

Cours de cancéro du 03/10  
Pr Bonnet  
Ronéotypeuse : Aurore Chardon  
Ronéoelectrice : Cindy Joffroy

## **COURS N°7**

# **LES CELLULES SOUCHES CANCEREUSES**

## **SOMMAIRE**

## I/ Hématopoïese

## II/ La leucémie myéloïde aigue (LMA)

1. Les premières expériences mettant en évidence la LMA
2. Les modèles de prolifération des tumeurs : deux visions divergentes et concurrentes
3. La confirmation de l'existence de sous population de cellules d'origine cancéreuses
4. La notion de CSC (cellules souche cancéreuses)
5. Notion d'hétérogénéité
6. Origine et problème des CSL (cellules souches leucémiques)
7. Les CSL dans la leucémie myéloïde chronique (LMC)

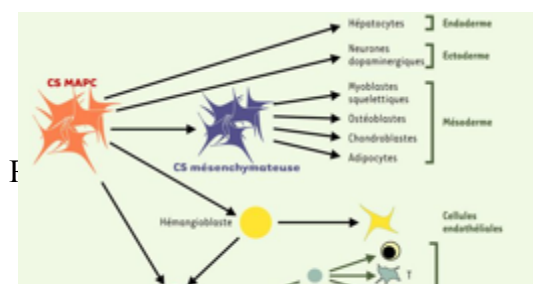
## III/ La niche, avec l'importance du microenvironnement dans une tumeur

1. Qu'est ce que la niche ?
2. Comment peut-on attaquer la niche environnementale ?
3. Mise en évidence des CSC dans les tumeurs solides
4. Technique de Side population
5. La formation de sphères
6. Le concept de métastases dans les tumeurs solides

*NB: Je vous conseille vivement d'étudier ce cours avec les diapos de la prof (dès qu'ils seront en ligne ..) qui vous aideront à comprendre les expériences . D'après les dires du Pr Bonnet, aux partiels il n'y aura pas sur son cours de question rédactionnelle, exclusivement des qcm (genre qu'est ce qu'une cellule souche, ces propriétés, la manière d'étudier ces cellules souches ...) Sur ce bon courage à tous, et à toutes !*

## I/ L'hématopoïese

Rappel :



L'hématopoïese se déroule dans la moelle osseuse. Une cellule souche hématopoïétique (CSH) peut par

différenciation donner naissance à des progéniteurs qui sont les CLP (=progéniteur de la lignée lymphoïde) donnant une différenciation lymphoïde et les CMP (=progéniteur de la lignée myéloïde) donnant une différenciation myéloïde.

Une cellule souche mésenchymateuse CSM est une cellule souche potente qui donne toutes les cellules stromales (pérycites, ostéoblastes, pré adipocytes..)

Concernant les acteurs de l'hématopoïèse : on trouve des marqueurs de surface des cellules tels que le CD34 et le CD38. Le CD38 n'est pas exprimé sur les cellules souches très immatures, en effet le CD38 s'exprime dès que les cellules commencent à se différencier, alors que le CD34 est exprimée par les cellules souches (CS) notamment les CSH. Il s'agit d'un point essentiel dans les traitements, en effet une transplantation de moelle avec CD34 permet un enrichissement en CSH humaines. En effet, les CS possèdent un marqueur spécifique qui est le CD34 permettant leur purification.

#### Les tests in vitro permettant de mettre en évidence des progéniteurs hématopoïétiques :

- Le CFC (colony forming cell) qui permet de voir des progéniteurs assez matures. Leur durée de vie et de prolifération est assez limitée.
- LTC-IC (long term culture initiating cell) : culture en milieu solide avec un support stromal . La culture in vitro des cellules hématopoïétiques se fait en phase liquide pendant 4 semaines . Et, on peut révéler par un test final les progéniteurs clonogéniques en milieu solide.
- ELTC-IC : Le principe est le même que le LTC-IC mais le temps de culture est augmenté de 8 à 10 semaines . Les cellules donnent naissance aux cellules lymphoïdes et myéloïdes (qui sont des cellules très immatures)

Les CSH ont une capacité de prolifération et d'auto renouvellement. Les tests in vitro ne permettent pas de voir toutes les propriétés des CSH .

## **II/ La leucémie myéloïde aigue (LMA)**

Ce modèle a permis l'identification des cellules souche myéloïde. Il est possible de trier les différentes populations de cellule dans une tumeur en fonction de l'expression des protéines à leur surface. De plus cette maladie est très hétérogène. Chaque LMA a des caractéristiques particulières qui vont influencer le pronostic, l'évolution et la rechute de la maladie. C'est pourquoi il est essentiel d'adapter les traitements (en développant de nouveaux traitements ciblés) et d'adapter l'intensité du traitement.

La LMA correspond à une production anormale et incontrôlée de GB immatures bloqués à un stade de maturation. Cette production de blaste avec prolifération limitée, se multiplie initialement dans la moelle osseuse et s'y accumulent étouffant la production des éléments sanguins normaux. Ensuite

ces cellules leucémiques (blastes) envahissent le sang périphérique et parfois les autres tissus. Ce qui explique que les patients présentent des signes de fatigue (par anémie), des saignements (manque de plaquettes) et des infections (par manque de GB). Les patients atteints de LMA ou LMC sont souvent anémiques et manque de plaquettes (présente une thrombocytopenie). Pour les mêmes apports extérieurs, il existe une compétition possible entre les CSL (ce sont des cellules quiescentes, résistances aux chimiothérapies, ayant la capacité de s'auto renouveler et qui interviennent dans les voies de signalisation régulant la prolifération, la survie et la croissance cellulaire.) et les cellules souches normales (CSN, cellules indifférenciées qui sont capables de se différencier en des cellules spécialisées et de se multiplier à l'identique). Les CSL ont une incapacité à proliférer plus importante que les CSN ce qui explique pourquoi ces patients ont moins de GR et de plaquettes.

## 1. Les premières expériences qui mettent en évidence la LMA

Le taux de renouvellement des cellules est très faible c'est pourquoi on pense qu'il existe une colonie plus immature capable de maintenir et d'initier la LMA. Les essais clonogéniques CFU-LAM permettent de mettre en évidence des sous populations de cellules blastiques .

Quelle est l'origine de la maladie ? Est une question majeure encore non élucidée, est-ce une cellule normale, ou une cellule engagée dans la lignée myeloïde ?

### Les tests fonctionnels de xéno-transplantation mettant en évidence la LMA :

La xéno transplantation désigne uniquement les transplantations de l'animal à l'homme.

On prend des souris totalement immunodéficientes (sans système immunitaire)

souris NOD : souris non obese

souris SCID : souris déficiente en cellules T et B matures, en cellules NK

Ces souris ont moins d'immunité innée et acquise, en effet elles n'ont pas d'activité cytotoxique et ne peuvent pas développer d'AC et donc pas possibilité de GVH (maladie du greffon contre l'hôte).

Lorsqu'on injecte des cellules souches normales dans une souris NOD/SCID alors hématopoïèse est normale avec 80 à 90% des cellules humaines

Lorsqu'on injecte des cellules de patients leucémiques dans des souris NOD/SCID alors on reproduit la LMA, ce qui va permettre d'identifier les cellules initiatrices qui maintiennent les CSL.

## 2. Les modèles de prolifération tumorale, deux visions divergentes et concurrentes :

Il existe 2 modèles, un modèle stochastique où on affirme que toutes les cellules leucémiques sont équivalentes. Donc chaque cellule présente dans la tumeur est capable de proliférer et de contribuer à la croissance tumorale. Et, un autre modèle où on affirme l'existence de sous population de cellules leucémiques ayant des propriétés d'auto renouvellement permettant ainsi de maintenir la leucémie. Donc une fraction de cellules serait capable de proliférer pour contribuer à la croissance tumorale.

Une idée intéressante pour les scientifiques en vue de développer des traitements et de mieux comprendre la biologie de la LMA serait de purifier ces sous populations et les injecter séparément à des modèles murins afin d'observer s'il y a maintien ou non de la leucémie. En effet les sous populations permettent le maintien de la leucémie.

## 3. Confirmation de l'existence de sous populations de cellules cancéreuses :

### Exemple d'un patient LMA-M4 :

Expérience : On a purifié des cellules CD34+ car c'est un marqueur de CSN. Ensuite on les injecte dans des souris NOD/SCID. On regarde si après greffe il y a ou non la présence de cellules leucémiques humaines.

Observation : Au southernblot on note la présence de cellules humaines dans les souris CD34+. En revanche il n'y a pas de cellules humaines dans les souris CD34-. Ce qui prouve l'existence d'une sous population de cellules capable de donner la leucémie. En effet CD34+ a la capacité de redonner la LMA.

Conclusion : Il existe des protéines à la surface de toutes les cellules cancéreuses. Les cellules dangereuses capables de reproduire la maladie présentent à leur surface des protéines caractéristiques. En effet les cellules souches de la leucémie expriment le marqueur CD34 (aussi présent au niveau des CSH). La protéine CD38- est systématiquement absentes des cellules souches leucémiques humaines .

#### 4. Les cellules souches cancéreuses :

Les cellules souches cancéreuses ont un rôle majeur dans la propagation et la résistance tumorale. C'est pourquoi la compréhension des phénomènes biologiques qui régulent ces CSC pourrait avoir un impact majeur dans le traitement des cancers en vue d'améliorer le pronostic des patients.

Les CSL ressemblent aux cellules souches normales d'un point de vue fonctionnel, en effet on note une différenciation blastique et la capacité d'auto renouvellement. Les CSL peuvent être à l'origine d'une CSN ou à l'origine de progéniteurs.

Le niveau d'initiation d'origine de la CSL n'a pas encore été identifié, ce qui reste un problème actuel majeur.

Une cellule souche cancéreuse répond donc à deux critères fondamentaux :

- la capacité d'auto renouvellement (c'est à dire reformer d'autres CSC lors du processus de division cellulaire)
- la multipotentialité (c'est à dire être capable de se différencier vers l'ensemble des composants cellulaires présents dans la tumeur)

Afin de mettre en évidence la présence de CSC dans une tumeur humaine, on utilise leur transplantation chez des souris immunodéprimées (comme vu plus haut dans le cas de le LMA)

Ceci a un impact majeur dans les traitements. La chimiothérapie permet d'éliminer la plupart des cellules différenciées (c'est à dire les cellules engagées) mais il reste une sous population de cellules indifférenciées qui sont hors du cycle en phase G0. Ces cellules ne peuvent pas être éliminées par les drogues actuelles qui affectent le cycle cellulaire.

De plus les CSL sont à l'origine de rechute après une période de rémission, en général après 5 ou 10 ans de traitement. En effet les CSC peuvent reformer la tumeur (propriété d'auto renouvellement) entraînant la rechute du patient .C'est pourquoi il faut comprendre la relation entre les CSN et CSL afin de pouvoir développer des traitements pour éliminer les CSC.

Une stratégie thérapeutique intéressante serait d'agir au niveau de la différenciation des CSC, en forçant les CSC à se différencier, elles deviendraient donc sensibles aux nouvelles thérapeutiques conventionnelles, qui rappelons le affectent le cycle cellulaire .

**Caractérisation des cellules souches** : in vitro, elles ont des capacités d'auto renouvellement. Les tests de mutipotentialité, de tumorigénicité et de maintien de la leucémie ne peut se faire qu'in vivo (en xénotransplantation) .

Etude de CSC sur des modèles transgéniques :

Le but est de prendre les cellules cancéreuses et de les injecter dans une souris transgénique afin de mettre en évidence la sous population de CSC. In vivo la première transplantation n'est pas très importante. Et, il faut retransplanter une 2ème fois afin de mettre en évidence la propriété d'auto renouvellement.

## 5. Notion d'hétérogénéité :

Un problème d'hétérogénéité en fonction des individus se pose, puisqu'il n'existe pas de marqueurs moléculaires pour la LMA, il est essentiel de regarder par des études fonctionnelles où se trouve la CSL pour chaque patient, et découvrir quels sont les sous populations de cellules maintenant la leucémie afin de développer un traitement thérapeutique ciblé.

Si on injecte des cellules CD34+ et CD38- on obtient des CSN résiduelles et il n'y a pas de développement de leucémie. La greffe est multifonctionnelle avec la présence de cellules T et B, sans anomalies moléculaires.

En injectant CD34+ et CD38+ on obtient des progéniteurs avec une activité de CSL. Les modèles murins transgéniques avec translocation MLL donnent aux cellules une activité leucéminogène.

Au moment du diagnostic, on a 2 populations phénotypiquement différentes, ce qui montre la coexistence de 2 clones leucémiques. In vivo on ne peut pas différencier l'activité fonctionnelle de ces 2 clones. Il est donc essentiel de comprendre la diversification clonale

## 6. Origine des CSL et problème des CSL

La purification des CSN (CD34+ CD38-), est elle suffisante pour affirmer l'origine de la leucémie ? Cette question est sujette à controverse car la nature de la cellule subissant les étapes précoces de l'ontogenèse reste inconnue .

Les CSL ont été définies au niveau diagnostique et utilisées dans les tests fonctionnels.

Après traitement et rechute, il y a des sous clones leucémiques qui apparaissent permettant la progression des CSL. Initialement, il y a des clones pré leucémiques, après traitement ces sous clones acquièrent des mutations et d'autres altérations afin de devenir des clones dominants de la leucémie. Afin d'arriver à une guérison complète, tous les clones leucémiques doivent-ils être éliminés ?

## 7. Les CSL dans la LMC :

La LMC est beaucoup plus lente que la LMA et présente un mécanisme différent . En effet la LMA correspond à une accumulation de myéloblastes du à un blocage de la maturation alors que la LMC correspond à une augmentation de la masse des progéniteurs myéloïdes.

La population d'origine est une CS immature CD34+ CD38-. Il y a la possibilité de la traiter avec de l'imatinib. S'il n'y a pas de traitement ou qu'on arrête le traitement les cellules CD34+/CD38- peuvent redonner des clones entraînant une résistance au traitement (acquisition de mutations qui empêchent de donner une réponse au traitement)

## III/ La niche

### 1. Qu'est ce que la niche ?

Le concept de niche a été développé en 1978, avec les premières preuves mises en évidence sur la drosophile dans le cas de cellules germinales testiculaires ou ovariennes. Au niveau humain et murin la connaissance de la niche cellulaire à débiter il y a 3 ou 4 ans.

La niche correspond à une localisation spatiale qui permet le contrôle du niveau et du nombre de CS. En effet, c'est un site où les CS se nichent et se renouvellent et qui ne permet en aucun cas aux CS de se différencier. S'il y a la présence de progéniteurs dans la niche alors la cellule est renvoyée en CS. Donc la régulation des CS se fait via des signaux extérieurs envoyés par la niche. La niche a un rôle majeur en raison de son microenvironnement, les traitements développés peuvent attaquer la niche (c'est à dire le microenvironnement) ou bien les CSL.

Il existe 2 niches à savoir la niche ostéoblastique (au contact de l'os) où les CSH sont plus quiescentes. La 2ème niche périvasculaire ou niche endothéliale où les CSH sont au contact des vaisseaux sanguins, les cellules souches se différencient en progéniteurs et vont directement dans le sang périphérique.

L'hypoxie maintient la quiescence de la CS au niveau de la niche ostéoblastique alors que du côté vaisseaux il y a une augmentation d'O<sub>2</sub> permettant l'acquisition de différenciation. Des études montrent que la présence de zones hypoxiques est corrélée positivement avec l'agressivité tumorale permettant donc la croissance tumorale. Ainsi, la tumeur peut se développer dans des conditions de faible disponibilité en oxygène avec un faible apport en nutriment en raison d'une mauvaise vascularisation et d'une prolifération cellulaire élevée.

Les cellules ostéoblastiques et vasculaires sont importantes dans le processus de régulation bien qu'on ne connaisse pas encore réellement leur rôle.

In vitro, il est impossible de cultiver les CSL ou progéniteurs leucémiques, cultivables qu'avec un apport stromal. On pense que le stroma apporte des facteurs permettant leur survie.

Les techniques les moins invasives en imagerie sont les techniques utilisant un microscope à photons qui permet de visualiser l'os plat de la tête. Ceci permet d'avoir accès à l'os sans incision contrairement aux autres techniques qui sont invasives.

Expérience : Les cellules de lignée sont marquées entièrement au GFP.

L'os est en turquoise, en rouge on observe les vaisseaux puis il y a la présence de cellules leucémiques. Ainsi, avec cette expérience on peut détecter l'évolution et la progression au cours du temps de la leucémie. On regarde où se placent les CSL injectées dans la moelle. On observe des cellules en grappe (cellules leucémiques) qui se collent aux vaisseaux. En 21 jours la calvaria est totalement infiltrée par des cellules leucémiques. La partie avec la présence de cellules leucémiques entraînent la destruction des vaisseaux. Contrairement à la partie sans cellules leucémiques : les vaisseaux sont bien actifs. Un traitement envisageable serait de modifier l'environnement pour y observer l'impact sur la niche. Ce qui montre l'importance du microenvironnement dans les maladies.

## 2. De quelle manière peut-on attaquer la niche environnementale ?

Le marqueur CD44 est un marqueur de surface essentiel pour l'ancrage des cellules dans leur microenvironnement. Si les souris sont traitées par AC anti CD44 alors la prise de greffe est faible alors que pour les souris non traitées par AC anti CD44, la prise de greffe est importante.

Si on utilise un AC anti CD44 alors il n'y a pas d'ancrage dans le microenvironnement des CSL et cela induit leur différenciation (via l'augmentation des CD14 et CD15). Il y a donc perte de l'auto renouvellement et diminution du maintien de la leucémie avec le blocage de prolifération des

blastest leucémiques.

NB : L'immunothérapie et les AC anti CD44 entraînent une diminution de la leucémie .

### 3. Mise en évidence de CSC dans diverses tumeurs solides, exemple du cancer du sein et du colon :

Premier point, on rappelle que les CSC ont les mêmes propriétés que les CSL, c'est à dire : autorenouveaulement, multipotentialité et tumorigénicité.

De plus des sous populations de cellules tumorales (des CSC) on été isolées dans un grand nombre de tumeurs solides comme dans le cancer du sein, du colon, du cerveau, du poumon ... la liste est non exhaustive.

Expérience : Le but est d'isoler une sous population, on prend donc une population, on va la dissocier et faire une analyse à la surface des cellules. Par exemple dans le cancer du colon on retrouve une sous population de cellules cancéreuses qui expriment le CD133.

Conclusion : La glycoprotéine CD133+ permet d'initier, de maintenir et de reprendre le cancer du colon.

Un traitement qui pourrait être bénéfique serait des AC anti CD133

Les marqueurs du cancer du sein sont le CD44+ et CD24- . Ces 2 marqueurs entraînent la formation d'une tumeur. Seule les cellules étant négatives pour le marqueur CD24 et exprimant le marqueur CD44 peuvent provoquer la formation d'adénocarcinome du sein lorsqu'elles sont injectés à des souris immunodéprimées. Il existe une sous populations de cellules cancéreuses du sein purifiées par l'isolement de cellules CD44+ et CD24- . Peu de cellules peuvent initier la tumeur. C'est pourquoi il est important de comprendre quelles sont les voies d'activation de la tumeur en vue de développer un traitement adapté.

### 4. Technique de side population :

De nombreux transporteurs de type ABC sont retrouvés à la surface des CS et disparaissent au cours de la différenciation. En effet la plupart des transporteurs sont retrouvés dans les cellules de phénotypes CD34+ CD38- et plus faiblement exprimé dans les cellules CD34+ CD38+. Les CS sont capables d'exclure les drogues, cette propriété a été mis en évidence par des molécules fluorescentes via des marqueurs fonctionnels tels que le marqueur SP (colorant injecté dans les cellules qui exclut les sous population cellulaires qui ont des ABC transporteurs donc il s'accumule dans les cellules ou il n'y a pas d'ABC transporteur ). Comme on a dit les CS sont une pompe de résistance aux drogues puisqu'elles peuvent exclure les drogues pour enrichir une sous population en CSC .Après expérience le fluorochrome s'est accumulé à l'intérieur des cellules matures contrairement aux cellules immatures, logique comme dit plus haut les cellules différenciées n'expriment plus à leur surface les ABC transporteur. Ce qui a permis de mettre en évidence le role des transporteurs ABC dans l'exclusion de molécules par les CS (cellules immatures). Le but est d'identifier par cytométrie en flux une population de cellules avec des CSC. Les cellules SP peuvent donc exclure les drogues et les colorants. Les CSC qui expriment préférentiellement à leur surface cellulaire des transporteurs du type ABC confèrent une imperméabilité face aux médicaments en les expulsant continuellement dans le milieu extracellulaire. Il existe une sous population qui exclut le colorant, on peut donc comparer la présence ou l'absence de SP.



Conclusion : Après tri des cellules en cytométrie en flux on obtient des tumeurs en injectant les cellules SP dans la souris alors que les souris non SP ne forment pas de tumeurs mais il y a un enrichissement en cellules cancéreuses. C'est bien dans cette population SP qu'on retrouve les CSC.

## 5 . La formation de sphères

On part de la suspension liquide de la tumeur du malade et on la met en culture avec un certain nombre d'ingrédients (facteurs de croissance) ensuite on met un certain nombre de ces cellules en culture. On voit au microscope qu'au bout d'un certain temps, après que la boîte ait été mise au chaud, la grande majorité des cellules se sont étalées et ont adhéré au plastique mais n'ont pas proliféré. Il y a une formation de 2 sphères, condensées de cellules. Ces cellules viennent d'une seule cellule. On a une chance que dans ce magma il y ait au moins une cellule progénitrice de cancer, et peut être une cellule souche.

On peut mélanger un marqueur ayant la capacité de faire des sphères.

La formation de sphères est une propriété distinctive des cellules souches cancéreuses. La formation de sphéroïdes enrichie en cellules souches cancéreuses est observable. Il est possible de dissocier les sphères, les marqueurs. Le marquage au CD133+ est enrichi en cellules cancéreuses car quand on les met en culture, sont plus à même de former des sphères que les cellules au marquage CD133-

Pour démontrer la propriété d'autorenouvellement, il faut faire des sphères secondaires après dissociation.

On suspecte que dans ces sphères on ait au moins la cellule progénitrice. On ne sait pas si on a la cellule souche capable d'auto renouvellement .C'est ce qu'on cherche à démontrer. il faut par conséquent voir si dans ces cellules, la cellule de départ s'est elle aussi auto renouvelée: si elle s'est auto renouvelée cela veut dire que dans ces cellules là il y a encore une CS.

On reprend la sphère, on la redécoupe, on remet ces cellules en culture. Si à chaque fois on obtient encore des sphères, cela veut dire qu'à chaque fois la cellule qui a donné naissance aux sphères s'est aussi auto renouvelée. L'échantillon contient donc des CS.

Ces sphères permettraient de ne pas passer par un modèle animal. Cependant il n'est pas toujours facile d'avoir des sphères : ce n'est actuellement pas possible d'obtenir des sphères pour la leucémie par exemple d'où le fait qu'on soit obligé d'utiliser des modèles animaux.

C'est aussi un test pronostic. En effet, plus un échantillon d'un malade est capable de donner des sphères, plus il est riche en cellules souches cancéreuses, plus la tumeur est agressive.

### Test in vivo :

A partir d'un animal immunodéficient, il faut y injecter une sous population de cellules, en général dans l'organe qui correspond à la tumeur, le but est de démontrer qu'on obtient chez la souris, une tumorigenicité, un auto renouvellement et une multipotentialité.

Il y a différentes voies d'injection :

La voie sous cutanée

La voie orthoptique est favorisée en vue de l'analyse d'une tumeur solide, en effet grâce à cette voie la tumeur a son propre environnement. Il faut privilégier la voie orthoptique en vue de l'analyse de tumeur solide.

## 6. Le concept de métastases dans les tumeurs solides :

Les CSC sont liées au développement tumoral et aux métastases. Il existe une sous population de cellules cancéreuses qui entraînent des métastases. Le but est de trouver les voies de signalisation à cibler afin d'éliminer les rechutes et de permettre le développement de nouvelles drogues. Au niveau moléculaire, une dissociation est nécessaire pour identifier des sous populations enrichies en cellules cancéreuses au niveau des marqueurs de surface ou de l'ADN . Quelle voie de signalisation peut- être ciblée pour diminuer les rechutes et améliorer les traitements ? Cela reste une question majeure des scientifiques actuellement.

Exemple : on part d'un cancer du sein. Dans cette masse tumorale on des cellules souches cancéreuses CD44+, CD24-. On traite par radiothérapies et chimiothérapies. On a éliminé le cancer mais il reste toujours les cellules souches cancéreuses responsables de la rechute. Les cellules souches cancéreuses peuvent disséminer ailleurs que dans le sein et se nicher dans d'autres organes puis se multiplier et être à l'origine des métastases .C'est important de cibler le CD44. On a travaillé avec un modèle de xénogreffe. On prend les cellules d'un cancer du sein d'une patiente pour lequel on sait déjà qu'elle a rechuté. On l'injecte chez la souris. Au cours des semaines la tumeur apparaît puis elle grossit. On traite la tumeur par chimiothérapie. Il y a d'abord rémission complète puis la souris rechute. Pour comprendre pourquoi il y a rechute, on prélève les cellules et on observe la présence de cellules où il y avait du CD44 exprimé au niveau des cellules souches cancéreuses. On a refait la même chose (cellules injectées dans souris puis chimio) puis au moment de la rémission on traite par l'Anticorps anti CD44 et il n'y a pas de rechute. Il y avait donc des cellules souches restantes dans la tumeur, et grâce à l'anticorps anti CD44 elles ont été détruites.