

lors de leur fabrication, on peut régler leur résistance, leur vitesse de dégradation, leur microstructure ou leur perméabilité. En revanche, les cellules adhèrent en général mieux aux matériaux naturels.

Aujourd'hui, on cherche à combiner les avantages des deux types de matériaux. Certaines équipes fabriquent des polymères biodégradables aux activités biologiques proches de celles de matrices extracellulaires naturelles. L'un de ces polymères contient la séquence RGD, c'est-à-dire une partie d'une protéine de la matrice extracellulaire : la fibronectine. L'abréviation RGD décrit la composition en acides aminés de la séquence : arginine (R), glycine (G) et asparagine (D). De nombreux types de cellules adhèrent à la fibronectine en s'associant à la séquence RGD : les polymères qui contiennent cette séquence pourraient donc constituer un environnement plus naturel pour la croissance des cellules.

D'autres équipes tentent de créer des polymères conducteurs d'électricité, pour faire croître des nerfs artificiels. D'autres encore explorent des polymères qui gélifieraient rapidement : on constituerait ainsi des produits bioartificiels injectables qui serviraient, par exemple, à combler un os brisé.

De nombreux organes artificiels – en particulier les pancréas, les foies et les reins – ne subsisteront après greffage que s'ils sont bien irrigués par les vaisseaux sanguins. Aussi doit-on se préoccuper de stimuler la croissance de vaisseaux sanguins, ou angiogenèse, dans ces organes. Des biologistes ont déjà réussi à stimuler l'angiogenèse de tissus artificiels en recouvrant de facteurs de croissance le réseau de polymères qui porte ces tissus. On cherche aujourd'hui à mieux régler la libération et l'activité de ces facteurs de croissance, afin de former des vaisseaux sanguins aux endroits et aux moments appropriés.

Comment, enfin, conserver les tissus artificiels lors de leur transfert, du lieu de fabrication à la salle d'opération, puis pendant la transplantation ? Les chirurgiens savent que les lésions des organes transplantés apparaissent surtout pendant la reperfusion, lorsque le sang du receveur emplit l'organe greffé. La reperfusion provoque la formation de molécules

très réactives – les radicaux libres – qui endommagent les membranes cellulaires et détruisent les cellules. Pour éviter ces dégâts, les chirurgiens ajoutent au liquide de conservation des substances qui piègent les radicaux libres. On doit donc chercher des molécules protectrices adaptées aux tissus artificiels : elles éviteraient les lésions provoquées par la reperfusion ou par l'ischémie (le manque d'oxygène) qui se produit quand le débit sanguin est insuffisant. On étudie aussi les techniques de cryoconservation, afin de garder les organes et les tissus artificiels sous forme congelée, aussi longtemps que nécessaire ; on cherche à adapter les méthodes utilisées pour les cellules aux tissus et aux organes.

Évidemment, l'usage des tissus et des organes artificiels doit être réglementé. Les tissus et les organes artificiels comportent des cellules vivantes et, de ce fait, produisent des substances biologiques qui agissent comme des médicaments. L'administration américaine considère que les produits obtenus par ingénierie des tissus doivent subir la longue série des tests d'homologation appliqués aux médicaments ; la législation sur ces tissus artificiels devra être uniformisée au plan international quels que soient les obstacles à surmonter. Un jour viendra où l'on greffera des tissus et des organes artificiels, tout comme on réalise aujourd'hui des pontages coronariens.

Robert LANGER est professeur d'ingénierie chimique et biomédicale à l'Institut de technologie du Massachusetts. Joseph VACANTI est professeur de chirurgie à la faculté de médecine de l'Université Harvard et directeur du Laboratoire d'ingénierie des tissus et de fabrication d'organes de l'Hôpital général du Massachusetts.

Robert LANGER et Joseph P. VACANTI, *Tissue Engineering*, in *Science*, vol. 260, pp. 920-926, 14 mai 1993.

Robert LANGER et Joseph P. VACANTI, *Les organes artificiels*, in *Pour la Science*, novembre 1995.

M.J. LYSAGHT, N.A.P. NGUY et K. SULLIVAN, *An Economic Survey of the Emerging Tissue Engineering Industry*, in *Tissue Engineering*, vol. 4, n° 3, pp. 231-238, automne 1998.

La peau reconstruite

MARCELLE RÉGNIER • MARIE-JEANNE STAQUET

Aujourd'hui, on sait préparer des peaux de substitution qui contiennent tous les types de cellules de la peau. De plus en plus, on teste les substances cosmétiques et pharmacologiques sur ces modèles de peau.

La peau est un organe vital. Les lésions de la peau, tels les ulcères ou les escarres, sont invalidantes, et l'absence de peau sur de larges surfaces, notamment à la suite de brûlures graves, est mortelle. Pour éviter les risques de déshydratation et d'infection, tout autant que la douleur qui suivent une brûlure, on a mis au point des épidermes de culture que l'on greffe aux personnes brûlées. En laboratoire, on utilise des substituts qui ressemblent de plus en plus à la peau pour évaluer l'activité des nouvelles substances pharmaceutiques et cosmétiques. Nous avons mis au point des modèles qui ont un avantage notable : ils évitent de faire une partie des évaluations indispensables sur des modèles animaux ou sur des volontaires. Sur ces modèles, on peut suivre les cellules quasiment une à une et décrypter les mécanismes de différenciation cellulaire et de migration sous l'effet d'agents tels que le soleil ou des substances allergisantes.

Le revêtement cutané est constitué de l'épiderme, en contact avec le monde extérieur, et du derme, dont il est séparé par la membrane basale. En profondeur se trouve l'hypoderme, un tissu graisseux sous-cutané qui contient les adipocytes (les cellules qui stockent les graisses). L'épiderme est constitué de 90 pour cent de kératinocytes, cellules qui assurent le renouvellement cutané et la cicatrisation. Il contient aussi des structures spécialisées, tels les glandes sudoripares et sébacées, et les phanères (poils et ongles).

La couche cornée, superficielle, composée de kératinocytes vieillissants, dépourvus de noyaux et nommés cornéocytes, recouvre l'épiderme : elle constitue une barrière contre les agressions de

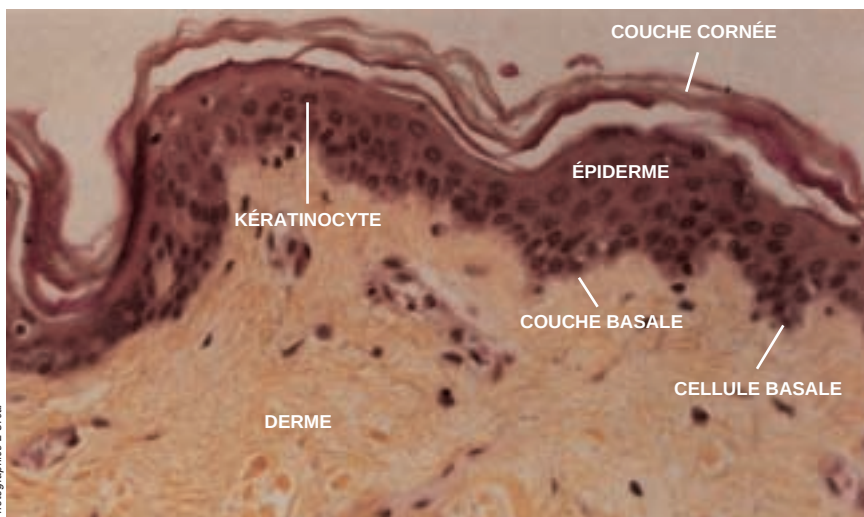
l'environnement. L'épiderme contient trois autres types de cellules : les mélanocytes produisent un pigment, la mélanine, qui détermine la couleur de la peau et protège contre les rayonnements du soleil ; les cellules de Langerhans, sentinelles immunitaires, capturent les substances étrangères et les transportent jusqu'aux lymphocytes *T* présents dans les ganglions ; les cellules de Merkel, minoritaires, sont généralement en contact avec les terminaisons nerveuses. Le derme est composé d'une matrice faite de fibres de collagène et d'élastine, synthétisées par les fibroblastes, les principales cellules de cette couche cutanée. Les vaisseaux sanguins, les glandes, les fibres nerveuses assurent à la peau ses fonctions tactiles et sensorielles.

Depuis une vingtaine d'années, on sait cultiver les kératinocytes en grande quantité : en 1975, une équipe américaine a réussi à faire survivre ces cellules en les plaçant en présence d'une couche de cellules dermiques nourricières prélevées sur des souris

et placées dans un milieu enrichi en facteurs de croissance. Elle a obtenu un épiderme stratifié, constitué de plusieurs couches de kératinocytes humains en culture. Ce substitut de l'épiderme se présente sous forme de lambeaux épidermiques (voir la figure 2).

Une patiente reconstruction

Aujourd'hui, on utilise de telles cultures de kératinocytes pour accélérer la cicatrisation des plaies des grands brûlés et des ulcères. Comme de nombreuses greffes, celles de l'épiderme sont rejetées quand les kératinocytes ne proviennent pas de la personne à traiter. Ainsi, en cas de brûlures graves, on prélève un lambeau de peau saine sur la personne brûlée, et l'on en fait la culture dans des conditions bien contrôlées pour obtenir des lambeaux d'épiderme suffisamment étendus pour recouvrir les plaies : à partir d'une biopsie de peau de deux centimètres

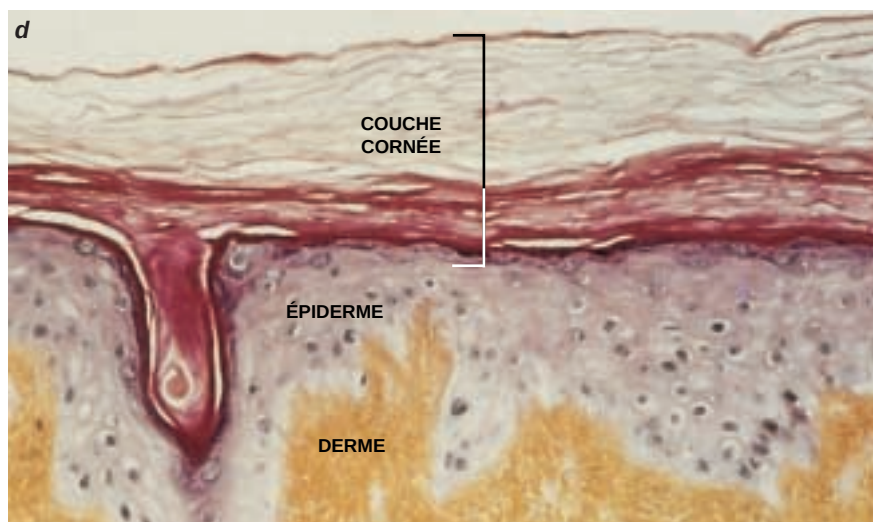
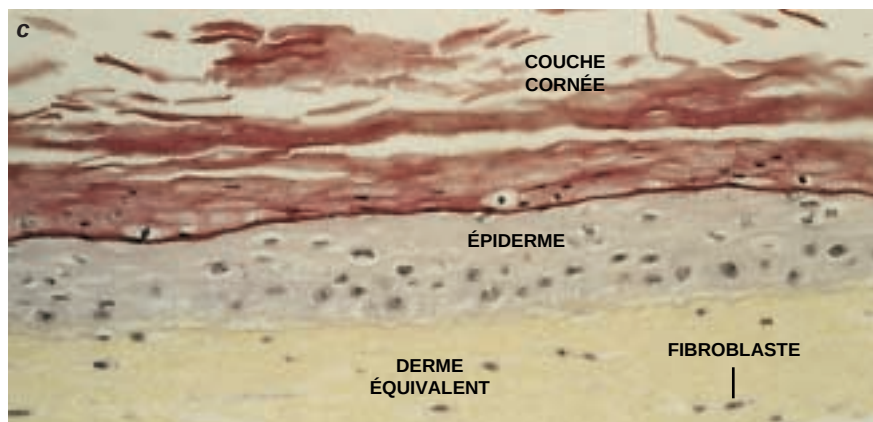
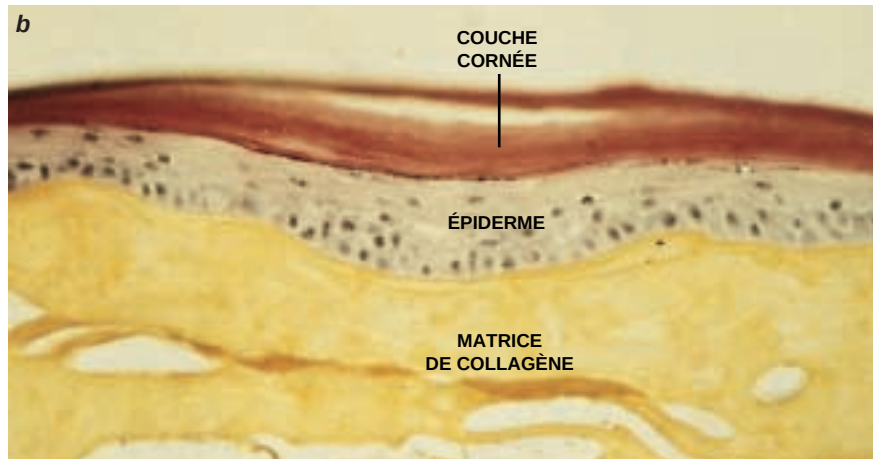
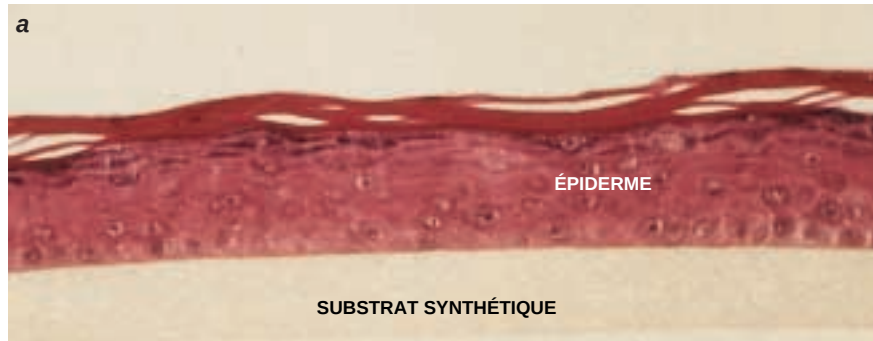


carrés prélevée sur une zone indemne, on obtient un mètre carré d'épiderme de culture (par fragments carrés de 20 centimètres de côté environ). Ces lambeaux d'épiderme, produits à l'échelle industrielle dans des conditions maximales de sécurité et de stérilité, sont utilisés par les centres de grands brûlés.

Outre son intérêt dans ces applications médicales, ce modèle de culture reste utilisé dans les laboratoires pour l'étude de la toxicité de diverses substances appliquées sur la peau et de leurs métabolites.

Toutefois, cet épiderme est incomplet, puisqu'il est, notamment, dépourvu de couche cornée. En 1979, Michel Prunieras et ses collègues des laboratoires *L'Oréal* ont préparé des épidermes reconstruits sur la membrane basale d'un derme humain : on utilise un derme privé de fibroblastes, de sorte que les cellules épidermiques, retrouvant leur substrat naturel, y adhèrent et se multiplient. En fait, les kératinocytes prolifèrent sur de nombreux substrats, à condition qu'ils y adhèrent. En outre, la culture est placée sur une grille, à la surface du milieu nutritif enrichi en substances nécessaires à la croissance cellulaire et au contact de l'air. L'épiderme obtenu est constitué d'une couche basale correctement orientée, de plusieurs couches qui ont les caractéristiques de l'épiderme normal et, en surface, d'une couche cornée compacte. La couche cornée ne se développe que si la face supérieure de la culture d'épiderme est exposée à l'air.

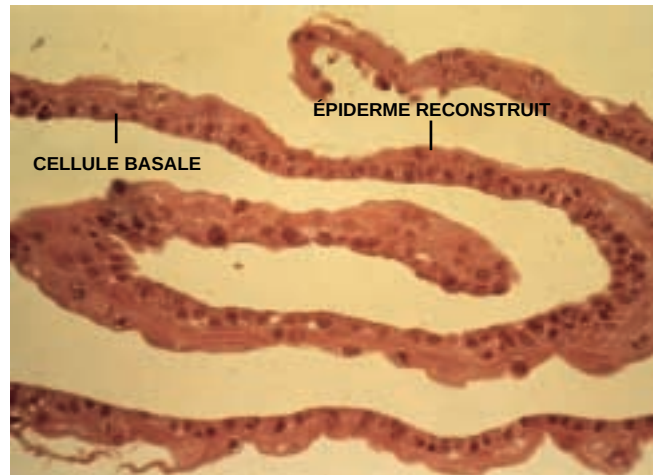
Ainsi, on dispose de modèles constitués des principales cellules de



1. LES MODÈLES DE PEAU ont été progressivement améliorés. Un des modèles contient un épiderme sur un film de collagène qui repose sur un substrat synthétique (a). Dans un autre (b), l'épiderme repose sur une matrice épaisse de collagène, dépourvue de fibroblastes (les cellules du derme). Dans un troisième modèle (c), l'épiderme se développe sur un derme équivalent contenant des fibroblastes vivants. Enfin, dans un autre modèle mis au point par les laboratoires *L'Oréal* (d), les kératinocytes se développent sur un derme humain dont on a détruit les fibroblastes : les cellules se développent correctement, même en l'absence de fibroblastes. L'aspect de ce dernier épiderme est proche de celui d'une peau normale (ci-contre, à gauche). On distingue le derme, la couche basale, l'épiderme et la couche cornée. Tous les éléments essentiels de la peau sont présents.



2. UN LAMBEAU D'ÉPIDERME (à gauche) reconstruit ressemble à un voile mince. Ici, il s'est détaché du milieu de culture (en noir). Quand on fait une coupe de ce lambeau selon l'épaisseur et que l'on colore



les cellules, on observe (à droite) une couche basale et des kératinocytes partiellement différenciés. En revanche, ce substitut de peau, l'un des premiers réalisés, est dépourvu de couche cornée et de derme.

l'épiderme. Ces cellules sont vivantes, puisqu'elles se multiplient, se différencient et migrent correctement de la couche basale à la couche cornée. Elles ont le même comportement que les kératinocytes de la peau.

Sur des coupes de tels épidermes, on peut observer la différenciation des cellules de l'épiderme et, notamment, comment les kératinocytes prolifératifs deviennent des cornéocytes dépourvus de noyau ; on étudie l'action des modulateurs de la différenciation des kératinocytes, telles la vitamine C, la vitamine D et les substances contenant de l'acide rétinoïque, en faisant varier leur concentration dans le milieu de culture.

Cette peau reconstruite, bien qu'imparfaite, imite la peau *in vivo*. On dépose sur l'épiderme reconstruit les substances à analyser et on suit leur pénétration dans le tissu de culture. Ainsi, on a montré, sur de tels modèles, que l'acide rétinoïque agit sur la prolifération et sur la différenciation des kératinocytes. Quand on l'applique sur un substitut de peau, il accélère la prolifération des kératinocytes et perturbe leur différenciation.

Pour évaluer l'efficacité des écrans solaires, on compare le comportement des kératinocytes, des fibroblastes et du collagène de plusieurs échantillons de substitut de peau sur lesquels on applique ces écrans et que l'on expose au même rayonnement : les mieux protégés présentent le moins de lésions cellulaires, et l'on en déduit lequel des écrans solaires est le plus efficace.

Aujourd'hui, des modèles d'épidermes reconstruits sont disponibles sous forme de kits, largement utilisés par certaines sociétés cosmétiques ou pharmaceutiques, pour étudier la toxicité, la tolérance et l'efficacité de nouveaux produits : on évalue leur action sur cette peau biosynthétique, au lieu de l'étudier sur des animaux.

Ces modèles d'épidermes reconstruits sont en cours de validation par plusieurs équipes internationales : ils remplaceraient les modèles animaux, devenant une nouvelle méthode d'évaluation des réactions de la peau aux molécules étudiées.

Les épidermes pigmentés

Progressivement les épidermes reconstruits ont été améliorés, notamment avec l'introduction d'un deuxième type de cellules : les mélanocytes. Extraits de l'épiderme humain normal, les mélanocytes sont cultivés et multipliés *in vitro*. Mélangés aux kératinocytes dans un rapport identique à celui de l'épiderme normal (dix kératinocytes pour un mélanocyte), les cellules sont ensemencées sur un substrat dermique, afin de former un épiderme reconstruit pigmenté. Dans ces épidermes, les mélanocytes sont localisés dans la couche basale, comme ils le sont *in vivo*. Ils transfèrent leur pigment aux kératinocytes par l'intermédiaire de leurs dendrites, de longs prolongements qui leur permettent d'atteindre des couches cellulaires éloignées et d'être en contact avec de très nombreuses cellules de l'épiderme.

Ces épidermes reconstruits pigmentés ouvrent un vaste champ de recherches, celui de l'activité des modulateurs de la mélanogenèse : on observe et on quantifie les effets éclaircissants ou pigmentants de molécules appliquées sur la peau ; on évalue l'effet des rayonnements ultraviolets sur ces épidermes reconstruits pigmentés. On a réussi à reproduire les différents phototypes cutanés, c'est-à-dire les différents types de peau et étudié l'effet protecteur du bronzage contre le rayonnement solaire. On teste l'efficacité des produits éclaircissants de la peau selon les différents phototypes.

Dans l'Unité INSERM 346, nous avons récemment proposé un modèle de « mélanome » reconstruit à l'aide de mélanocytes d'origine maligne. Il permet d'étudier comment se forment les mélanomes, comment les cellules tumorales traversent la membrane basale et comment elles envahissent le derme. D'autres modèles reconstruits à partir de kératinocytes d'origine pathologique et cultivés sur un substrat dermique ressemblent beaucoup aux lésions d'origine. Ces épidermes « pathologiques » reconstruits seront des outils précieux pour l'étude de ces maladies et pour les tests de l'efficacité potentielle des médicaments.

La peau de reconstruction a d'abord été constituée de kératinocytes, puis ces cellules ont été associées à un derme. On y a ensuite introduit des mélanocytes. Il manquait encore les cellules de défense : les cellules de Langerhans. Si elles ont été décrites par le pathologiste

allemand Paul Langerhans, il y a plus d'un siècle, leur nature et surtout leur fonction ont été élucidées récemment.

Les cellules de Langerhans appartiennent à la famille des cellules dendritiques, caractérisées notamment par des prolongements leur permettant d'être en contact avec de nombreuses cellules ; elles assurent la surveillance immunologique de la peau.

Reconstruction d'un épiderme immunosensible

Ces cellules présentatrices d'antigènes capturent les substances étrangères qui pénètrent dans la peau et les découpent en fragments qu'elles exposent ensuite à leur surface : elles sont capables de déclencher une réaction immunitaire. Elles présentent ces fragments antigéniques exogènes aux lymphocytes *T* présents dans les ganglions les plus proches. Dans l'épiderme, elles sont capables de déclencher une réaction de défense vis-à-vis d'une substance étrangère avec laquelle la personne exposée n'avait pas encore été en contact, ou

une réaction allergique en cas de sur-exposition au soleil, par exemple.

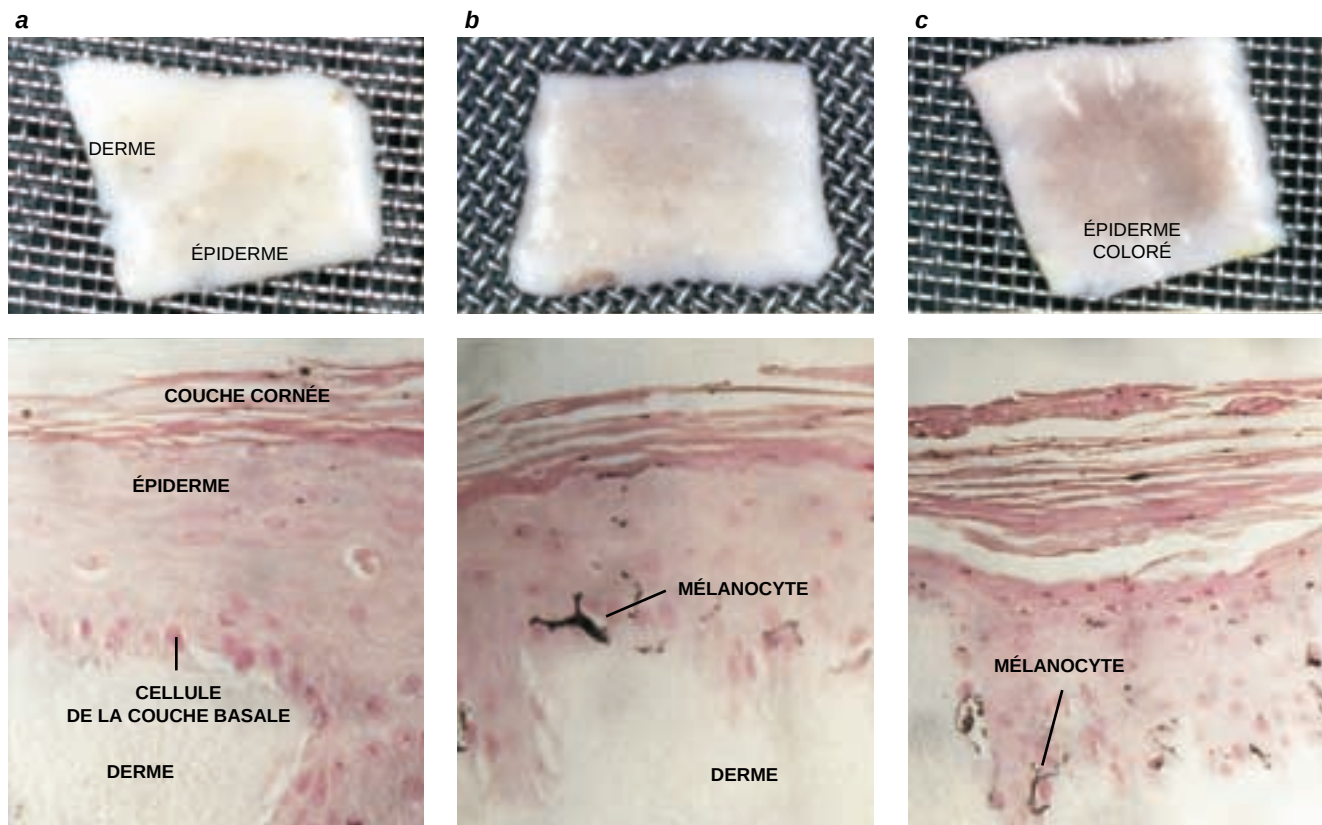
Les cellules de Langerhans sont caractérisées par l'expression, à leur surface, des molécules du soi et par la présence, dans leur cytoplasme, d'organites caractéristiques, les granules de Birbeck, petites structures en forme de bâtonnets ou de raquettes, dont la fonction reste à élucider. Les cellules de Langerhans sont responsables des rejets de greffe de peau.

Les cellules de Langerhans épidermiques se divisent peu *in vivo*, et ne se multiplient pas *in vitro*. Toutefois, en 1992, Christophe Caux et ses collègues des laboratoires Schering-Plough, à Lyon, ont découvert la présence, dans le sang du cordon ombilical et dans le sang périphérique de l'adulte, de précurseurs des cellules de Langerhans épidermiques. La multiplication *in vitro* de ces précurseurs a levé l'obstacle de la multiplication des cellules de Langerhans prélevées dans l'épiderme. En 1997, avec l'équipe suédoise d'Anika Scheynius, à l'Institut Karolinska de Stockholm, et celle de Thomas Bieber, à l'Université de

Bonn, nous avons utilisé ces cellules pour préparer un modèle d'épiderme reconstruit composé des trois principaux types de cellules de l'épiderme : les kératinocytes, les mélanocytes et les cellules de Langerhans.

Les précurseurs sont placés dans le milieu de culture avec les mélanocytes et les kératinocytes. Comme dans la peau normale, les mélanocytes se placent dans la couche basale de l'épiderme, le pigment est normalement transféré aux kératinocytes, et les cellules de Langerhans se situent dans les couches suprabasales (les kératinocytes synthétisent des facteurs qui déclenchent la différenciation des précurseurs en cellules de Langerhans).

Ces cellules de Langerhans expriment leurs marqueurs épidermiques spécifiques et les granules de Birbeck, ce qui indique que la différenciation a bien eu lieu. L'organisation de l'ensemble est orchestrée par différents facteurs libérés par les kératinocytes. Cet épiderme reconstruit imite la peau normale, de sorte que l'on peut étudier, grâce à ce modèle, le comportement des cellules de Langerhans en



3. LES ÉPIDERMES PIGMENTÉS obtenus aujourd'hui par l'introduction de mélanocytes dans les épidermes de culture reproduisent les différentes colorations naturelles de la peau. Dans ces modèles de peau,

la concentration en mélanocytes augmente du modèle *a* au modèle *c*. Ces modèles permettent l'étude des substances qui activent (effet bronzant) ou inhibent (effet éclaircissant) la synthèse de la mélanine.

Ce magazine vous intéresse !



Vous y trouverez :

- ☐ Sciences-actualités
- ☐ L'actualité en astronomie
- ☐ Les actualités biomédicales
- ☐ Nouvelles de l'environnement
- ☐ Le texte intégral des conférences du samedi
- ☐ Le commentaire des expositions permanentes et temporaires
- ☐ Le programme des activités du Palais de la découverte

Je souscris un abonnement à la

REVUE DU PALAIS DE LA
DÉCOUVERTE

Je joins mon règlement par chèque
à l'ordre du

PALAIS DE LA DÉCOUVERTE
(CCP 9065 48 J PARIS)

Tarif France : 170 F (10 numéros par an)

Tarif étranger : 200 F

par mandat international uniquement

(par avion, supplément de 80 FF)

Abonnement de soutien : 230 F

Nom (M., Mme, Mlle) :

Prénom :

Adresse :

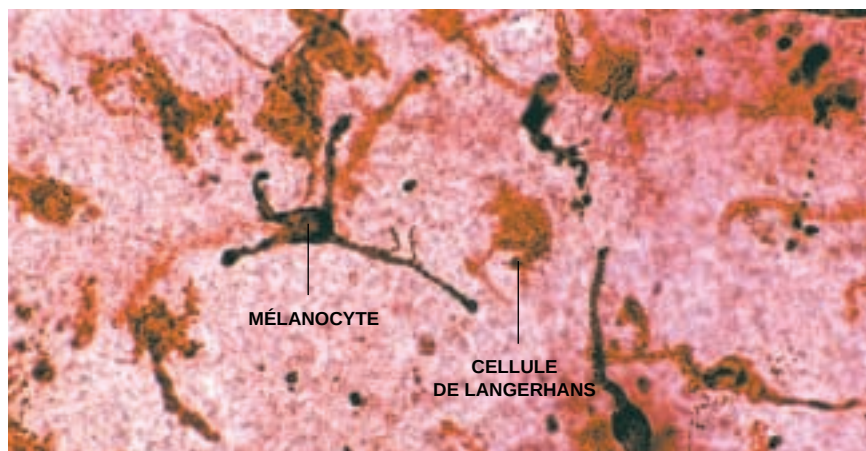
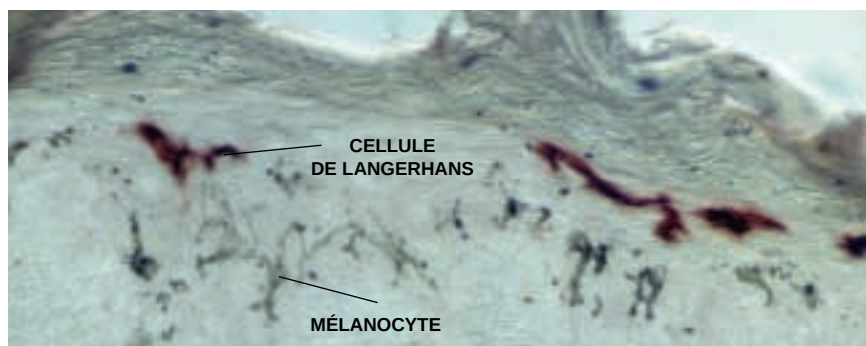
.....

Ville :

Code postal :

Profession :

à retourner avec votre règlement à
Revue du PALAIS DE LA DÉCOUVERTE
Av. Franklin-D.-Roosevelt - 75008 Paris.
Tél. : 01 40 74 80 0



4. DES MODÈLES de peau contenant les trois types de cellules de l'épiderme, c'est-à-dire les kératinocytes, les mélanocytes et les cellules de Langerhans, sont désormais disponibles (en haut, coupe verticale d'une peau reconstruite ; en bas, coupe horizontale à proximité de la face supérieure de la couche basale). Les mélanocytes se répartissent dans la couche basale, les cellules de Langerhans dans les couches suprabasales et les kératinocytes sur toute l'épaisseur de l'épiderme. Les mélanocytes sont pourvus de longs prolongements, par lesquels ils transfèrent leur pigment aux kératinocytes avec lesquels ils sont en contact.

cas d'agression chimique, microbienne, virale ou d'exposition au soleil.

On pourrait utiliser ce modèle, en cours de validation, pour prévoir le risque allergisant de certains composés, et pour réduire considérablement les tests cutanés classiques, sur l'animal.

Ainsi, la peau reconstruite est un tissu vivant, très proche du tissu d'origine. Ces modèles de peau sont utilisés dans l'évaluation de l'innocuité et de l'activité de nouveaux composés. Les épidermes reconstruits sont ajustables : on y incorpore, sur mesure, les constituants souhaités, tant dans le derme, que dans

l'épiderme. L'introduction de nouveaux éléments dans les équivalents dermiques, par exemple des cellules de la paroi des vaisseaux, apporteront de nouvelles données sur la vascularisation de la peau.

Des épidermes reconstruits sont commercialisés et remplacent les animaux dans de nombreux tests pharmacologiques ou cosmétiques. Ils ne remplaceront sans doute jamais complètement la peau humaine, mais leur validation internationale est très attendue : l'utilisation des animaux de laboratoire serait alors abandonnée, en partie, voire complètement.

Marcelle RÉGNIER travaille au Centre de recherche Charles Zviak des Laboratoires L'Oréal. Marie-Jeanne STAQUET est chargée de recherche-CNRS, dans l'Unité INSERM 346, à l'hôpital Édouard Herriot, à Lyon.

M. RÉGNIER et al., *Integration of Langerhans Cells into a Pigmented Reconstructed Human Epidermis*, in *J. Invest.*

Dermatol., vol. 109, pp. 510-512, 1997.

A. BLACK et al., *In vitro Reconstitution of a Human Capillary-like Network in a Tissue Engineered Equivalent*, in *Faseb J.*, vol. 12, pp. 1331-1340, 1998.

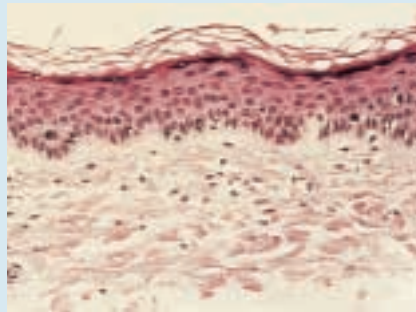
M. RÉGNIER et al., *Potential Cosmetic Applications of Reconstructed Epidermis*, in *Int. J. Cos. Sci.*, vol. 21, pp. 51-58, 1999.

Un équivalent de peau, prêt à l'emploi

Les différentes équipes qui tentent de mettre au point des modèles de peau de remplacement ont toutes pour objectif de préparer des substituts toujours plus proches de la peau naturelle, notamment avec les deux couches qui constituent la peau humaine, le derme (la couche interne) et l'épiderme (la couche externe). Ainsi est né le modèle de peau *Apligraf* des laboratoires *Organogenesis*.

Il y a une vingtaine d'années, à l'Institut de technologie du Massachusetts, Eugene Bell constata que des fibroblastes, les cellules qui forment le derme, peuvent s'infiltrer dans un gel de collagène et le transformer en une matrice fibreuse. Le collagène est un élément essentiel de la matrice extracellulaire, le «ciment» biologique qui maintient les cellules en place. En 1981, E. Bell montra que les kératinocytes, les principales cellules de l'épiderme, peuvent se développer sur ce substrat dermique, formant une peau équivalente grossière que l'on peut greffer à des rats.

Pour préparer cette peau, nous avons isolé du collagène de tendons de bovins, puis nous l'avons stérilisé chimiquement à froid pour détruire tous les micro-organismes pathogènes potentiels, sans endommager le collagène. Après avoir établi les conditions optimales de culture des kératinocytes humains, il nous fallait trouver une source de fibroblastes et de kératinocytes, et nous avons eu l'idée de collecter des prépuces de nouveau-nés, obtenus à la suite de circoncisions. Nous avons obtenu une couche dermique et à l'avons ensemencée avec des cellules épidermiques. Il nous restait à trouver comment contrôler la prolifération des kératinocytes, pour éviter que des kystes ne se forment.



Le modèle de peau *Apligraf* est constitué de deux couches, un épiderme supérieur et un derme sous-jacent.

Nous avons observé, par hasard, que, dans certaines boîtes de culture, l'épiderme se développait en adoptant une forme convexe au lieu de la forme concave habituelle. On constata rapidement que cette forme favorisait la croissance contrôlée d'une couche d'épiderme sur une couche dermique enrichie en collagène.

Entre 1990 et 1992, nous avons commercialisé une version de ce substitut de peau, qui fut utilisé pour remplacer l'expérimentation animale dans des études toxicologiques et pharmacologiques. Après avoir obtenu les autorisations requises, nous avons testé notre substitut de peau sur des ulcères variqueux, c'est-à-dire des lésions cutanées dues à une insuffisance de la circulation veineuse des membres inférieurs. Nous avons constaté que la peau de remplacement se comporte comme une greffe et qu'elle stimule directement la cicatrisation, grâce à ses propres facteurs de croissance. Les ulcères les plus graves, qui persistaient depuis plus d'un an, cicatrisèrent rapidement. Après 24 semaines, 47 pour cent des plaies les plus rebelles à la cicatrisation étaient refermées, contre 19 pour cent avec les traitements classiques, qui consistent à appuyer sur la plaie tout en la maintenant humide.

Aujourd'hui, *Apligraf* est commercialisé aux États-Unis et au Canada par les Laboratoires *Novartis Pharmaceuticals*. La peau est livrée «prête à l'emploi», et se conserve pendant cinq jours à température ambiante. Elle est en cours d'évaluation chez des personnes ayant subi des brûlures, souffrant d'ulcères diabétiques ou ayant subi une ablation chirurgicale de peau.

Nancy PARENTEAU, *Organogenesis*

L'efficacité des substituts de derme

Quand on prépare des peaux de remplacement, elles doivent conserver leurs propriétés jusqu'à leur utilisation. Pour préparer des équivalents de derme, les Laboratoires *Advanced Tissue Science* utilisent des fibroblastes isolés du derme de prépuces de nouveau-nés qui, en culture, ont une considérable capacité de multiplication (à partir d'un prépuce, on pourrait obtenir une surface de peau équivalant à plusieurs terrains de football). Des polymères servent de trame où ces cellules se répliquent. Pendant une période de croissance de deux semaines, les cellules se divisent et produisent des facteurs de croissance, du collagène et diverses protéines qui forment un derme humain fonctionnel. Même après avoir été congelé pour être transporté sur le lieu de son utilisation, le tissu, nommé *Dermagraft*, reste vivant, c'est-à-dire qu'il a la capacité de déclencher la croissance de la peau, par exemple chez les diabétiques qui ont un ulcère du pied ou chez des personnes qui ont des escarres. Pour cicatriser, ces plaies nécessitent des facteurs de croissance et diverses protéines que produit la peau naturelle.

Pour être transporté ou stocké, *Dermagraft* est conservé à -70 °C, mais le froid détruit souvent les cellules. Nous avons étudié diverses méthodes de cryopréservation



Dermagraft, constitué d'une seule couche de derme, semble efficace dans le traitement des ulcères du pied des diabétiques.

et cherché celles qui assurent la meilleure conservation de nos équivalents de derme. Nous avons constaté que, pour le traitement des ulcères du pied des diabétiques, où la cicatrisation est difficile, la moitié des cellules du derme greffé doivent être vivantes pour que la lésion cicatrise. Ces ulcères sont fréquents chez les diabétiques (15 pour cent d'entre eux en souffrent), car leurs cellules vieillissent prématurément et ne produisent plus de collagène ni les protéines de la matrice. Le derme greffé compense ces insuffisances.

L'état de santé des personnes qui ont reçu une greffe dont plus de la moitié des cellules étaient vivantes s'est notablement amélioré : 51 pour cent ont cicatrisé en 12 semaines (contre 32 pour cent des personnes traitées par des méthodes classiques). Quand la greffe ne contient pas assez de cellules vivantes, les ulcères cicatrisent mal. Des essais se poursuivent pour l'évaluation de *Dermagraft* dans le traitement des ulcères du pied des diabétiques, des ulcères variqueux, des ulcères de compression (les escarres) et de diverses plaies chroniques : le substitut de derme semble accélérer la recolonisation de la plaie par les kératinocytes.

Gail NAUGHTON, *Advanced Tissue Sciences*

Les cellules encapsulées

MICHAEL LYSAGHT • PATRICK AEBISCHER

Des implants contenant des cellules vivantes, protégées du système immunitaire par une membrane en plastique, pourraient libérer dans l'organisme des molécules thérapeutiques.

En 1994, un chirurgien place une petite capsule en matière plastique dans la colonne vertébrale d'un homme qui souffre de douleurs continues. Cette capsule de cinq centimètres de long, fine comme le fil de fer d'un trombone, contient des cellules de veau qui sécrètent des antalgiques.

Les bio-ingénieurs qui ont conçu la capsule ont prévu que les antalgiques traverseront des pores minuscules et diffuseront dans la moelle épinière ; inversement, les nutriments et l'oxygène du liquide céphalo-rachidien pénétreront dans la capsule, pour alimenter les cellules. La membrane de la capsule, en matière plastique, doit bloquer les structures plus grosses, tels les anticorps et les cellules immunitaires : ainsi le système immunitaire ne détectera pas la présence des cellules de veau et il ne les détruira pas.

Ce dispositif doit bloquer les signaux de la douleur, qui se propagent à travers la moelle épinière, jusqu'aux centres de détection du cerveau. Cependant, l'expérience de 1994 a seulement vérifié que les cellules implantées survivent et libèrent leurs antalgiques pendant plusieurs mois. Son succès et celui des expériences qui ont suivi ont ouvert la voie à une vaste étude, aujourd'hui en cours, de l'antalgie. Mieux encore, les expériences ont montré que des cellules encapsulées pourraient traiter des maladies variées.

Après cinq ans de travail, l'intérêt des thérapies par cellules encapsulées (encore nommées thérapies par immuno-isolement ou bio-hybrides) semble justifié. Après l'implant antalgique, un système bio-hybride hépatique a été testé dans plusieurs centres

médicaux. D'autres thérapies par cellules encapsulées sont testées sur l'homme et sur de grands animaux, contre divers troubles : les maladies neurodégénératives de Parkinson et de Huntington, l'hémophilie, l'anémie ou le retard de croissance.

Dans la plupart des cas, on implante des cellules encapsulées dans des sites appropriés de l'organisme, mais parfois, comme dans le cas de la thérapie hépatique, les cellules encapsulées peuvent remplir leur fonction dans un dispositif externe, analogue à un système de dialyse rénale.

La thérapie par cellules encapsulées est prometteuse, parce qu'elle évite les inconvénients de l'implantation de cellules libres. Les cellules encapsulées peuvent assurer les fonctions de cellules lésées ou perdues, ou apporter les molécules que les cellules de l'organisme ne produisent pas.

Ces cellules encapsulées ne sont pas attaquées par le système immunitaire, de sorte qu'elles évitent les traitements immunosuppresseurs : les personnes traitées ne sont alors plus prédisposées aux infections, à certains cancers (lymphomes) ou aux lésions rénales.

La protection immunitaire assurée par les membranes en plastique permet aussi l'emploi de cellules animales en médecine. Celles-ci ne peuvent pas être greffées sans capsule, car les immunosuppresseurs n'évitent pas totalement le rejet des implants provenant d'autres espèces (xéno-greffes). L'utilisation de cellules animales compenserait la pénurie de tissus humains. Enfin, contrairement aux cellules libres, des cellules encapsulées pourraient être récupérées et éliminées rapidement, si nécessaire.

Les recherches sur les cellules encapsulées sont fondées sur les travaux de William Chick, des Laboratoires de recherche Joslin. Dans les années 1970, Chick s'intéressait au traitement du diabète insulino-dépendant. Souvent, cette maladie frappe des personnes jeunes : le pancréas ne fabrique plus d'insuline, alors que, chez les individus sains, il en produit proportionnellement à la concentration en glucose dans le sang. Les injections quotidiennes d'insuline sauvent des vies, mais elles ne reproduisent pas le rythme naturel de sécrétion d'insuline : les tissus sont exposés à de trop fortes concentrations en glucose, de sorte que, progressivement, la cécité et des lésions rénales apparaissent.

Des capsules de toutes sortes

Chick pensait que des implants d'îlots (groupes de cellules) pancréatiques encapsulés auraient un triple avantage : ils produiraient de l'insuline en quantité adaptée aux besoins de l'organisme à chaque instant ; les capsules éviteraient l'administration d'immunosuppresseurs ; on pourrait implanter des cellules animales, notamment des cellules de porcs (à partir desquelles l'industrie pharmaceutique a produit de l'insuline).

Depuis le milieu des années 1970, les études sur des rongeurs ont confirmé l'intuition de Chick, mais divers obstacles techniques s'opposent encore au traitement du diabète par immuno-isolement. Décédé en 1998, Chick ne verra pas le fruit de ses efforts, mais de nombreux patients lui devront sans doute bientôt la santé.

Les divers types d'implants encapsulés ont tous les mêmes éléments de