

AOR "Recherche et Greffe"

Résumés et résultats

2006 - 2023

Cliquer sur les titres pour accéder au détail des projets

Nom et institution	Titre	Année AOR
AMEDEE Joelle - INSERM U577 Bordeaux	Ingénierie du tissu osseux: utilisation de progéniteurs endothéliaux et ostéogéniques d'origine mésenchymateuse pour la reconstruction d'un os vascularisé	2007
MEDDAHI-PELLE Anne - INSERM U698 - Bichat - APHP	Dispositif pour le transport et la conservation de vaisseaux	2007
VINCENTELLI André - EA2693 - Université de Lille	Création d'une prothèse valvulaire cardiaque autologue par ingénierie tissulaire	2007
GUICHEUX Jérôme - INSERM ADR Grand Ouest	Transplantation de cellules autologues par des biomatériaux pour l'ingénierie tissulaire du disque intervertébral	2009
DELEPINE Pascal - EFS Bretagne	Développement d'un substitut méniscal cellularisé à partir d'une matrice inerte et de cellules souches mésenchymateuses	2010
MALARD Olivier - ORL et CHU de Nantes	Association cellules médullaires/souches-biomatériaux phosphocalciques pour la réparation osseuse à trophicité diminuée	2010
GAIN Philippe - Université de Saint-Etienne	Nouvelle technologie de conservation cornéenne en Bioréacteur	2011
HANNOUCHE Didier - Université Paris 7 Diderot	Développement et validation d'un modèle animal pour l'étude de l'intégration et de la ligamentisation d'une greffe de ligament croisé antérieur	2011
NOEL Danièle - INSERM	Microsphères de collagène pour la vectorisation et la différenciation de cellules souches mésenchymateuses : Alternative à la greffe de cartilage	2012
GILLET Pierre - Université de Lorraine	Cellules souches mésenchymateuses et ingénierie du cartilage : analyse protéomique du sécrétome comme index de chondrogenèse	2013
LAYROLLE Pierre - INSERM Nantes	Ingénierie cellulaire osseuse : impact des cellules souches mésenchymateuses et monocytes d'origine synégique ou allogénique	2013
THURET Gilles - Université de Saint-Etienne	Bioingénierie de greffons cornéens endothéliaux à partir de cellules souches pluripotentes induites (hIPS human induced pluripotent stem cells)	2013

Nom et institution	Titre	Année AOR
GEORGET Gilles - CHOPT - CHU de Toulouse	Lever les freins professionnels au prélèvement de cornées par la communication engageante	2015
DANI Christian - iBV - Nice	Les précurseurs adipeux dérivés des cellules iPS humaines comme alternative à la greffe de tissu adipeux brun	2016
THURET Gilles - BiiGC, EA 2521 - Saint-Etienne	Culture en masse de cellules endothéliales cornéennes de grade clinique pour la bioingénierie comme alternative à la greffe	2016
GAIN Philippe - BiiGC, EA 2521 - Saint-Etienne	Optimisation du Bioréacteur cornéen destiné à augmenter le nombre et la longévité des greffons cornéens	2017
GEORGES Gaëlle - Institut Fresnel	Evaluation de la qualité des greffons cornéens : mesure de la diffusion lumineuse	2018
GUICHEUX Jérôme - INSERM UMR1229	Amélioration de l'effet thérapeutique des CSM dans l'arthrose: Rôle de PPAR b/d	2018
MARTINOD Emmanuel - EA2363 - Bobigny	Optimisation de la chondrogénèse sur matrice d'allogreffe aortique cryopréservée pour le remplacement trachéal	2018
THURET Gilles - BiiGC - Saint-Etienne	Recyclage des cornées non conformes pour le bioengineering cornéen	2018
AUXENFANS Céline - Banque de tissus, HCL - Lyon	Injecteur prêt à l'emploi, préchargé avec un endothélium coloré et orienté pour Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty	2019
DELBOSC Bernard - Ophtalmologie - UMR1098- EFS- CHU de Besançon	Evaluation à long terme de la vision des patients greffés de cornée et de la survie du greffon à partir des données internes du CHU de Besançon (EnVision)	2020
THURET Gilles - BiiGC - Saint-Etienne	Don de cristallins pour la médecine régénérative en ophtalmologie	2022
GINDRAUX Florelle - EA 4662, Besançon	Etude de la réponse immunologique humorale de patients greffés avec une membrane amniotique humaine cryoconservée sur la surface oculaire	2023
MASCARELLI Frédéric - EA 2521, Faculté de Médecine de Saint-Etienne	PhotoCOR : Photobiomodulation du greffon cornéen	2023

Année: 2007

Ingénierie du tissu osseux: utilisation de progéniteurs endothéliaux et ostéogéniques d'origine mésenchymateuse pour la reconstruction d'un os vascularisé

AMEDEE Joelle - INSERM U577 ADR Bordeaux "Biomatériaux et réparation tissulaire" Université Bordeaux2

[Retour tableau](#)

Résumé

L'objectif de ce projet est de mettre en place une méthode de reconstruction osseuse en privilégiant à la fois la formation osseuse et la revascularisation du tissu néoformé. Les acteurs cellulaires de cette reconstruction seront des cellules mésenchymateuses d'origine humaine, orientées vers le lignage endothélial et ostéoblastique et qui seront co-cultivées dans des microsphères d'alginate élaborées par extrusion ou par laser.

Le pouvoir ostéoinducteur de ces unités hybrides sera évalué chez la souris nude en site non osseux et leur capacité de reconstruction osseuse sera mesurée après implantation en site osseux dans un modèle de microlésions réalisées au niveau de l'épiphyse fémorale. Les techniques d'investigations de la néoformation osseuse seront d'une part des techniques invasives par histologie standard (histomorphométrie) et des techniques non invasives (tomographie aux rayons X à haute résolution, imagerie par résonance magnétique). La vascularisation sera évaluée par des techniques d'immunomarquage spécifique du lignage endothélial et par tomographie aux rayons X après injection d'un agent de contraste.

Ce programme de recherche permettra de valider une nouvelle technique d'encapsulation cellulaire par traitement laser et de proposer une nouvelle stratégie de thérapie cellulaire associée à la science des biomatériaux pour améliorer leur biointégration et leur vascularisation.

Résultats

Grellier, Maritie, Pedro L. Granja, Jean-Christophe Fricain, Silvia J. Bidarra, Martine Renard, Reine Bareille, Chantal Bourget, Joelle Amédée, et Mário A. Barbosa. 2009. « The Effect of the Co-Immobilization of Human Osteoprogenitors and Endothelial Cells within Alginate Microspheres on Mineralization in a Bone Defect ». *Biomaterials* 30 (19): 3271-78.

[Retour tableau](#)

Année: 2007

Dispositif pour le transport et la conservation de vaisseaux

MEDDAHI-PELLE Anne - INSERM U 698

CHU Bichat

PARIS

[Retour tableau](#)

Résumé

En chirurgie vasculaire, les meilleurs résultats de remplacement artériel sont obtenus avec du matériel autologue. En l'absence de greffon autologue disponible l'une des alternatives est l'allogreffe vasculaire provenant d'une banque de tissu. Bien que les techniques de conservation des greffons, en particulier de cryo-conservation, se soient améliorées, des modifications de la structure vasculaires peuvent être observées pouvant conduire à la rupture ou au rejet de la greffe après implantation. Nous avons récemment mis au point et breveté, un dispositif permettant la conservation et le transport à température ambiante de cellules se présentant sous forme d'un kit contenant un hydrogel biocompatible et les plaques de culture prête à l'emploi etensemencées avec la lignée cellulaire choisie. L'adjonction au milieu de culture d'une poudre ou d'une pastille d'hydrogel provoque le gonflement et la prise du gel, formant un bouchon semi-solide. Un excès de liquide ou une digestion enzymatique permet de dissocier ces gels, laissant un tapis cellulaire viable et fonctionnel.

Du fait de ces propriétés, il a semblé intéressant d'utiliser ces hydrogels dans les procédures de conservation de tissu. Les travaux et résultats préliminaires ont permis de mettre au point les procédures d'enrobage de divers tissus à conserver. La présence d'hydrogel au moment de la procédure de cryo-conservation pourrait contribuer à la préservation du tissu en abaissant le point critique et limiter la formation des cristaux de glace matriciel et cellulaire limitant ainsi les lésions et améliorant la survie du greffon à long terme. Ces résultats sont donc à confirmer et à développer pour cette application. Trois parties sont prévues: 1- synthèse et caractérisation d'hydrogels et détermination des caractéristiques physico-chimiques des hydrogels à basses températures. 2- l'évaluation anatomo-physiologique de segments aortiques enrobés dans l'hydrogel et cryocongelés 3- le greffon cryo-conservé en présence d'hydrogel sera implanté in vivo dans un modèle animal (rats) et le greffon sera évaluée à court et à moyen terme.

Résultats

Brevet: PELLE, MEDDAHI Anne, Aïcha ABED, Didier Letourneur, et Anne BAUDOT. 2013. Cryoconservation de cellules, tissus et organes. WO2013107797 A1, filed 17 janvier 2013, et issued 25 juillet 2013. <http://www.google.fr/patents/WO2013107797A1>.

Pereira, Jessica, Xavier Ferraretto, Catherine Patrat, et Anne Meddahi-Pellé. 2018. « Dextran-Based Hydrogel as a New Tool for BALB/c 3T3 Cell Cryopreservation Without Dimethyl Sulfoxide ». Biopreservation and Biobanking 17 (1): 2-10.

[Retour tableau](#)

Année: 2007

Création d'une prothèse valvulaire cardiaque autologue par ingénierie tissulaire

VINCENTELLI André - Equipe de recherche Inserm ERI-9

Equipe d'Accueil 2693

Université de Lille2

[Retour tableau](#)

Résumé

La prise en charge chirurgicale des valvulopathies cardiaques consiste essentiellement à remplacer la valve malade par un substitut prothétique avec chaque année, plus de 300 000 implantations dans le monde. Malgré des améliorations importantes depuis 20 ans, le substitut valvulaire cardiaque « idéal » n'existe pas encore. L'ingénierie tissulaire offre de nouvelles perspectives pour la création d'un substitut biologique doté de performances hémodynamiques optimales, ainsi que des capacités de remodelage et de croissance. Plusieurs équipes ont montré qu'une matrice valvulaire décellularisée pouvait être recolonisée in vitro par des cellules d'origine variée. Nous avons émis en 2004 l'hypothèse originale qu'une matrice xénogénique (porcine), décellularisée pourrait servir de support à une recolonisation in vivo par les cellules du receveur, après implantation chirurgicale en position de fonction chez l'agneau. Nous avons montré qu'après décellularisation non enzymatique, les propriétés mécaniques de la matrice étaient satisfaisantes, et qu'une recolonisation spontanée par les cellules de l'hôte était effective. Nous avons ensuite démontré qu'une injection in situ de cellules autologues médullaires mésenchymateuses améliorait la recolonisation et l'hémodynamique de la valve. Cependant, des microcalcifications apparaissent après 4 mois, accompagnées de petits foyers inflammatoires, ce qui laisse supposer que la matrice reste immunogène et devait être améliorée. Notre projet est donc d'améliorer les conditions de préparation de la matrice (modification du procédé de décellularisation, essai de solutions immunofacilitantes à base de polyéthylène glycol) avec évaluation physicochimique et biologique (thrombogénicité, adhésion, prolifération et différenciation cellulaire). La matrice extracellulaire améliorée sera ensuite testée in vivo, avec ou sans injection de cellules mésenchymateuses, chez l'agneau, en position de fonction, avec des reculs variés allant jusqu'à 1 an. Notre objectif est l'obtention d'un substitut valvulaire utilisable chez l'homme par des techniques combinées de préparation de matrices extracellulaires et d'incorporation de cellules autologues.

[Retour tableau](#)

Année: 2009

Transplantation de cellules autologues par des biomatériaux pour l'ingénierie tissulaire du disque intervertébral

GUICHEUX Jérôme - INSERM ADR Grand Ouest

[Retour tableau](#)

Résumé

Le disque intervertébral (DIV) est un tissu fibro-cartilagineux constitué d'un réseau périphérique de fibres de collagène (Annulus fibrosus : AF) qui englobe une structure centrale gélatineuse hautement hydratée (Nucleus pulposus : NP). Au cours du vieillissement, le DIV est le siège d'une dégénérescence qui s'initie au sein du NP et s'accompagne d'une perte progressive de son rôle dans la cinématique rachidienne. Cette atteinte est à l'origine de la lombalgie qui affecte aujourd'hui une part importante de la population. Dans ce contexte, la réparation du DIV par thérapie cellulaire est aujourd'hui considérée comme une approche cliniquement prometteuse. Ce concept a pour principe le transfert de cellules autologues à l'aide de biomatériaux. Notre laboratoire a ainsi développé un hydrogel auto-réticulant d'hydroxypropylmethyl cellulose silanisée (Si-HPMC). Nous avons démontré que cet hydrogel permettait la culture tridimensionnelle de chondrocytes, la formation de tissu cartilagineux en site sous-cutané chez la souris nude et la réparation de défauts cartilagineux articulaires chez le lapin. Aujourd'hui, nous proposons d'étendre ce concept de réparation du cartilage articulaire assistée par des biomatériaux à l'ingénierie tissulaire du DIV. Le phénotype « chondrocyte-like » des cellules du DIV demeurant encore à ce jour mal compris, nous souhaitons comparer par PCR en temps réel l'expression des principaux marqueurs chondrocytaires dans les cellules du NP, de l'AF et du cartilage articulaire isolées de lapin. Par ailleurs, afin de mieux comprendre les processus moléculaires du vieillissement et de la dégénérescence discale nous analyserons les variations d'expression de ces mêmes marqueurs lors du vieillissement des DIV chez des lapins d'âges croissants (4 semaines à trois ans). Parallèlement, le vieillissement discal sera objectivé à l'aide d'études histomorphométriques (score histologique) et par imagerie de résonance magnétique (IRM). Compte tenu de l'intérêt potentiel des cellules souches mésenchymateuses dérivées du tissu adipeux en ingénierie des tissus ostéoarticulaires, le comportement (viabilité, phénotype) de ces cellules et de celles isolées du DIV sera également analysé après culture au sein de notre hydrogel. Le développement d'un modèle de vieillissement et de dégénérescence discale permettra finalement de tester dans un modèle animal pertinent (lapin) notre concept de transplantation de cellules souches mésenchymateuses autologues par un biomatériau injectable pour le traitement des lésions discales. En cas de succès, l'ensemble de ces données nous permettra d'envisager les premiers essais cliniques. L'ingénierie tissulaire par transplantation de cellules à l'aide de biomatériaux pourrait permettre d'ouvrir de nouvelles fenêtres thérapeutiques dans le traitement et la prévention de la lombalgie d'origine discale.

Résultats

Clouet, Johann, Marion Fusellier, Anne Camus, Catherine Le Visage, et Jérôme Guicheux. 2019. « Intervertebral disc regeneration: From cell therapy to the development of novel bioinspired endogenous

repair strategies ». *Advanced Drug Delivery Reviews*, Wound healing and fibrosis – State of play, 146 (juin): 306-24.

Clouet, Johann, Marianne Pot-Vaucel, Gaël Grimandi, Martial Masson, Julie Lesoeur, Borhane H. Fella, Olivier Gauthier, et al. 2011. « Characterization of the age-dependent intervertebral disc changes in rabbit by correlation between MRI, histology and gene expression ». *BMC musculoskeletal disorders* 12 (1): 147.

Lucas, Olivier, Olivier Hamel, Anne Blanchais, Julie Lesoeur, Jérôme Abadie, Borhane Hakim Fella, Marion Fusellier, et al. 2012. « Laser-Treated Nucleus Pulposus as an Innovative Model of Intervertebral Disc Degeneration ». *Experimental Biology and Medicine* (Maywood, N.J.) 237 (11): 1359-67.



(jerome.gulcheux@inserm.fr)



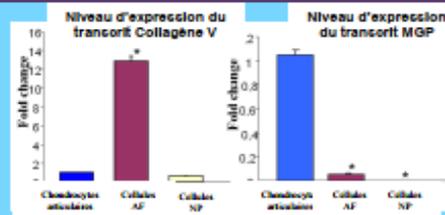
INTRODUCTION

Le laboratoire INSERM U791-LIOAD propose de développer un concept d'ingénierie tissulaire du Nucleus pulposus (NP) basé sur la transplantation de cellules souches mésenchymateuses (CSM) véhiculées au sein d'un polymère injectable auto-durcissant *in situ* (Clouet et al. DDT, 2009). Ce nouveau concept pourrait présenter plusieurs avantages : l'emploi de techniques chirurgicales mini-invasives, le maintien des cellules sur le site d'implantation par l'auto-réticulation du polymère, la création d'un réseau tridimensionnel nécessaire à la croissance des cellules, l'obtention d'un couple matrice-cellules aux caractéristiques rhéologiques proches de la matrice extra-cellulaire (MEC) native du NP (Clouet et al. Joint Bone Spine, 2008). Trois étapes principales ont été suivies (l'analyse rhéologique du DIV, la définition du potentiel souche des cellules du DIV et le comportement des cellules au sein de l'hydrogel ne seront pas traités dans un souci de compréhension générale).

ETAPE 1 : CARACTERISATION CELLULAIRE ET TISSULAIRE DU DISQUE INTERVERTEBRAL DE LAPIN

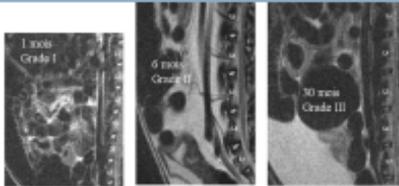
AF ext.

AF int.



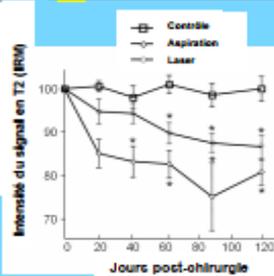
ETAPE 2 : MODELE ANIMAL DE DEGENERESCENCE DISCALE

MODELE SPONTANE DE VIEILLISSEMENT DU DIV



L'analyse histologique, phénotypique et par IRM démontre l'existence d'un processus de vieillissement spontané du DIV chez le lapin en de nombreux points similaires à l'homme (Clouet et al. BMC Musculoskeletal Disorders, 2011).

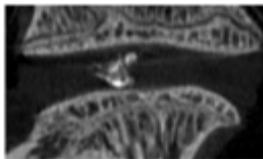
MODELE INDUIT DE DEGENERESCENCE DU DIV (LASER)



Une méthode innovante d'induction de la dégénérescence discale a été évaluée. Celle-ci, basée sur l'utilisation d'une source laser, montre un processus d'installation progressive de dégénérescence du DIV par IRM, radiographie et histologie. Ce processus apparaît superposable aux observations faites chez l'homme (Lucas et al. Tissue Eng Part C, Soumis).

ETAPE 3 : EVALUATION DE LA FAISABILITE DE L'INJECTION DU SUBSTITUT HYDROGEL-CELLULES

Coupe frontale



La faisabilité de l'injection de notre polymère associé à du sulfate de baryum a été démontrée par analyse tomodensitométrique. En parallèle, notre capacité de suivi de l'injection de cellules bio-luminescentes a été validée.

La preuve de faisabilité du concept est donc faite. Une étude pilote d'injection du substitut hydrogel-cellules est envisagée dans les prochains mois.

DISCUSSION-CONCLUSION

L'amélioration de nos connaissances autour de la physiopathologie discale permet d'envisager de futures investigations relatives à la différenciation nucléopulpogénique des CSM. Le développement de deux modèles animaux de dégénérescence discale (spontané et induit) a constitué un pré-requis indispensable avant la mise en oeuvre d'essais pré-cliniques. L'étude pilote menée dans ce travail a montré des résultats encourageants. D'ores et déjà le développement d'outils d'imagerie qui permettront de démontrer l'efficacité d'une telle approche est en cours. Tous ces résultats s'inscrivent dans un projet global de médecine régénératrice appliquée au DIV auquel l'Agence de Biomédecine a contribué depuis deux ans.

Année: 2010

Développement d'un substitut méniscal cellularisé à partir d'une matrice inerte et de cellules souches mésenchymateuses

DELEPINE Pascal - EFS Bretagne

[Retour tableau](#)

Résumé

Contexte : Les ménisques sont des fibrocartilages retrouvés dans plusieurs articulations du corps humain. Au niveau de l'articulation du genou ils présentent une structure semi-lunaire interposée entre condyles fémoraux et plateaux tibiaux. Ils améliorent ainsi la congruence articulaire.

Une étude scandinave fixe l'incidence des lésions méniscales à 9/10 000 habitants chez les hommes. En France plus de 200 000 gestes méniscaux sont réalisés chaque année en chirurgie (le plus souvent au cours d'une arthroscopie pour syndrome méniscal (environ 175000), sinon au décours de plasties ligamentaires).

Toute méniscectomie, même partielle, est à même de perturber le fonctionnement biomécanique du genou et donc de générer de l'usure d'autant plus s'il existe une laxité ligamentaire associée.

L'évolution des moyens thérapeutiques a tenu compte de ces notions biomécaniques et les méniscectomies systématiques ont fait place aux méniscectomies partielles ; les réparations méniscales doivent être réalisées chaque fois que possible mais sont plutôt réservées aux lésions traumatiques. Le remplacement ou greffe méniscale reste rare. Ses indications sont limitées, à l'heure actuelle, aux genoux douloureux après méniscectomie avec capital cartilagineux préservé et sans instabilité ligamentaire.

La préservation méniscale est une priorité mais elle n'est pas toujours possible. Dès lors le remplacement reste la seule solution. Les difficultés techniques sont nombreuses, et les allogreffes posent des problèmes difficilement solvables. Le recours à l'ingénierie tissulaire permet d'envisager des perspectives favorables mais nécessitent non seulement d'approcher les propriétés mécaniques mais également histologiques du tissu méniscal.

Objectif : Ce projet a pour objectif de réaliser une matrice cellularisée qui reproduise au mieux les caractéristiques et propriétés d'un ménisque sains afin de supporter au mieux les contraintes subies normalement par le ménisque.

Méthodologie : Le programme présenté comprend l'évaluation de deux types de supports, le premier inerte et d'origine artificiel, le second correspond à un ménisque décellularisé et sécurisé du point de vue biologique. Nous pensons pouvoir coloniser ces supports au moyen d'un ou deux types cellulaires. Les cellules souches mésenchymateuses sont un candidat très pertinent au vue des potentialités dont elles font preuves et qui sont largement décrites dans la littérature. Cependant les cellules progénitrices CD34+ pourraient être à considérer notamment en association aux CSM, du fait de leur présence dans le ménisque sain. Le support colonisé sera soumis à différents types de contraintes de façon à conditionner au mieux l'ensemble.

Résultats attendus : En reproduisant ainsi l'architecture et la cellularité d'un ménisque, nous pensons pouvoir créer un substitut méniscal dont l'inexistence actuelle fait cruellement défaut et à des conséquences socio-économiques non négligeables.

[Retour tableau](#)

Année: 2010

Association cellules médullaires/souches-biomatériaux phosphocalciques pour la réparation osseuse à trophicité diminuée

MALARD Olivier - Service ORL et de chirurgie cervico-faciale du CHU de Nantes

UMR 791 Inserm/Université de Nantes

[Retour tableau](#)

Résumé

Le projet s'inscrit dans la continuité de travaux de recherche concernant l'ingénierie tissulaire osseuse menés depuis plusieurs années en collaboration entre l'Inserm U791 (LIOAD) et les services d'O.R.L. de chirurgie cervico et maxillo-faciale du CHU de Nantes. Contexte et objectifs. La thématique de la reconstruction osseuse en territoire hypotrophique a été développée sur le plan fondamental, préclinique et sous la forme d'études. Le bénéfice direct concerne des patients porteurs de préjudices esthétiques, morphologiques et fonctionnels liés à une perte de substance osseuse cervico-faciale. Les travaux de recherche fondamentale cherchent (visent) à préciser les interactions cellulaires et tissulaires au sein de l'os fragilisé (séquelles de radiothérapie, contexte déficitaire constitutionnel ou malformatif), et les associations cellules médullaires/mésenchymateuses - matériaux de reconstruction. Contrairement aux substitutions osseuses effectuées à l'aide de biomatériaux phosphocalciques en territoire sain, il a été établi au cours de travaux de recherche préalables que le caractère ostéoconducteur des céramiques phosphocalciques n'était pas suffisant pour garantir la cicatrisation de pertes de substance situées en territoire hypotrophique. Une association à des cellules capables de conférer un caractère ostéoinducteur a été démontré comme indispensable. L'objectif des travaux envisagés dans ce projet est :

- de préciser les conditions d'association des cellules au biomatériau, la part des cellules souches mésenchymateuses par rapport à la moelle osseuse totale, les conditions de culture cellulaire,
- de définir les interactions précoces conditionnant in vivo la néoformation osseuse. En particulier, le projet prévoit de caractériser la répartition cellulaire hôte au sein de la perte de substance osseuse substituée par l'association cellules / biomatériaux,
- d'isoler au sein des processus de réparation osseuse précoce après substitution, les mécanismes de néo angiogénèse, et la part prise par les cellules souches et/ou médullaires dans les événements précoces de colonisation vasculaire de la perte de substance.

Méthodologie. La méthodologie s'appuie sur les compétences et l'expérience acquise par le laboratoire en particulier :

- les modèles animaux de perte de substance survenant en territoire osseux à trophicité diminuée (modèle de séquelle d'irradiation thérapeutique chez le rat)
- les modèles d'allogreffes interindividuelles (modèle rat consanguin Lewis IA)
- la caractérisation qualitative et semi quantitative de la néoformation osseuse par analyse microscanner et l'utilisation d'allogreffes et de cellules médullaires GFP in vivo associées au biomatériau (modèle de rats immunodéprimés permettant la traçabilité des cellules allogreffées et leur implication dans la néoangiogénèse et néoostéogénèse).
- les matériaux de substitution osseuse, en particulier les céramiques phosphocalciques synthétiques, utilisées pour leur propriétés ostéoconductrices et biomimétiques osseuses. Les résultats serviront à optimiser les techniques d'ingénierie tissulaire pour l'expérimentation clinique, en alternative à la greffe osseuse, technique de référence source d'une lourde morbidité.

Résultats

1 à 2 publications possibles

Poster

Appel d'Offres « Recherche et greffe »

APPORT DE CELLULES SOUCHES MESENCHYMATEUSES (CSM) A L'ASSOCIATION PHOSPHATE DE CALCIUM BIPHASE-MOELLE OSSEUSE TOTALE (BCP-MOT) POUR LA NEOFORMATION OSSEUSE EN TERRITOIRE IRRADIE

P. Bléry^{1,4,5}, F. Espitalier^{1,2}, P. Corre^{1,3}, P. Weiss¹, J. Guicheux¹, B. Giumelli^{4,5}, Y. Amouriq^{1,4,5}, O. Malard^{1,2}

1. INSERM, UMRS 791, IQOAD, 1 Place Alexis Ricordeau, 44042 Nantes Cedex 1, France
2. Service d'ORL et de Chirurgie Cervico-faciale, 1 place Alexis Ricordeau, CHU Hôtel Dieu, 44042 Nantes Cedex 1, France
3. Service de Stomatologie et de Chirurgie Maxillo-faciale, 1 place Alexis Ricordeau, CHU Hôtel Dieu, 44042 Nantes Cedex 1, France
4. Faculté de Chirurgie Dentaire, Université de Nantes, 1 Place Alexis Ricordeau, 44042 Nantes Cedex 1, France
5. Service d'Odontologie Restauratrice et Chirurgicale, 1 place Alexis Ricordeau, CHU Hôtel Dieu, 44042 Nantes Cedex 1, France

- La réhabilitation prothétique des pertes de substance osseuse en territoire irradié : difficultés accrues**
- effets secondaires des thérapeutiques anti-cancéreuses des VADS préjudiciables
 - traitements de reconstruction limités (greffes osseuses, lambeaux, prothèses)

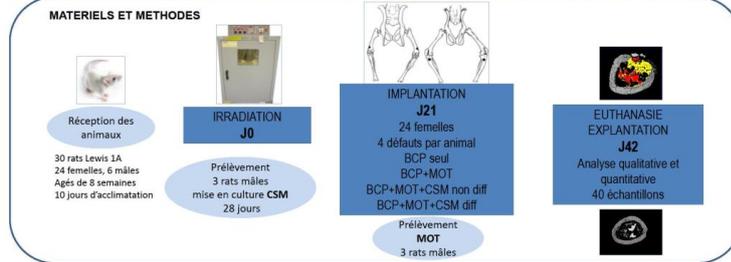
Les prothèses maxillo-faciales sont plus fonctionnelles avec un volume osseux plus important → développement de L'INGÉNIERIE TISSULAIRE :

Médecine régénérative : CSM → avenir?

Territoire irradié : BCP + MOT = meilleure réponse expérimentale actuelle pour la reconstruction osseuse [BCP = 60% HA - 40% βTCP]

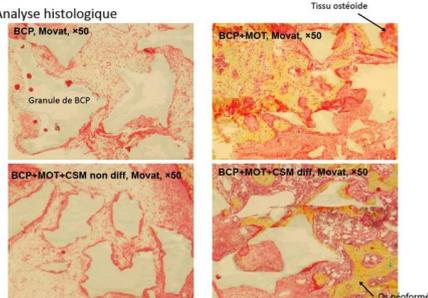


L'AJOUT DE CSM À L'ASSOCIATION BCP-MOT AMÉLIORE-T-IL LA NÉOFORMATION OSSEUSE EN TERRITOIRE IRRADIÉ?

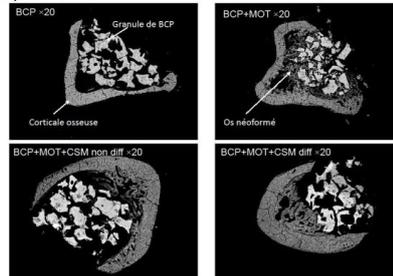


RESULTATS

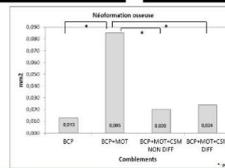
Analyse histologique



Analyse MEB



LA NÉOFORMATION OSSEUSE avec BCP-MOT est **QUALITATIVEMENT ET QUANTITATIVEMENT SUPÉRIEURE** par rapport au BCP SEUL ou aux associations BCP-MOT-CSM différenciées ou non différenciées.



DISCUSSION

L'addition de CSM à l'association BCP-MOT n'améliore pas la néoformation osseuse en territoire irradié :

- Compétition entre les cellules de la MOT et les CSM?
- Nombre de CSM trop important → dilution des cellules de la MOT?
- Rôle anti-inflammatoire des CSM supérieur au rôle ostéoprogéniteur?

Mise en évidence :

- pauvreté cellulaire du tissu osseux irradié
- rôle primordial de la vascularisation dans la néoformation osseuse

CONCLUSION

1ère étude à tester l'adjonction des CSM à l'association BCP-MOT : Ajout de CSM → pas d'amélioration de la néoformation osseuse → **BCP+MOT reste donc le MEILLEUR MATÉRIEL DE RECONSTITUTION OSSEUSE EN TERRITOIRE IRRADIÉ**

- ↳ apport d'éléments cellulaires et vasculaires pour la néoformation tissulaire et osseuse
- ↳ Mise en évidence de la **PAUVRETÉ CELLULAIRE ET DE L'INSUFFISANCE DE VASCULARISATION DU TISSU OSSEUX IRRADIÉ**
- ↳ perspectives : **DEVELOPPEMENT DE LA NÉO-VASCULARISATION AMÉLIORATION DES PROTHÈSES MAXILLO-FACIALES**

Malard O. et al. (2005) Bone; 36(2):323-330
Lerouel E. et al. (2006) Biomaterials; 27(26):4566-4572.
Espitalier F. et al. (2009) Biomaterials; 30(5):763-769 (1):37-42

Année: 2011

Nouvelle technologie de conservation cornéenne en Bioréacteur

GAIN Philippe - Université Jean Monnet, Saint Etienne

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectifs

Développer et valider un bioréacteur (BR) recréant la pression intra oculaire normale pour (1) améliorer la viabilité du greffon cornéen par rapport à la technique classique d'organoculture (OC) et (2) permettre des développements technologiques : contrôle qualité optique et cellulaire du greffon, découpes cornéennes spéciales.

Background

L'OC qui est la référence actuelle en Europe, a peu évolué depuis sa mise au point dans les années 70. Elle reste « rustique » et nécessite de nombreuses manipulations : la cornée est placée à +31°C dans un flacon clos de milieu nutritif renouvelé après 14J. En salle blanche et sous hotte (pour limiter les contaminations), la cornée est sortie du milieu pour être préparée au comptage des cellules endothéliales (CE), critère principal de validation du greffon. Les CE responsables du maintien de la transparence du greffon sont dépourvues de capacité de régénération : tout doit donc être mis en œuvre pour les préserver au mieux. Cependant, durant l'OC, la perte de CE est importante : 1% par jour vs 0,6% par an chez le sujet vivant et la conservation limitée à 5 semaines. De plus, le greffon non soumis à la pression intraoculaire normale, s'œdématie. L'œdème engendre des plis endothéliaux responsables d'une surmortalité des CE. Les altérations endothéliales entretiennent à leur tour l'œdème. La greffe en l'état est impossible et une étape supplémentaire de 48H de déturgescence en milieu hyperosmolaire (Dextran)

est indispensable avant greffe. Cette étape génère encore une surmortalité de CE. Enfin, à chaque déconditionnement, un contrôle microbiologique est nécessaire.

Retombées attendues

1/amélioration de la viabilité cellulaire de 15% (travaux préliminaires) : plus de greffons délivrés (réduction de l'attente des patients), greffons de meilleure qualité (survie de la greffe augmentée chez le patient), conservation prolongeable à très long terme (réserve de cornées toujours disponibles)

2/amélioration des contrôles qualité cellulaires et tissulaires (et introduction de nouveaux critères en adéquation avec les rôles futures des banques (pré-découpe cornéennes spéciales))

3/réalisation possible par les banques des pré-découps cornéennes (greffes endothéliales)

4/libération immédiate du greffon (pas de déturgescence)

5/simplification du process : moindre perte de qualité tissulaire et moindre risque de contamination, donc plus de greffons et meilleure efficacité médico-économique de la banque

6/ simplification de l'infrastructure : acceptation facilitée de la méthode par les banques.

Méthodologie

- Pré-projet débuté en 2010 avec preuve de concept obtenue au laboratoire « Biologie, imagerie et ingénierie de la Greffe de Cornée » : cahier des charges et premier prototype réalisé. Brevet en cours avec notre partenaire (Ecole Nationale d'Ingénieur de St Etienne(ENISE)).

- Projet 2011-2012 en 4 phases de 6 mois:

- tests « physiques » du BR : validation de la stabilité de la pression par microcapteurs (sur 20 cornées)

- tests comparatifs BR versus OC sur 3x10 paires de cornées après conservation 14, 21 (durée habituelle en Europe) et 35 jours. Analyses biologiques (viabilité)/optiques

(transparence/épaisseur)/microbiologiques

- tests comparatifs BR versus OC après conservation à très long terme : 3 mois (sur 30 paires)

- translation dans 2 banques EFS pilotes (St-Etienne et Besançon) : runs à blanc comparatifs avec conservation 21 jours : BR vs OC (sur 100 paires de cornées). + en parallèle : développement sur le BR des contrôles innovants (optique du stroma, comptage endothélial 3D) et des découpes cornéennes (microkératome et femtoseconde), - Essai clinique en 2013 (PHRC multicentrique) avec greffes et suivis de patients.

Résultats

Brevet: Medical device intended for the long-term storage of a cornea, or for ex vivo experimentation on a human or animal cornea. s. d. <http://www.google.com/patents/WO2014140434A1>.

[Retour tableau](#)

Année: 2011

Développement et validation d'un modèle animal pour l'étude de l'intégration et de la ligamentisation d'une greffe de ligament croisé antérieur

HANNOUCHE Didier - Université Paris 7 Diderot

[Retour tableau](#)

Résumé

Le ligament croisé antérieur est un élément stabilisateur essentiel de l'articulation du genou. En cas de rupture, le traitement repose sur la ligamentoplastie par une autogreffe tendineuse de voisinage, dont les résultats sont globalement satisfaisants mais qui comporte un certain nombre d'inconvénients et de limites liés au prélèvement de l'autogreffe et à l'absence d'ostéo-intégration du transplant malgré une technique chirurgicale réussie et dont les mécanismes sont encore mal compris à ce jour. L'objectif de ce travail est de développer et de valider un modèle animal de ligamentoplastie du LCA par greffe tendineuse dans le double intérêt : (1) à court terme, d'améliorer la compréhension de l'intégration des greffes tendineuses, et (2) à plus long terme, d'utiliser ce modèle pour étudier des techniques d'ingénierie tissulaire, qui permettraient à l'avenir de palier aux autogreffes. Le modèle original de ligamentoplastie du LCA par allogreffe tendineuse sur des lapins modifiés génétiquement à la Green Fluorescence Protein (GFP) permet, par immunohistochimie, de réaliser un suivi cellulaire et ainsi d'étudier la survie cellulaire et la recolonisation du greffon, question majeure dans le cadre des greffes.

Nous nous proposons d'étudier l'intégration et la ligamentisation d'une allogreffe fraîche dans ce modèle animal et de la comparer à une allogreffe décellularisée traitée par le CO₂ supercritique, une méthode de stérilisation et de conservation actuellement utilisée pour les greffons osseux. Après avoir mis au point et validé le modèle de ligamentoplastie du LCA chez le lapin, nous évaluerons les conditions optimales de traitement d'allogreffes ligamentaires par le CO₂ pour l'obtention d'une matrice collagénique ligamentaire aux propriétés mécaniques conservées (ALT) et utilisable en pratique clinique. Une fois la matrice optimisée, nous étudierons l'intégration et la ligamentisation de l'allogreffe fraîche et de l'ALT dans le modèle animal.

Plusieurs paramètres sont étudiés : (i) la technique chirurgicale : évaluée par imagerie en coupe avec une analyse de la position des tunnels osseux et de leur corticalisation ; (ii) l'intégration de la greffe : étudiée par une analyse histologique pour l'étude du remodelage du collagène et de l'interposition d'un fibrocartilage, et par une analyse immunohistochimique pour l'analyse de la nécrose cellulaire et de la recolonisation au sein de la greffe ; (iii) la fonctionnalité de la greffe : étudiée par la réalisation de tests mécaniques.

Au terme de ce travail, un modèle animal de ligamentoplastie du LCA par greffe tendineuse reproductible sur le plan chirurgical a été établi. La meilleure connaissance des phénomènes de ligamentisation et d'ostéo-intégration de la greffe, leurs conséquences sur les tests mécaniques, et l'analyse de l'intégration d'une matrice naturelle décellularisée donnent des renseignements précieux et nécessaires pour orienter l'ingénierie tissulaire, véritable traitement d'avenir.

[Retour tableau](#)

Année: 2012

Microsphères de collagène pour la vectorisation et la différenciation de cellules souches mésenchymateuses : Alternative à la greffe de cartilage

NOEL Danièle - Inserm Délégation Régionale Languedoc-Roussillon

[Retour tableau](#)

Résumé

En raison de ses faibles capacités d'auto-régénération, le cartilage articulaire subit une dégradation progressive au cours du vieillissement, lors de traumatismes ou dans les pathologies ostéo-articulaires, telles que l'arthrose ou la polyarthrite rhumatoïde. Ce processus peut causer des handicaps fonctionnels importants et, avec l'augmentation de l'espérance de vie, représente un problème majeur de santé public. Les traitements actuellement disponibles reposent essentiellement sur l'autogreffe ou l'allogreffe de cartilage et, la pose de prothèses en dernier recours. Une approche thérapeutique prometteuse est l'utilisation des cellules souches mésenchymateuses (CSM) car elles ont la capacité de se différencier en chondrocytes ; elles sont aisément isolées de la moelle osseuse ou de tissu adipeux et peuvent être amplifiées ex vivo en quantités compatibles à une utilisation clinique.

Dans une perspective d'ingénierie tissulaire du cartilage, il est important que les CSM soient associées à une matrice-support afin d'une part, d'apporter les cellules directement dans la lésion à réparer et d'autre part, d'éviter leur dispersion au moment de leur implantation. Outre la nécessité de les combiner avec un biomatériau, l'addition d'un facteur de croissance, tel que le TGF β 3, devrait permettre de favoriser, in situ, la différenciation des CSM en chondrocytes. En vue d'une application clinique, il n'est pas envisageable, ni souhaitable, d'injecter du TGF β 3 à intervalles réguliers dans les articulations de patients. Notre projet vise donc à faire libérer du TGF β 3 par des microsphères de collagène de type I qui serviront de support à l'adhésion et la différenciation des CSM ; l'ensemble CSM+microsphères sera immobilisé dans un gel peu dense de collagène de type I qui pourra être injecté localement, limitant ainsi une intervention chirurgicale invasive.

Les étapes principales de ce projet sont les suivantes :

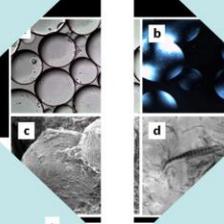
- 1- Optimisation de la fonctionnalisation des microsphères et évaluation de la cinétique de libération du TGF β 3,
- 2- Evaluation de la différenciation des CSM en chondrocytes après adhésion sur les microsphères et inclusion dans un gel peu dense de collagène,
- 3- Evaluation in vivo de la capacité des CSM+microsphères+gel à former du cartilage en localisation ectopique et réparer du cartilage de genou de souris arthrosiques.

Résultats

Mathieu, M., S. Vigier, M. N. Labour, C. Jorgensen, E. Belamie, et D. Noël. 2014. « Induction of mesenchymal stem cell differentiation and cartilage formation by cross-linker-free collagen microspheres ». *European cells & materials* 28: 82–97.

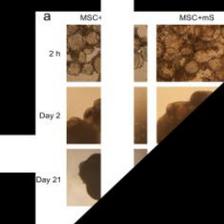
Poster

1 - Characterization of microspheres



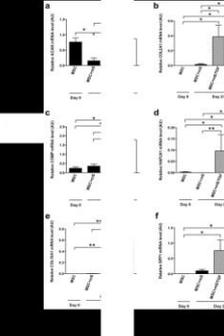
interconnected and larger ones with 87 nm striations. Determined diameter...

2 - Adhesion of MSC on microspheres



MSC on microspheres at 2h, Day 2, and Day 21.

3 - Expression of chondrogenic markers in MSC cultured with TGF-β3-loaded microspheres



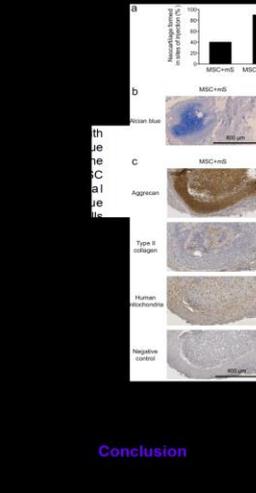
MSC cultured with TGF-β3-loaded microspheres.

4 - Aggrecan and type II collagen in MSC cultured with TGF-β3-loaded microspheres



Aggrecan and Type II collagen in MSC cultured with TGF-β3-loaded microspheres.

5 - In vivo neocartilage formation



In vivo neocartilage formation in MSC+MS and MSC+MS/TGF groups.

Conclusion

Année: 2013

Cellules souches mésenchymateuses et ingénierie du cartilage : analyse protéomique du sécrétome comme index de chondrogenèse

GILLET Pierre - Université de Lorraine

[Retour tableau](#)

Résumé

Le cartilage hyalin est un tissu conjonctif avasculaire, non innervé et très spécialisé. Sa fonction principale est de protéger l'os sous-chondral des agressions. Une des voies thérapeutiques d'avenir des lésions du cartilage, l'ingénierie tissulaire, se propose de promouvoir la régénération, au sein même de la lésion, d'un néo-tissu proche du cartilage natif en apportant in situ, à la fois un contingent cellulaire susceptible de synthétiser les composants matriciels du cartilage (notamment des cellules souches mésenchymateuses, CSMs) et des matrices (scaffold) aux capacités structurantes et bio-inductrices. Cependant, les capacités réparatrices de ces implants restent imparfaites : d'une part, les greffons présentent une grande hétérogénéité de leurs caractéristiques métaboliques et d'autre part, les méthodes disponibles pour caractériser leur comportement phénotypique (immunohistochimie, qPCR), sont destructives et traduisent leur état métabolique de manière indirecte et qualitative. Récemment, dans notre laboratoire, une méthode non invasive permettant l'analyse quantitative relative du protéome sécrété par des cultures cellulaires dédiées en 2D - 3D a été développée. Cette méthode (Maldi TOFTOF) s'est avérée robuste pour traduire le métabolisme du composant cellulaire considéré de la MEC selon le milieu environnant.

Ce projet a pour objectif principal d'adapter et de valider une nouvelle stratégie de diagnostic non invasif pré-implantatoire d'un greffon fonctionnalisé en ingénierie du cartilage. Cette approche originale sera d'évaluer, par analyse du sécrétome dans le milieu de culture, les conditions favorables à la fonctionnalisation de l'implant, en vue de sa greffe ultérieure en site articulaire. Pour cela, nous proposons d'optimiser l'apport de la protéomique pour la caractérisation de biomatériaux colonisés par des CSMs humaines en vue de leur différenciation chondrogénique selon des conditions standardisées. Les procédés de préparation d'échantillon, les protocoles de séparation analytique, de spectrométrie de masse et de traitement des données seront optimisés en cherchant le meilleur compromis entre profondeur d'analyse (incluant les aspects quantitatifs), rapidité et coût (impact socio-économique). Le protocole retenu sera optimisé pour mesurer les variations inter-individuelles des implants, puis pour définir les meilleures combinaisons de facteurs de croissance (ITS seul (témoin), ITS+TGF- β 1, ITS+TGF- β 3, ITS+BMP-2, ITS+TGF- β 1+BMP-2, ITS+TGF- β 3+BMP-2) à utiliser pour générer des biomatériaux dont la bio-fonctionnalité paraît optimale.

Trois axes principaux ont été définis : (1) Optimisation de l'analyse quantitative relative des protéines sécrétées par les biomatériaux en éponges de collagène pour un usage routinier, (2) Validation statistique de la méthode d'analyse, comparaison à l'état de l'art et mise en évidence de la variabilité inter-échantillon et inter-patient au travers du contrôle qualité et (3) Détermination de la meilleure combinaison de facteurs de croissance favorisant la chondrogenèse (histologie) pour l'élaboration d'implant fonctionnalisé à visée articulaire.

Notre groupe dispose de par sa composition de toutes les compétences nécessaires pour mener à bien ce projet multidisciplinaire, multi-méthodes, et multi-échelles. La plate-forme de protéomique de notre fédération de recherche (FR 3209) localisée dans le Biopôle assurera les analyses nécessaires.

Résultats

Henrionnet, Christel, Pierre Gillet, Didier Mainard, Jean-Baptiste Vincourt, et Astrid Pinzano. 2018. « Label-Free Relative Quantification of Secreted Proteins as a Non-Invasive Method for the Quality Control

of Chondrogenesis in Bioengineered Substitutes for Cartilage Repair ». Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine 12 (3): e1757-66.

[Retour tableau](#)

Année: 2013

Ingénierie cellulaire osseuse : impact des cellules souches mésenchymateuses et monocytes d'origine syngénique ou allogénique

LAYROLLE Pierre - INSERM Nantes

[Retour tableau](#)

Résumé

Le tissu osseux est le tissu le plus greffé chez l'homme avec 2 millions d'interventions pratiquées par an en Europe. La greffe d'os autologue est actuellement indiquée dans les pertes de substances osseuses d'origines diverses telles que la traumatologie, les tumeurs, l'infectiologie ou les reprises de prothèses complexes. Cette technique reste le gold standard mais est limitée en quantité et conduit à des complications sur le site de prélèvement. Les greffes d'os allogéniques sont également utilisées, souvent en 2ème intention, mais posent les problèmes liés aux contraintes d'une banque de tissu, de contamination infectieuse et de rejet immunologique.

alternative qui s'impose progressivement est l'ingénierie tissulaire. Elle consiste à cultiver des cellules souches mésenchymateuses (CSM) humaines sur des biomatériaux synthétiques afin de leur conférer des propriétés ostéogéniques. Dans cette nouvelle approche thérapeutique, les CSM sont isolées à partir d'un prélèvement de moelle osseuse autologue et associées à un biomatériau de type biocéramique phosphocalcique. Cependant, la greffe de cellules allogéniques serait une avancée majeure en simplifiant les étapes de culture, de logistique et de contrôle qualité des lots cliniques. Un autre type de cellule, le macrophage, est impliqué dans les processus d'ossification. Pendant une phase inflammatoire, un dialogue s'établit précocement entre les macrophages et les CSM afin de soutenir la formation osseuse tout en limitant les réponses inflammatoires et immunitaires trop délétères. Ces communications entre CSM, macrophages et autres cellules du système immunitaire (lymphocytes T et B) sont cependant complexes et des études précliniques doivent être menées dans ce domaine.

Ce projet vise à étudier l'impact des cellules souches mésenchymateuses et des monocytes d'origine syngénique ou allogénique dans l'ostéogénèse. L'originalité réside tout d'abord dans la comparaison de greffes de CSM syngéniques et allogéniques pour la régénération osseuse chez la souris, étape pré-clinique indispensable avant des essais chez l'homme. Pour cela, des CSM de souris C57BL/6 seront associés à des BCP (particules de phosphate de calcium biphasé) et implantées soit à des souris CD57BL/6 consanguines (modèle syngénique), soit à des souris BALB/c (modèle allogénique). Ces implants seront réalisés tout d'abord en site sous-cutané ectopique puis en site osseux dans un défaut de taille critique réalisé dans la calvaria des souris. De plus, ce projet s'attachera à mieux comprendre l'impact de l'inflammation / immunité, et plus particulièrement des monocytes/macrophages, sur les processus de régénération osseuse. Les réponses immunes et dialogues entre MSC et cellules immunitaires (inflammation, éventuel réaction de l'hôte contre le greffon) seront étudiés par immunohistochimie et RT-PCR quantitative. L'impact spécifique des monocytes /macrophages sur la formation osseuse sera analysé suite à l'injection de ces cellules dans un contexte syngénique ou allogénique.

Résultats

Brevet : Gamblin, Anne-Laure, Valérie Trichet, et Pierre Layrolle. 2016. Bone regenerating biomaterials with selected cells from peripheral blood. European Union EP2974753A1, filed 18 juillet 2014, et issued 20 janvier 2016. <https://patents.google.com/patent/EP2974753A1/en>.

Poster

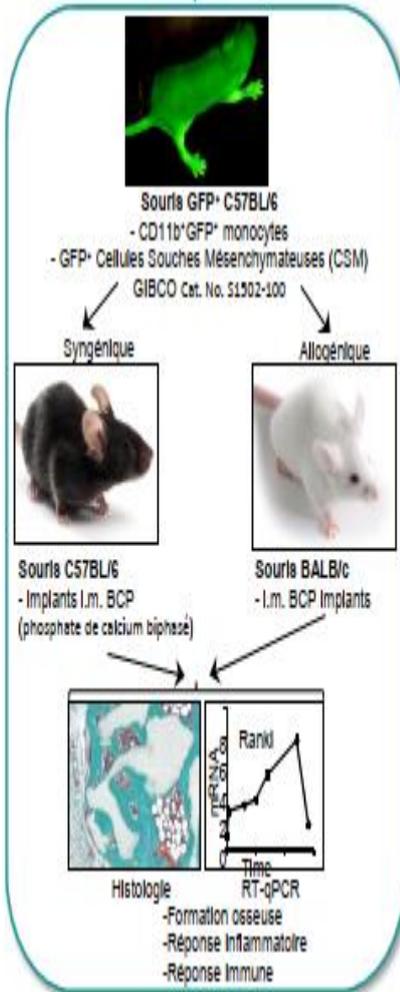


Ingénierie cellulaire osseuse : impact des cellules souches mésenchymateuses et monocytes d'origine syngénique ou allogénique

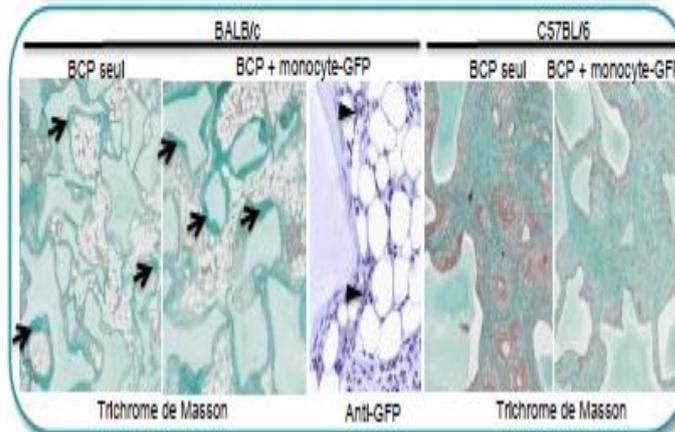
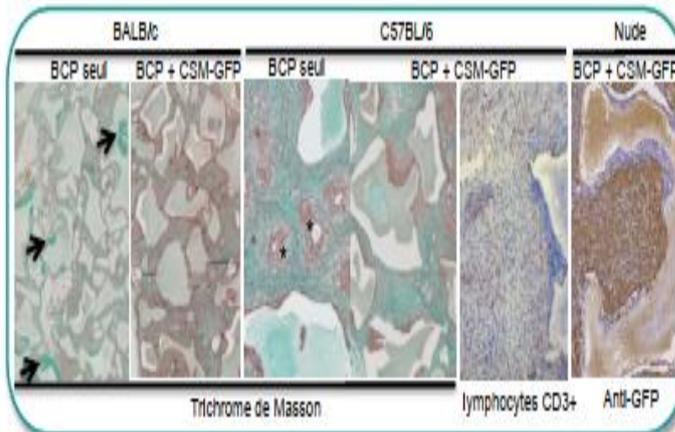
INSERM - UN UMR 957



Plan expérimental



Résultats



Implant / donneur	Receveur		
	nude	BALB/c	C57BL/6
BCP seul	+	+	-
+ CSM humaines	++	ND	ND
+ Monocytes humaines	++	ND	ND
+ CSM C57BL/6 « tumorales »	-	-	-
+ Monocytes C57BL/6	ND	+	-

Conclusions

Nos résultats montrent que :

- l'ostéinduction avec les BCP seuls (flèches) est différente selon la souche de souris (BALB/c vs C57BL/6), en lien avec une réaction inflammatoire chronique délétère (*);
- les CSM achetées chez Gibco représentent une véritable lignée « tumorale » qui empêche tout mécanisme de formation osseuse (développement tumoral dans les souris Nude);
- l'implantation de monocytes CD11b+ de la moelle osseuse ne modifie pas la formation osseuse en condition allogénique et ne l'induit pas en condition syngénique;
- la présence de lymphocytes T CD3+ dans les implants des souris immunocompétentes pourrait avoir empêché les augmentations de formation osseuse attendues. Cependant des études complémentaires sont nécessaires pour confirmer cette hypothèse.

Année: 2013

Bioingénierie de greffons cornéens endothéliaux à partir de cellules souches pluripotentes induites (hIPS human induced pluripotent stem cells)

THURET Gilles - Université Saint-Etienne

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectifs

Les cellules hIPS (human induced pluripotent stem cells) sont des cellules humaines adultes initialement normalement différenciées puis reprogrammées in vitro en cellules présentant les caractéristiques des cellules souches, c'est-à-dire pluripotence et auto-renouvellement. Elles ont pour avantage de ne pas poser le problème éthique des cellules souches embryonnaires, en particulier pour envisager traiter des pathologies non létales comme en ophtalmologie. Nous souhaitons étudier les possibilités de différencier des hIPS en cellules endothéliales (CE) cornéennes, cellules moteur de la transparence et de la survie de la cornée, en les soumettant à différents microenvironnements dans le but d'obtenir une culture de masse pouvant servir de réserve inépuisable pour la bioingénierie de greffons endothéliaux à partir de fines lamelles de stroma de cornées humaines. Si aujourd'hui la greffe endothéliale classique nécessite la découpe d'une cornée donneuse pour un seul receveur, la bioingénierie de demain à partir de hIPS pourrait permettre d'en obtenir 3 à 5 par cornée donneuse.

Résultats attendus

Obtention de la preuve de concept (POC), à partir de hIPS commercialisées, de l'obtention de cellules différenciées possédant les principales caractéristiques des CE cornéennes : croissance en monocouche de cellules hexagonales jointes par jonction serrées (tight junction, ZO-1 positives) formant une barrière semi-perméable, arrêt de prolifération à confluence par inhibition de contact, présence de Na/K-ATPase capable de réaliser les transports ioniques indispensables à la fonction de « pompe endothéliale »,

capacité à réaliser la déturgescence d'un greffon cornéen œdémateux placé dans le bioréacteur original disponible dans notre laboratoire.

Méthodologie étape par étape

ETAPE 1/Expansion de hIPS commerciales in vitro

ETAPE 2/Tests de 5 stratégies différentes de différenciation en CE cornéennes :

- humeur aqueuse humaine (collection biologique déclarée du BiiGC)
- TGF- β , supplémentation en facteurs de croissance des cultures primaires (b-FGF, EGF)
- milieux conditionnés de cultures de différents types de CE cornéennes (primaires ou 3 lignées immortalisées) et de kératocytes du stroma postérieur de cornées humaines
- co-cultures avec ces mêmes types cellulaires
- cornées humaines entières (greffons) avec ou sans endothélio-Descemet

ETAPE 3/ Contrôles multimodaux des CE ainsi obtenues

- morphologiques (histologie et ultrastructure en MET/MEB)
- différenciation (principales caractéristiques des CE cornéennes)
- différence de potentiel électrique de part et d'autre (effet barrière)

ETAPE 4/ Reconstitution des premiers greffons bioingénierés par ensemencement des CE obtenues sur des lamelles de stroma cornéen décellularisé (POC déjà réalisée au laboratoire) servant de support mécanique pour une chirurgie similaire aux greffes endothéliales actuelles.

ETAPE 5/ Simulation chirurgicale sur le bioréacteur cornéen (projet soutenu par l'ABM en 2011)

- vérification de la bonne adhérence et de la survie cellulaire lors du pliage/dépliage, adhérence au stroma, capacité de déturgescence d'une cornée œdémateuse sans endothélio-Descemet = première étape de l'évaluation préclinique.

[Retour tableau](#)

Année: 2015

Lever les freins professionnels au prélèvement de cornées par la communication engageante

GEORGET Gilles - Coordination hospitalière P organes tissus, Toulouse

[Retour tableau](#)

Résumé

Chez les soignants (médicaux et paramédicaux), les réticences au prélèvement d'organes et encore plus au prélèvement de tissus sont masquées par la notion de respect implicite d'une mission de santé publique. L'aide fournie aux CHPOT est extrêmement variable et les résultats du prélèvement de cornées varient de 1 à 15 selon les équipes.

Dans une équipe idéale, le prélèvement de cornées (jours ouvrables) doit pouvoir atteindre 10 % des décès de façon pérenne, avec un taux de cornées éligibles à la greffe se rapprochant de 70%. A ce jour, au CHU de Toulouse, cet objectif n'est rempli qu'à 25%.

Les contraintes matérielles et techniques doivent être maîtrisées et font l'objet d'un autre travail. Plus méconnue est la relative indifférence allant parfois jusqu'à l'obstruction à l'encontre de cette activité de la part des autres soignants susceptibles de fournir une aide quelle qu'elle soit. Les raisons sociétales ou

personnelles de cette réticence font l'objet de recherches théoriques dont les résultats connus sont peu applicables en pratique.

Nous avons choisi une approche stratégique pragmatique de marketing social pour améliorer le processus de prélèvement de cornées. Il s'agit d'amener les soignants à réaliser leur mission de santé publique quelle que soit leur position face à celle-ci.

Résultats attendus :

- création d'une méthodologie d'étude de la population soignante concernée ;
- identification d'un vocabulaire utile ou contre-performant ;
- création d'une séquence engageante reproductible d'un service à l'autre ;
- création d'une modélisation de la communication intra-hospitalière sur le sujet, susceptible d'être appliquée par d'autres CHPOT, susceptible d'être enseignée ;
- création d'indicateurs de suivi d'efficacité, utilisables par toutes les CHPOT ;
- amélioration des résultats du CHU de Toulouse en termes de prélèvement de cornées.

Méthodologie :

- étude psychologique des réticences dans la population cible ;
- création d'un modèle de communication engageante simple, type pied-dans-la-porte ;
- application du modèle à un service cible important ;
- relevés des résultats au fil de l'eau avec un pointage trimestriel, suivi des index ;
- comparaison des résultats du prélèvement de cornées avec les données antérieures connues depuis dix ans et avec des services témoins ;
- analyse ;
- rédaction d'un modèle de communication réutilisable par d'autres CHPOT.

Durée du projet 18 à 24 mois : 3 mois d'étude psychologique, 2 mois d'écriture du scénario engageant avec formation des IDE de la CHPOT, 12 mois d'activité, 2 mois pour analyse et rédaction.

Suites espérées :

- publication dans une revue spécialisée de psychologie sociale ;
- publication dans une revue de transplantation et/ou d'ophtalmologie
- présentation aux journées de l'Agence de la biomédecine ;
- évolution des modules de formation Abm concernés par le processus.

[Retour tableau](#)

Année: 2016

Les précurseurs adipeux dérivés des cellules iPS humaines comme alternative à la greffe de tissu adipeux brun

DANI Christian - Institut Biologie Valrose iBV Nice

[Retour tableau](#)

Résumé

Introduction :

La démonstration récente que du tissu adipeux brun (BAT) est présent chez l'homme adulte a relancé l'intérêt de ce tissu pour lutter contre l'obésité et le diabète de type 2. En effet, le BAT est spécialisé dans la dépense d'énergie. La greffe de BAT a alors été proposée comme nouvelle thérapie pour lutter contre l'obésité et ses complications métaboliques associées. En accord avec cette hypothèse, des données pré cliniques ont montré que la greffe de BAT améliore les paramètres métaboliques chez des souris obèses et des souris diabétiques. Cependant, chez l'homme le BAT représente une fraction mineure du tissu adipeux et disparaît avec l'âge pour ne persister qu'en site profond. Une source cellulaire de précurseurs adipeux (PA) bruns autologues est alors nécessaire pour pallier à la rareté du BAT. Les cellules souches pluripotentes induites humaines (hiPSCs), similaires aux cellules souches embryonnaires mais qui peuvent être générées à partir de cellules somatiques de patients, représentent une source illimitée de cellules autologues d'intérêt thérapeutique.

Nous avons récemment rapporté le potentiel des hiPSCs à générer des PAs, et avons mis au point un procédé efficace pour les isoler et les différencier en adipocytes bruns sans avoir à les modifier génétiquement. Enfin, nous avons montré que le Platelet Rich Plasma (PRP), un supplément biologique autologue qui améliore la prise de greffe, module la prolifération et la différenciation des PAs, via la voie du TGF β . Cette propriété pourrait nous permettre d'optimiser la formation d'adipocytes après transplantation.

Objectifs et résultats attendus:

Nous proposons d'évaluer le potentiel des PA bruns dérivés des iPSC humaines à former du tissu adipeux après transplantation chez la souris. Nous comparerons ce potentiel à celui de cultures primaires de PAs isolés de sites adipeux blancs et bruns humains adultes. Nous définirons les paramètres cellulaires qui optimisent la transplantation. Nous déterminerons également si la modulation de l'activité TGF β du PRP permet d'améliorer la transplantation et la survie des PAs bruns dérivés des hiPSC. Enfin, le tissu adipeux néoformé sera soumis à des variations des conditions physiologiques pour tester sa fonctionnalité. L'ensemble du projet représente une étape nécessaire au développement d'une thérapie passant par la transplantation de PAs bruns autologues dérivés de cellules hiPS de patients obèses et/ou diabétiques palliant ainsi au manque de BAT pouvant être greffé.

Méthodologie :

Les PA humains seront dérivés des iPSCs établies au laboratoire, et d'un site adipeux brun (menton) et blanc (genou) humain comme nous l'avons récemment rapporté. Le PRP de sujets sains sera préparé en utilisant le kit Regenlab. Les PAs seront ensuite transplantés en absence ou en présence de PRP et d'un inhibiteur de la voie TGF β en site sous-cutané chez la souris immunodéficiente Rag2 $^{-/-}$. Au préalable, les PAs auront été marqués par la GFP ou la luciférase afin de pouvoir suivre la prise de greffe et le devenir des cellules sur l'animal vivant grâce à un équipement IVIS Lumina series III. Un agoniste bêta adrénérgique, le CL316243 sera injecté dans les souris transplantées afin de tester la fonctionnalité du tissu adipeux brun formé. Enfin, les adipocytes formés seront récupérés puis la respiration mitochondriale, signe d'adipocytes bruns fonctionnels sera analysée avec l'équipement Seahorse.

[Retour tableau](#)

Année: 2016

Culture en masse de cellules endothéliales cornéennes de grade clinique pour la bioingénierie comme alternative à la greffe

THURET Gilles - Laboratoire BiiGC greffe de cornée, EA 2521 Saint-Etienne

[Retour tableau](#)

Résumé

Le déséquilibre mondial entre besoin en greffe et don de cornée est majeur (ratio 70/1). Un tiers des greffes est réalisé pour des pathologies endothéliales. Le bioengineering endothélial, aujourd'hui considéré comme la solution la plus réaliste pour remplacer ces greffes, se décline en 2 modes : 1/ injection directe en chambre antérieure de cellules endothéliales cornéennes (CECs) cultivées ; 2/reconstruction in vitro de greffons par endothélialisation d'un fin support transparent. Ces 2 procédés requièrent une production en masse de CECs de grade clinique. Il n'existait pas jusqu'à présent de procédé efficace : la différenciation de cellules souches est encore expérimentale et les cultures primaires rapportées récemment par les Japonais ne sont pas transposables en Europe (nécessitent des donneurs de moins de 30 ans exceptionnels en Europe et l'usage de molécules indisponibles en clinique (Rock-Inhibiteur, inhibiteur de TGF-B, surnageant d'autres cellules)).

Notre laboratoire BiiGC a mis au point en 2014 un process de culture à partir des donneurs d'âge habituel en Europe (70 ans), sans produit animal et uniquement à partir de molécules utilisables chez l'homme. Nous obtenons ainsi en 6 semaines 300 millions de CECs à partir d'une seule cornée (de quoi traiter théoriquement 300 patients...) mais ce process n'est efficace à l'heure actuelle que pour ¼ des donneurs.

Objectifs :

- Optimiser notre process en identifiant en particulier les caractéristiques des donneurs influençant son succès
- Analyser, grâce à notre bioréacteur original la fonctionnalité des CECs obtenues c'est-à-dire leur capacité à assurer la transparence cornéenne et déterminer le nombre de cellules à injecter
- Transposer le process aux normes GMP afin de le transférer vers une unité de production de grade clinique pour préparer la « first in man study ».

Résultats attendus :

Process de production en masse de cellules endothéliales cornéennes prêtes à être testées en clinique.

Méthodologie et moyens :

- An 1 : optimisation du process de culture. Caractérisation des CECs par immunomarquage et RT-PCR (BiiGC + EFS St-Etienne)
- An 2 : tests en bioréacteur avec ré-endothélialisation de cornée dépourvue d'endothélium ; détermination du nombre de CECs à injecter ; analyse de la fonctionnalité du néo-endothélium (capacité de déturgescence sans et avec inhibiteur des pompes Na/K; immunomarquage/histologie et MET/MEB (BiiGC)
- An 3 : préparation de la production aux normes GMP. Analyse de risque général du procédé, choix des réactifs et consommables de culture, identification des contrôles qualité à mettre en place pour les matières premières, produits intermédiaires et produits finis (identité, pureté, sécurité, fonctionnalité) et choix des spécifications (BiiGC + EFS Grenoble).

BiiGC dispose d'un plateau complet de culture (salle blanche en surpression), de caractérisation cellulaire (plateforme de microscopie dont confocal) et d'un bioréacteur cornéen breveté inédit couplé à de l'imagerie cornéenne dédiée.

Résultats

Crouzet, Emmanuel, Zhiguo He, Olfa Ben Moussa, Marielle Mentek, Pierre-Francois Isard, Benjamin Peyret, Fabien Forest, et al. s. d. « Tissue Engineered Endothelial Keratoplasty in Rabbit: Tips and Tricks ». *Acta Ophthalmologica* n/a (n/a). Consulté le 1 avril 2022. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/aos.15081>.

Garcin, Thibaud, Emmanuel Crouzet, Chantal Perrache, Thierry Lepine, Philippe Gain, et Gilles Thuret. 2022. « Specular Microscopy of Human Corneas Stored in an Active Storage Machine ». *Journal of Clinical Medicine* 11 (11): 3000. <https://doi.org/10.3390/jcm11113000>.

[Retour tableau](#)

Année: 2017

Optimisation du Bioréacteur cornéen destiné à augmenter le nombre et la longévité des greffons cornéens

GAIN Philippe - Laboratoire Biologie, Imagerie et ingénierie de la greffe de cornée (BiiGC), EA 2541

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectifs : optimiser la conservation des greffons cornéens en se rapprochant des conditions de la physiologie cornéenne grâce à l'usage d'un bioréacteur (BR) innovant fruit des recherches de notre laboratoire BiiGC (Biologie, ingénierie et imagerie de la Greffe de Cornée, EA 2521, Université Jean Monnet). Le BR cornéen a fait l'objet, en juin 2015, d'une première demande auprès de l'Agence de la Biomédecine, pour sa validation préclinique comparative sur 49 paires de cornées prélevées à des fins scientifiques et conservées 28 jours en 2 groupes parallèles : BR versus Organo-Culture (OC). Nous avons terminé les inclusions. Le taux d'acceptation du don scientifique a été de près de 75%, sur la population ciblée des donneurs avec contre-indication au don thérapeutique. Les résultats démontrent que par rapport à l'organoculture, le BR permet d'obtenir : 1/un gain considérable en terme de viabilité cellulaire après 28 jours de conservation : +30% de cellules viables après 28 jours de conservation; 2/ 90% des cornées sont greffables (>2000 cellules viables/mm²) contre seulement 50% en organoculture; 3/ 50% des cornées sont de qualité « premium » (>2400 cellules viables/mm²) contre 0% en organoculture. Seule l'épaisseur reste légèrement supérieure à la normale de 90 µm.

Notre protocole de validation utilisait le milieu de conservation commercial usuel en France (CorneaMax, Eurobio, Les Ulis) qui est le gold standard actuel. Ce milieu pose au moins 3 difficultés : 1/ il nécessite, avec la version actuelle du BR, l'emploi d'une étuve à CO₂ ; 2/ il contient du sérum de veau fœtal ; 3/ il existe une variabilité inter-lot importante. Sa formulation n'a pas été améliorée depuis sa mise sur le marché il y a près de 20 ans. Notre protocole testait par ailleurs une conservation limitée à 28 jours. Enfin, d'autres travaux menés en parallèle au BiiGC, suggèrent qu'une exposition intermittente de la face antérieure de la cornée à l'air humide, devrait permettre de se rapprocher encore plus de la physiologie de la cornée et d'obtenir ainsi une épaisseur identique à celle d'une humaine in vivo cornée.

Résultats attendus : Version optimisée du BR, prête au transfert à la clinique avec 1/ nouvelle formulation du milieu améliorée et indépendante du CO₂, 2/ extension de la conservation à 3 mois, 3/ greffons encore plus fins.

Méthodologie de ce nouveau protocole : 3 taches sont prévues pour optimiser la conservation en BR :

- Tache 1 = optimisation du milieu de conservation (milieu indépendant du CO₂ pour la régulation du pH et remplacement du sérum de veau fœtal)
- Tache 2 = prolongation de la durée de conservation à 3 mois
- Tache 3 = amélioration de la physiologie de la conservation par exposition intermittente de la face épithéliale à l'air humide.

Les cornées humaines indispensables à ce projet seront prélevées grâce à des dons exclusivement scientifiques selon la seconde autorisation récemment accordée par l'ABM à notre équipe (sept 2016).

Résultats

Garcin, Thibaud, Anne-Sophie Gauthier, Emmanuel Crouzet, Zhiguo He, Pascal Herbepin, Chantal Perrache, Sophie Acquart, et al. 2019. « Innovative Corneal Active Storage Machine for Long-Term Eye Banking ». American Journal of Transplantation 19 (6): 1641-51.

Garcin, Thibaud, Emmanuel Crouzet, Chantal Perrache, Thierry Lepine, Philippe Gain, et Gilles Thuret. 2022. « Specular Microscopy of Human Corneas Stored in an Active Storage Machine ». Journal of Clinical Medicine 11 (11): 3000.

Poster

Appel d'offres 2016 Optimisation du Bioréacteur cornéen pour la recherche préclinique, industrielle et fondamentale

Sébastien URBANIAK¹, Jean Marie PAPILLON¹, Emmanuel CROUZET¹, Benjamin PEYRET¹, Thibaud GARCIN^{1,4}, Zhiguo HE¹, Marielle MENTEK¹, Chantal PERRACHE¹, Inès AOUIMEUR¹, Paul GOIN^{1,3},
Anne Sophie GAUTHIER^{1,2,3,4}, Sylvain POINARD^{1,4}, Gilles THURET^{1,4} & Philippe GAIN^{1,4}

1 Laboratoire Biologie, Ingénierie et Imagerie de la Greffe de Cornée (BiIGC), Université Jean Monnet, Saint Etienne; 2 Banque de cornée, Etablissement Français du Sang, Site de Besançon; 3 Service d'Ophthalmologie, CHU de Besançon, 4 Service d'Ophthalmologie, CHU de Saint-Etienne

OBJECTIFS

Le Bioréacteur de première génération (BRv1) développé par le BiIGC restaure la pression intra oculaire (PIO) et la circulation du milieu nutritif et améliore très significativement la conservation des greffons cornéens. Il a permis de valider le concept de machine de conservation active (ASM Active Storage Machine)^{1,2,3,4} désormais industrialisé par les laboratoires THEA.

Le BRv1 est utilisé dans notre laboratoire universitaire pour replacer la cornée dans un environnement quasi physiologique et permettre de réaliser des travaux de recherche préclinique, industrielle et fondamentale.

La seconde version du bioréacteur (BRv2) est en développement pour optimiser son fonctionnement et ajouter de nouvelles fonctions.

1- Guindolet D, Crouzet E, He Z, et al. Storage of Porcine Cornea in an Innovative Bioreactor. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2017
2- Guindolet D, Crouzet E, He Z, et al. Epithelial Regeneration in Human Corneas Preserved in an Active Storage Machine. *Transl Vis Sci Technol.* 2021
3- Garcin T, Gauthier AS, Crouzet E, et al. Innovative corneal active storage machine for long-term eye banking. *Am J Transplant.* 2019
4- Garcin T, Gauthier AS, Crouzet E, et al. Three-month Storage of Human Corneas in an Active Storage Machine. *Transplantation.* 2020

BRv1 2017	BRv2 2021
<ul style="list-style-type: none"> - 6 BR par étuve (28x25x40cm) - 1 alimentation électrique par BR - 50 % fabriqué en interne - Hydraulique commune à 3 BR 	<ul style="list-style-type: none"> - 2 fois plus compact: 12 BR par étuve (28x24x9cm) - 1 alimentation électrique pour 12 BR - 90 % fabriqué en interne - Hydraulique indépendante

COMPOSANTS & MESURES

Réservoir

BRv1	BRv2
✗ Détection de poche vide	✓
✗ Calcul de débit	✓
✗ Pesée de la poche en temps réel	✓

Pesée du réservoir de milieu de conservation du BRv2

Pression

BRv1	BRv2
Pression dans le BR au cours du temps	
+/- 5mmHg Stabilité +/- 0,1mmHg	
✗ Alertes pression	✓
✗ Electrovanne fabriquée en interne	✓

Pompe péristaltique

BRv1	BRv2
✓	✓
✓	✓
✗	✓
✗	✓
✗	✓
✗	✓

Software et IHM

BRv1	BRv2
3 BR maxi	écran de supervision illimité
✗	✓
✗	✓
✗	✓

CONCLUSION

Le BRv2 améliore le contrôle de la PIO et du flux de milieu (précision, traçabilité). Il est également plus polyvalent et facilite le design des études expérimentales en fonction des besoins. La prochaine étape consiste à l'instrumenter avec des capteurs de mesures physico-chimiques pour monitorer en temps réel l'activité métabolique cornéenne et la composition du milieu.

Année: 2018

Evaluation de la qualité des greffons cornéens : mesure de la diffusion lumineuse

GEORGES Gaëlle - Institut Fresnel

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectif : Il n'existe actuellement aucun dispositif commercial permettant de réaliser une mesure objective de la transparence des greffons cornéens qui est uniquement évaluée de manière subjective. Ce projet vise à mettre en place un nouvel outil quantitatif de qualification de cette transparence.

Méthodologie : Cet outil se base sur l'étude et la mesure de la diffusion lumineuse angulaire qui peut apporter de nombreuses informations quant aux hétérogénéités et donc à la qualité du greffon. La perte de transparence est en effet due à une diminution de la lumière transmise au profit d'une augmentation de la lumière diffusée. L'avantage est qu'il s'agit d'une mesure sans contact, ne nécessitant aucune préparation des échantillons et qui peut facilement s'intégrer dans la procédure actuelle de tri. La mesure est de plus très sensible et peut ainsi permettre de distinguer des variations non visibles à l'œil nu.

Cette étude s'appuie sur une étude préliminaire obtenue sur des greffons cornéens rejetés du circuit de greffe. Ce projet vise à mettre en place un prototype de mesure de la diffusion angulaire en banque des tissus et de le tester sur un grand nombre de cas. Il pourra être modifié après une première phase de tests pour affiner le tri. Dans un second temps, une base de données sera construite afin d'identifier et de comparer les greffons entre eux et d'établir les critères de tri. En parallèle de ces résultats expérimentaux, des modélisations théoriques permettront d'identifier les signatures dans la mesure de la diffusion angulaire de différents cas (gradation de l'œdème cornéen, opacités localisées, cicatrices, défauts de surface...).

Résultats attendus : Le résultat principal est une caractérisation quantitative des greffons en termes de qualité de transparence, mais l'outil permettra également de mettre en évidence des signatures pour l'identification de défauts variés (chirurgie réfractive antérieure, œdèmes localisés ou cicatrices par exemple). Ce critère quantitatif, ajouté aux critères déjà existants, permettra d'améliorer le protocole de tri des greffons. Le système pourra être ensuite étendu in-vivo pour prévenir et suivre les pathologies cornéennes. En effet une des originalités de cette étude est qu'elle permet d'obtenir une information sur la diffusion et la transparence du greffon par une mesure dans le demi-espace réfléchi par le greffon, ce qui pourrait permettre de transposer cette étude à des cornées in-vivo.

[Retour tableau](#)

Année: 2018

Amélioration de l'effet thérapeutique des CSM dans l'arthrose: Rôle de PPAR b/d

GUICHEUX Jérôme - INSERM UMR 1229-RMES, "Regenerative Medicine and Skeleton"

[Retour tableau](#)

Résumé

L'arthrose (OA) est la maladie dégénérative et inflammatoire des articulations la plus fréquente. Malgré l'augmentation de son incidence, il n'existe pas de traitement efficace capable de restaurer la structure du cartilage et la fonction des articulations atteintes. Dans ce contexte, de nouvelles approches thérapeutiques basées sur l'utilisation des cellules stromales mésenchymateuses (CSM) sont devenues un domaine de recherche en plein essor. Bien que les études précliniques animales et les essais cliniques de phase I et II aient montré que l'injection intra-articulaire (IA) de CSM était sûre et bien tolérée par les patients arthrosiques, l'effet thérapeutique des CSM est modeste et doit être amélioré pour garantir des bénéfices à long terme et les transformer ainsi en un traitement efficace de l'arthrose. Les propriétés thérapeutiques des CSM chez les patients arthrosiques pourraient être médiées par la libération de molécules chondroprotectrices et/ou immunomodulatrices agissant sur l'éducation des cellules immunitaires impliquées dans l'OA (macrophages) vers des cellules régulatrices. En accord avec cette hypothèse, l'U1183-IRMB a montré qu'en plus de leur capacité à protéger les chondrocytes, les CSM contrôlent l'activité des macrophages en favorisant l'engagement de leur phénotype de M1 (pro-inflammatoire) vers M2 (anti-inflammatoire et pro-régénératif). Des données récentes ont par ailleurs suggéré un rôle de PPAR β/δ dans le développement et la sévérité de l'OA chez la souris. De plus, l'U1183-IRMB a récemment démontré que le niveau d'expression de PPAR β/δ prédisait le potentiel immunomodulateur des CSM et que son inhibition stimulait les effets thérapeutiques des CSM dans l'arthrite murine.

Compte tenu de l'effet thérapeutique prometteur des CSM dans l'OA et du rôle potentiel de PPAR β/δ dans les propriétés immunomodulatrices des CSM, les objectifs de notre projet sont de (i) déterminer le profil d'expression de PPAR β/δ dans les CSM de la moelle osseuse et du tissu adipeux de donneurs sains et atteints d'OA (biocollection Arthrostem, INSERM U1229-RMeS), (ii) élucider le rôle de PPAR β/δ sur les propriétés chondroprotectrices des CSM et (iii) étudier l'effet de la modulation de PPAR β/δ sur les propriétés immunomodulatrices des CSM notamment en lien avec les souspopulations de macrophages.

En cas de succès, ce projet permettra d'étudier l'influence de la modulation de PPAR β/δ sur les propriétés anti-arthrosiques des CSM humaines dans des modèles animaux appropriés d'OA avant d'envisager les premiers essais cliniques chez l'homme. Le traitement qui pourrait résulter de ce projet, a pour objectif d'apporter à la population affectée par cette maladie articulaire invalidante une solution thérapeutique efficace à long terme.

Résultats

Bodic, B., M. A. Boutet, C. Boyer, B. Metayer, C. Vignes, J. Lesoeur, J. Veziere, et al. 2022. « Development and Characterization of a Humanized Mouse Model of Osteoarthritis ». *Osteoarthritis and Cartilage*, mars. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2022.02.620>.

Decante, Cyrille, Johann Clouet, Antoine Hamel, Luc Le Fournier, Olivier Gauthier, Dominique Rouleau, Julie Lesoeur, et al. 2021. « Collateral Effects of Targeting the Nucleus Pulposus via a Transpedicular or

Transannular Surgical Route: A Combined X-Ray, MRI, and Histological Long-Term Descriptive Study in Sheep ». *European Spine Journal* 30 (2): 585-95. <https://doi.org/10.1007/s00586-020-06602-5>.

Delplace, Vianney, Marie-Astrid Boutet, Catherine Le Visage, Yves Maugars, Jérôme Guicheux, et Claire Vinatier. 2021. « Osteoarthritis: From Upcoming Treatments to Treatments yet to Come ». *Joint Bone Spine* 88 (5): 105206. <https://doi.org/10.1016/j.jbspin.2021.105206>.

Fouasson-Chailloux, Alban, Marc Dauty, Benoit Bodic, Martial Masson, Yves Maugars, Benoit Metayer, Joëlle Veziers, et al. 2021. « Posttraumatic Osteoarthritis Damage in Mice: From Histological and Micro-Computed Tomodensitometric Changes to Gait Disturbance ». *Cartilage* 13 (2 Suppl): 1478S-1489S. <https://doi.org/10.1177/19476035211053821>.

[Retour tableau](#)

Année: 2018

Optimisation de la chondrogénèse sur matrice d'allogreffe aortique cryopréservée pour le remplacement trachéal

MARTINOD Emmanuel - Hypoxie et poumon: Pneumopathies fibrosantes, modulations ventilatoires et circulatoires (EA2363) Bobigny

[Retour tableau](#)

Résumé

Introduction :

L'allogreffe aortique cryopréservée tutorisée provisoirement sur une endoprothèse dans l'indication d'un remplacement trachéal, permet une génération tissulaire de novo épithéliale et cartilagineuse. Ces résultats ont permis des applications cliniques chez l'homme qui montrent néanmoins, un retard de chondrogénèse en comparaison des modèles animaux. Nous émettons l'hypothèse que l'enrichissement avant transplantation de la matrice aortique cryopréservée par des cellules souches mésenchymateuses (CSM) pourrait l'accélérer.

L'objectif de l'étude est d'optimiser in vitro la chondrogénèse au sein de matrices aortiques cryopréservées par leur enrichissement avec des CSM exogènes. Les objectifs spécifiques sont :

- (i) De déterminer les conditions optimales de colonisation des matrices aortiques par les CSM ;
- (ii) D'étudier l'influence des contraintes hypoxiques et mécaniques permettant d'obtenir in vitro une différenciation des CSM en chondrocytes sur cette matrice

Méthodologie :

Des aortes de brebis seront prélevées à l'abattoir puis cryopréservées à -80°C (n=15) (20cm divisée en 4 segments de 5 cm) puis décongelées avant les procédures. L'expérimentation aura recours à des CSM humaines isolées à partir de moelle osseuse.

L'analyse statistique sera effectuée par test t de Student ou par analyse de variance à 1 ou 2 facteurs (ANOVA). Une $p < 0.05$ sera considérée comme significatif.

Phase 1 (Mois M0 à M4) : Détermination de la concentration optimale de CSM nécessaire à l'ensemencement de la matrice, par culture pendant 24h (milieu DMEM +SVF) sur des fragments de 2 cm² de matrice (5 000 , 10 000, 25 000 cellules / cm² de matrice) ; détermination de l'influence d'une préincubation (12h) de la matrice par divers facteurs chémoattractants ; comptage à 24h des CSM en microscopie à fluorescence.

Phase2 (M5 à M18) : Les matrices aortiques préalablement enrichies en CSM exogènes, seront cultivées dans un milieu DMEM + SVF contenant les facteurs de différenciation chondrocytaire (rhTGF- β 3, rhPTH-related peptide, dexaméthasone, Insuline). Des prélèvements pour analyse de la différenciation

chondrocytaires seront réalisés à J7, J15, J30 et J45 avec analyse histologique, immunohistochimique, biochimique et de biologie moléculaire.

4 conditions (n=5 échantillons par condition) seront utilisées pour l'étude de la contrainte hypoxique (matrice aortique ouverte tutorisée par un stent, milieu normoxique (21% O₂) ou hypoxique (5% O₂).

2 conditions (n=5 échantillons par condition) seront utilisées pour l'étude de l'influence des contraintes mécaniques (matrice aortique tutorisée par un stent avec contrainte longitudinale ou axiale).

Résultats attendus :

Phase 1 : détermination de la condition optimale d'ensemencement de la matrice par des CSM.

Phase2 : influence de la contrainte hypoxique sur la chondrogénèse ; influence des contraintes mécaniques sur la chondrogénèse.

[Retour tableau](#)

Année: 2018

Recyclage des cornées non conformes pour le bioengineering cornéen

THURET Gilles - Laboratoire Biologie, imagerie et ingénierie de la Greffe de Cornée (BiiGC), EA 2521, Faculté de Médecine de Saint-

Etienne

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectifs :

Notre laboratoire « Biologie, imagerie et ingénierie de la Greffe de Cornée » (BiiGC), EA 2521, Faculté de Médecine de Saint-Etienne a développé et publié une méthode pour découper de multiples lamelles de stroma cornéen au laser femtoseconde, les décellulariser et les stocker à 4°C 12 mois (Bernard A... Thuret G. Femtosecond laser cutting of multiple thin stromal lamellae for endothelial bioengineering. Cornea 2015 et He Z,Thuret G. et Cutting and decellularization of multiple corneal stromal lamellae for the bioengineering of endothelial grafts. IOVS 2016). Les lamelles ainsi obtenues sont inertes, acellulaires, stériles et transparentes.

L'objectif du présent projet ABM 2018 est d'étendre et améliorer ce procédé pour recycler les nombreuses cornées humaines non conformes jusqu'à présent détruites par les banques en raison d'une qualité endothéliale trop basse mais par ailleurs sécurisées sur le plan microbiologique et des antécédents

médicaux du donneur. Ce ré-engineering innovant augmentera l'efficacité globale du don, des banques de cornées et contribuera à réduire la pénurie mondiale.

Résultats attendus :

Mise au point du procédé de production et de stockage de 3 types de produits :

1. Patches de différentes formes et épaisseurs pour traiter les perforations cornéennes, les ulcérations stromales persistantes infectieuses ou non, les opacités superficielles. Certains seront cross-linké pour augmenter leur résistance biomécanique et biochimique.

2.

Lenticules (ou inlays) réfractifs destinés au traitement des amétropies fortes ou du kératocone

3.

Lamelles ultrafines (50 micromètres) destiné à servir de support pour le bioengineering de greffons endothéliaux pour le traitement des insuffisances endothéliale (1/3 des greffes de cornées au monde).

Nous testerons la conservation par lyophilisation de ces produits. Ces produits feront l'objet d'une double validation préclinique ex vivo après transplantation sur cornées humaines dans le bioréacteur original de BiiGC (breveté) et sur le lapin.

En post projet, les produits devront avoir le statut réglementaire de Médicaments de Thérapie Innovante (MTIs)

afin de pouvoir procéder aux premiers essais cliniques « first in man » au sein de notre service d'ophtalmologie du CHU.

Méthodologie: 5 tâches sont prévues pour une durée totale de 2 ans :

Tâche 1 = mise au point des découpes au laser femtoseconde

Tâche 2 = amélioration de la biomécanique par cross-linking

Tâche 3 = mise au point de la conservation par lyophilisation

Tâche 4 = validation préclinique ex vivo sur cornées humaine placées en bioréacteur

Tâche 5 = validation préclinique in vivo sur lapin.

Les cornées humaines non conformes indispensables à ce projet seront issues des banques de cornées des EFS de Saint-Etienne et Besançon avec lesquels nous collaborons historiquement.

[Retour tableau](#)

Année: 2019

Injecteur prêt à l'emploi, préchargé avec un endothélium coloré et orienté pour Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty

AUXENFANS Céline - Banque de tissus et cellules des Hospices Civils de Lyon Lyon

[Retour tableau](#)

Résumé

La Banque de tissus et Cellules des Hospices Civils de Lyon (BTC/HCL) a obtenu en mai 2016 l'autorisation de l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM) de distribuer des greffons cornéens endothélio-descemetiques préparés à la banque. Ces greffons de 12 µm environ d'épaisseur sont délivrés flottants en rouleau dans le milieu de conservation. Cette avancée qui permet un gain de temps chirurgical, la suppression du risque d'échec de la découpe et d'annulation de la chirurgie, une sécurité microbiologique, l'accessibilité de la technique à plus de chirurgiens, en diminuant la durée de la courbe d'apprentissage, la qualité endothéliale des greffons post découpe est contrôlée. Cependant, des manipulations du greffon sont encore nécessaires au bloc opératoire, le chirurgien doit rincer le greffon, le colorer pour aider sa visualisation après injection dans l'oeil, éventuellement marquer le sens du greffon pour éviter son déroulement à l'envers dans l'oeil du patient et l'aspirer dans son injecteur. Ces manipulations sont susceptibles d'endommager le greffon. L'objectif de ce projet est de valider un injecteur permettant de délivrer un greffon coloré, découpé selon la technique "no touch", avec un marquage du sens du greffon et permettant la conservation au moins 3 jours en assurant une sécurité endothéliale et microbiologique.

L'injecteur sera évalué :

- sur la qualité endothéliale des greffons conservés, mesurée par 3 méthodes : évaluation de la densité et viabilité des cellules endothéliales après coloration au bleu trypan avant et après conservation dans l'injecteur. Les pertes cellulaires des greffons endothéliaux après découpe/coloration/marquage du sens/conservation 72 H dans l'injecteur ne devront pas dépasser de plus de 5% les pertes cellulaires des greffons contrôle, conservés flottants dans le milieu.

Evaluation de la viabilité cellulaire sur l'ensemble du greffon après conservation par une coloration Hoechst/ Ethidium Homodimer/ Calcein.

Evaluation des liaisons intercellulaires endothéliales avec le marqueur ZO-1.

- sur la stabilité de la coloration du greffon, le greffon resté suffisamment coloré pour rester visible après injection dans l'oeil. La coloration sera comparée à une gamme de bleu prédéfini.
- sur la stabilité du marquage du sens, le marquage du sens doit rester visible après conservation.
- sur la praticité du système.

Les groupes testés (N=28) seront comparés à un groupe témoin (N=28) comprenant des greffons conservés selon la technique autorisée dans le procédé (ppt300 et ppt321) c'est-à-dire flottant dans le milieu de conservation, 72H à +22°C±/-3°C.

[Retour tableau](#)

Année: 2020

Evaluation à loNg terme de la VIsion des patients greffés de cornée et de la Survie du greffon à partir des données Internes du CHU de Besançon (EnVision)

DELBOSC Bernard - Service d'ophtalmologie, CHU Besançon

UMR1098 Inserm EFS UBFC, Interactions hôte greffon tumeur, ingénierie cellulaire et génique

[Retour tableau](#)

Résumé

Les pathologies de l'endothélium cornéen (dystrophie endothéliale primitive de Fuchs et dystrophie bulleuse du pseudophaque) représentent la moitié des indications de greffes de cornées en France, soit environ 2500 greffes par an, un chiffre en augmentation. Les greffes cornéennes lamellaires postérieures permettent de restaurer la transparence cornéenne par l'apport de nouvelles cellules endothéliales en assurant la déturgescence de la cornée œdémateuse. Ces greffes sont les plus performantes en permettant de ne greffer qu'une couche de la cornée: l'endothélio-Descemet. Cependant, les kératoplasties endothéliales (KE) sont relativement récentes et le devenir de ces greffons à long terme et les facteurs associés sont mal connus.

Le paramètre semblant être le plus prédictif de réussite et de survie à long terme du greffon est la densité cellulaire endothéliale (DCE) de celui-ci avant chirurgie. Enfin, il n'y pas de surveillance organisée des greffes en France.

L'objectif principal de l'étude est d'analyser l'impact de la DCE du greffon au moment de la greffe sur le délai jusqu'à décompensation endothéliale tardive chez les patients atteints de dystrophies endothéliales primitives ou secondaires.

Nous proposons de plus d'analyser de manière exploratoire l'association entre d'autres facteurs liés au greffon et au donneur (sexe du donneur, âge du donneur, cause du décès...) sur le délai jusqu'à décompensation endothéliale tardive chez ces patients.

L'étude permettra de créer un outil informatique en ligne de surveillance des greffes utilisable en routine au niveau régional par les chirurgiens greffeurs pour le recueil des données donneurs et receveurs. L'étude proposée repose sur l'utilisation des données de la cohorte de patients ayant bénéficié d'une KE existante à Besançon complétée par un recueil spécifique. Il s'agit d'une étude observationnelle pronostique de cohorte rétrospective monocentrique sur la base de données collectées dans le cadre du soin.

Le critère de jugement principal de l'étude est le délai jusqu'à la dégénérescence endothéliale tardive (à 8 ans). L'exposition principale de l'étude est la densité cellulaire du greffon au moment de l'intervention. Les données de l'étude permettront d'en obtenir une estimation de la survie à long terme dans un centre français avec une longue expérience de la kératoplastie, et étudier les facteurs qui lui sont associés (receveurs, donneur, greffon et techniques chirurgicales). Ces données pourront amener à une meilleure prise en charge des patients bénéficiant de KE en mettant en évidence des méthodes de sélections des

donneurs, de préparation des greffons, et des techniques chirurgicales optimisant la survie des greffons et la sécurité.

L'outil régional pourra secondairement servir d'outil national pour le suivi de l'ensemble des patients greffés en France. Un registre national pourra ainsi permettre d'avoir une vision d'ensemble sur les pratiques chirurgicales, les indications, les caractéristiques des donneurs et des receveurs sur le territoire français.

L'objectif général est une optimisation de l'utilisation des greffons, une ressource rare issue de la générosité des donneurs et de leurs familles, et mobilisant des ressources humaines et financières importantes. Nous ambitionnons par la suite d'étendre le dispositif à plusieurs centres pour en améliorer la représentativité.

[Retour tableau](#)

Année: 2022

Don de cristallins pour la médecine régénérative en ophtalmologie

THURET Gilles - Laboratoire Biologie, imagerie et ingénierie de la Greffe de Cornée (BiiGC), EA 2521, Faculté de Médecine de Saint-Etienne

Faculté de Médecine, Pôle Santé innovation

10 Chemin de la Marandière

42270 Saint-Priest en Jarez

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectifs

Etablir le premier réseau au monde de prélèvement de cristallins à but thérapeutique et finaliser en parallèle les procédés de préparation des capsules cristalliniennes comme nouveau tissu décellularisé, déshydraté ou lyophilisé, stérilisé, prêt à l'emploi.

Résultats attendus

Préparation d'un nouveau produit pour le bioengineering ophtalmologique et la chirurgie ophtalmologique : la capsule cristallinienne. Les applications seront (en post projet) : bioengineering de greffons

endothéliaux cornéens (par notre équipe), bioengineering de greffons rétinien (par d'autres équipes), chirurgie de trou maculaires rétinien complexes.

Méthodologie

En 3 work packages

WP1 logistique :

-Établissement d'un réseau de prélèvements suffisamment étendu pour garantir la pérennisation de l'apport (information/formation des préleveurs/logistique d'envoi) : Constitution d'un réseau pilote (9 CHU parmi les plus actifs en prélèvements de cornée).

-Mise place des procédures de prélèvement/conditionnement/envoi à la banque de cornée de Saint-Etienne

-Analyse de la qualité à réception. Actions correctrices éventuelles.

-Extension secondaire du réseau en fonction du nombre de cristallins reçus en 12 mois, au reste des 192 centres prélevant déjà des cornées à but thérapeutique en France.

WP 2 procédé de préparation :

-Finalisation du procédé de préparation : découpe laser customisée, dissection, déshydratation ou lyophilisation, conditionnement, stérilisation gamma. Plusieurs étapes ont déjà été initiés et/ou validées pour la capsule antérieure.

-Analyse des capacités de la capsule postérieure du cristallin à être utilisée comme la capsule antérieure (doublerait la quantité disponible mais doit être validée)

-Mise en place des contrôle qualité (dimension/intégrité)

-Transfert du laboratoire à la banque de tissu pour mise aux normes GMP.

-Production de premiers lots « cliniques »

WP 3 réglementaire : validation par les autorités de santé.

-Anticipation des démarches avec le guichet innovation de l'ANSM dans les 6 premiers mois.

-Constitution du « dossier procédé » avec le partenaire EFS Auvergne Rhône Alpes (Site de St-Etienne et site de St-Ismier).

-Dépôt du procédé auprès des autorités sanitaires française (ANSM)

-Dépôt d'une demande d'AMM en parallèle auprès des autorités sanitaires françaises et allemandes.

(2310 signes)

[Retour tableau](#)

Année: 2023

Etude de la réponse immunologique humorale de patients greffés avec une membrane amniotique humaine cryoconservée sur la surface oculaire

GINDRAUX Florelle - Laboratoire de Nanomédecine, Imagerie, Thérapeutique EA 4662, Besançon

[Retour tableau](#)

Résumé

Introduction :

La membrane amniotique humaine (MAH) est la couche la plus interne du placenta. Histologiquement, elle est composée d'une couche épithéliale, d'une membrane basale et d'un stroma riche en cellules stromales mésenchymateuse (CSM). La MAH est couramment utilisée en ophtalmologie pour reconstruire les pertes de substance de la surface oculaire. L'immunogénicité potentielle de cette allogreffe est débattue.

Des preuves de concept élevées ont montré, en utilisant un ensemble d'anticorps spécifiques contre différents déterminants HLA de classe I, que les protéines HLA-A, -B, -C et -G ont été détectées comme fréquemment exprimées sur les cellules épithéliales (Houlihan 1995 ; Hammer 1997 ; Kubo 2001). Ainsi la MAH semble être un tissu à privilèges immunitaires et contenir certains facteurs immunorégulateurs, notamment HLA-G et le ligand Fas.

Une réaction inflammatoire histologique après greffe de hAM a été observée mais sans preuve biologique de réponse immunitaire humorale (De Röth 1940 ; Akle 1981 ; Adinolfi 1982; Gabler 2000).

En 4 ans, l'Agence française de la biomédecine a recensé 12 137 greffes de MAH. Un seul incident de biovigilance a été déclaré en 2020 en raison de la taille et de la mauvaise qualité du greffon sans entraîner d'événement indésirable.

Bien qu'une faible immunogénicité semble inhérente à la MAH, celle-ci reste controversée et non élucidée. Depuis Akle et al. en 1981, aucune étude n'a documenté la possible réponse immunitaire humorale induite par une allogreffe de MAH.

Objectif :

L'objectif de notre étude est de rechercher l'apparition d'anticorps anti-HLA à 1 et 3 mois après une greffe de MAH sur la surface oculaire.

Méthodologie :

Une étude pilote prospective dans le service Ophtalmologie du CHU de Besançon en collaboration avec l'EFS PACC est proposée.

Les critères d'inclusion sont : des patients majeurs (>18 ans) en capacité à consentir au protocole de l'étude et nécessitant une greffe de MAH sur la surface oculaire (cornée et/ou conjonctive) quelle que soit l'indication. Les patients exclus sont : les patients mineurs (<18 ans), les femmes enceintes, antécédents de greffes ou transplantation d'organes, les antécédents de transfusion de produits sanguins labiles, les

traitements par immunosuppresseurs ou immunomodulateurs et les patients dans l'incapacité de consentir ou ayant refusé le protocole d'étude.

Un échantillon de sang était prélevé le jour de la chirurgie (référence), 1 mois (détection) et 3 mois (cinétique) après la greffe de MAH afin de détecter les anticorps anti-HLA en utilisant la technique Luminex.

Le critère de jugement primaire était la présence et l'identification d'anticorps anti-HLA de classe I à 1 mois après la transplantation de MAH sur la surface oculaire.

Les critères de jugement secondaires étaient la présence et l'identification d'anticorps anti-HLA de classe I à 3 mois après la transplantation de MAH sur la surface oculaire et la description de la réaction immunitaire ou de la réaction inflammatoire pendant le suivi.

Résultats attendus :

Notre étude vise à confirmer notre hypothèse sur l'absence de réponse immunitaire après une transplantation de MAH. Le cas échéant à la documenter et expliquer sa non-incidence sur la prise de greffe et la guérison résultante.

[Retour tableau](#)

Année: 2023

PhotoCOR : Photobiomodulation du greffon cornéen

MASCARELLI Frédéric - Laboratoire Biologie, Ingénierie et Imagerie pour l'Ophtalmologie (BiiO), EA 2521, Faculté de Médecine de Saint-Etienne

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectifs : L'amélioration non seulement de la quantité mais aussi de la qualité et des greffons cornéens est une priorité médicale : ces 2 paramètres dépendent essentiellement de la survie des cellules endothéliales pendant la conservation des greffons dans les banques. Le projet PhotoCOR appliquera la photobiomodulation (PBM) qui est une technique non-invasive, peu coûteuse et sûre, au greffon cornéen pendant la perfusion sur machine (bioréacteur).

PhotoCOR a 2 objectifs :

- d'une part d'améliorer encore plus la qualité des cornées conservées en bioréacteur afin d'offrir de meilleurs greffons aux patients en attente
- d'autre part d'obtenir un meilleur modèle d'étude de la cornée pour la recherche en laboratoire, en traitant les cornées non conformes (réhabilitation).

Résultats attendus : La PBM pourrait améliorer la survie des 3 types de cellules cornéennes mais en particulier des cellules endothéliales cornéennes qui ne se renouvellent pas. Ces effets pourront être soit directs en exposant la cornée pendant sa conservation soit indirects en permettant d'identifier des molécules activées par la PBM et en les ajoutant comme additifs dans les milieux nutritifs de conservation pour en améliorer encore les performances. Ces milieux sont des dispositifs médicaux, statuts moins complexes et moins coûteux à obtenir qu'un médicament. En complément, le ou les molécules identifiées pourraient devenir des candidats médicaments pour traiter les pathologies endothéliales cornéennes (en post-projet).

Ainsi, ce traitement ouvre sur deux perspectives sans équivalent : La première est de permettre aux banques de cornée de mieux conserver les greffons, c'est-à-dire d'en délivrer plus, de meilleure qualité intrinsèque, tout en ayant la possibilité de prolonger la conservation pour faciliter leur logistique ; et la

seconde est de constituer une plateforme innovante d'expérimentation sur cornée humaine conservées au long cours.

Méthodologie : en 3 work packages et 3 ans

WP1 : Mise au point des différents paramètres de la PBM (0-9 mois)

- Analyse des effets protecteurs de la PBM sur la structure et l'homéostasie des 3 compartiments cornéens (épithélium, stroma et endothélium). Relations temps d'exposition- et dose-effet. Analyse de la survie cellulaire.

WP 2 : Identification des molécules clés et des voies de signalisation activées/inhibées au cours des effets protecteurs de la PBM (9-18 mois)

- Analyse des niveaux d'expression et d'activation/inhibition, de la localisation cellulaire et subcellulaires des molécules. Immunomarquages et protéomique.

WP3 : Détermination du rôle des molécules clés et des voies de signalisation activées/inhibés lors des effets protecteurs de la PBM, et identification d'agents pharmacologiques mimant les effets protecteurs de la PBM sur la cornée (18-36 mois)

- Effets d'inhibiteurs et d'activateurs des molécules clés et des voies de signalisation sur les rôles structuraux et homéostatiques de la PBM.

-Screening des effets en BR sans PBM, d'un nombre très restreint de composés pharmacologiques déjà en clinique et/ou de la banque Prestwick approuvés par la FDA, dont des molécules du domaine ophtalmologique, ciblant des canaux et la Na⁺/K⁺ ATPase impliqués dans l'homéostasie cornéenne.

[Retour tableau](#)

