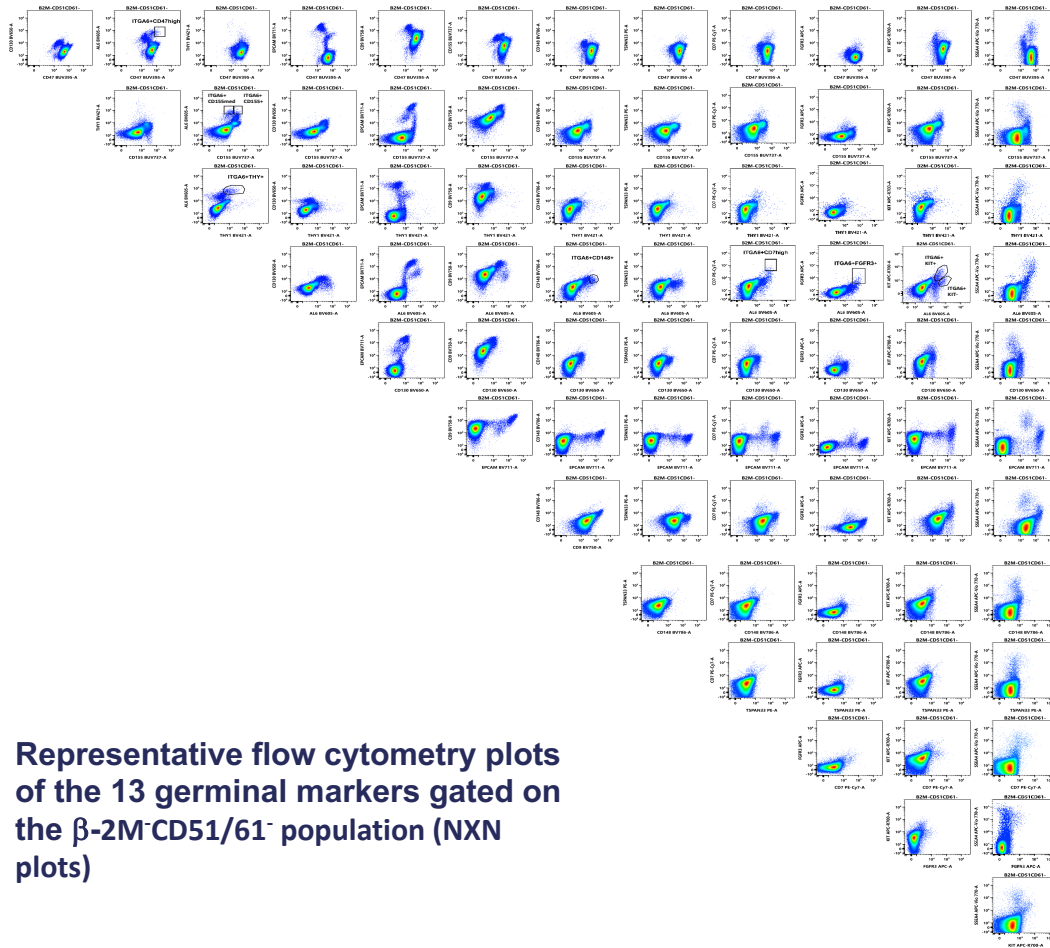
# Modèle humain : synthèse des différents modèles basés sur les études scRNAseq



**Identité des SSCs et mécanismes moléculaires de l'autorenouvellement/différenciation?  
Potentiel de régénération de ces populations de SSCs?**

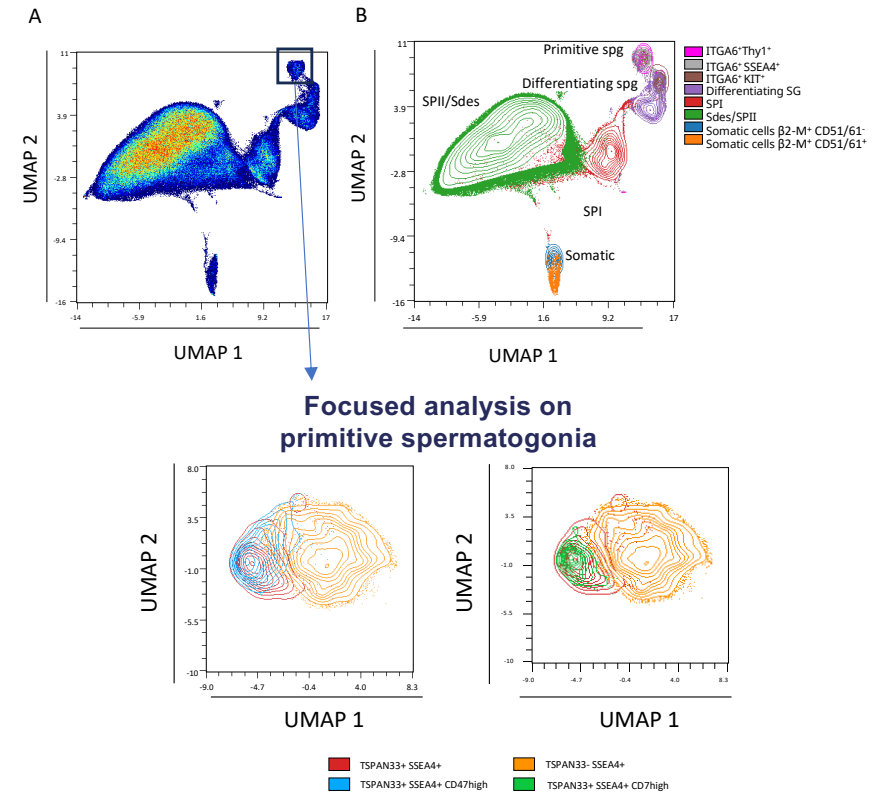
→ **culture et amplification *in vitro* des SSCs ?**

# Spectral cytometry using a 16-colors panel: characterization of the human spermatogonial stem cell compartment



Representative flow cytometry plots of the 13 germinal markers gated on the  $\beta$ -2M<sup>+</sup>CD51/61<sup>-</sup> population (NXN plots)

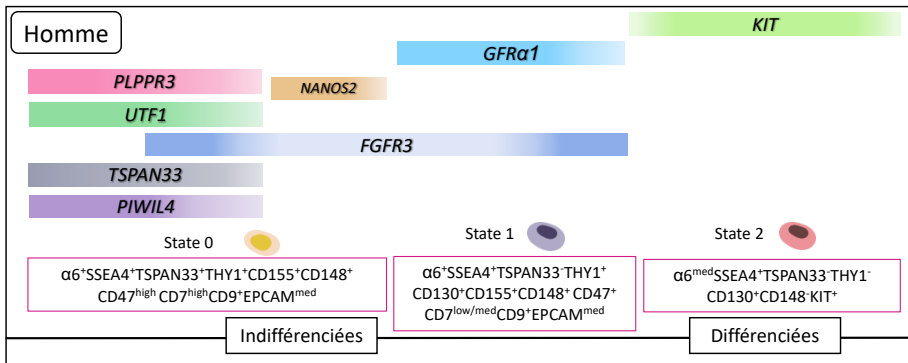
Reduction: UMAP analysis of 16C panel



Focused analysis on primitive spermatogonia

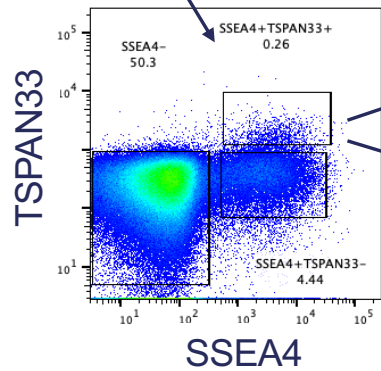
TSPAN33+ SSEA4+  
TSPAN33+ SSEA4+ CD7high

Lapoujade et al, 2024 (accepted)



**Identification d'une nouvelle population of spermatogonies primitives avec un phénotype proche du « state 0 »:**  
 $\beta\text{-2M}^+ \text{CD51/61}^- \text{ITGA6}^+ \text{SSEA4}^+ \text{TSPAN33}^+ \text{THY1}^+ \text{CD9}^+ \text{EPCAM}^{\text{med}} \text{CD155}^+ \text{CD148}^+ \text{CD47}^{\text{high}} \text{CD7}^{\text{high}}$ :

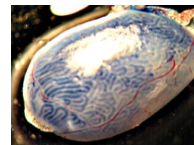
scRNAseq sur populations purifiées



Potentiel de régénération

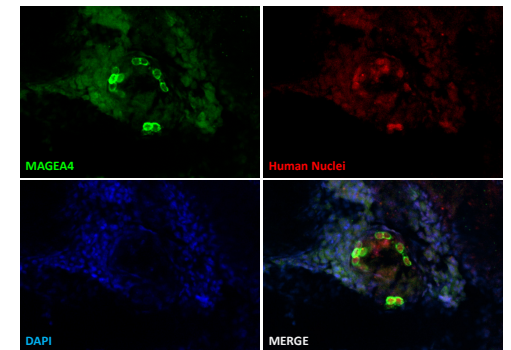
- disséquer cette population « SSCs » et le potentiel « souche »
- identifier de nouveaux marqueurs
- identifier les voies moléculaires: pistes pour l'amplification des SSCs *in vitro*

Souris Immunodeficiente NSG



Transplantation testiculaire

+ 2-3 mois  
 Cellules  $\alpha 6^+ \text{THY1}^+$





C. Lapoujade  
M. Blanco  
A.S. Gilles  
M. Givelet  
L. Riou  
I. Allemand

Laboratoire des cellules souches germinales



UMR SGCSR CEA/Université de Paris/Université Paris Saclay

V. Barraud-Lange, C. Chalas, C. Patrat  
Biology of Reproduction Department.  
CECOS/ Hôpital Cochin, APHP/Inserm  
U1016

S. Roux  
AP-HP. Center-University  
Paris Cité. Cochin Hospital.  
Paris,

