

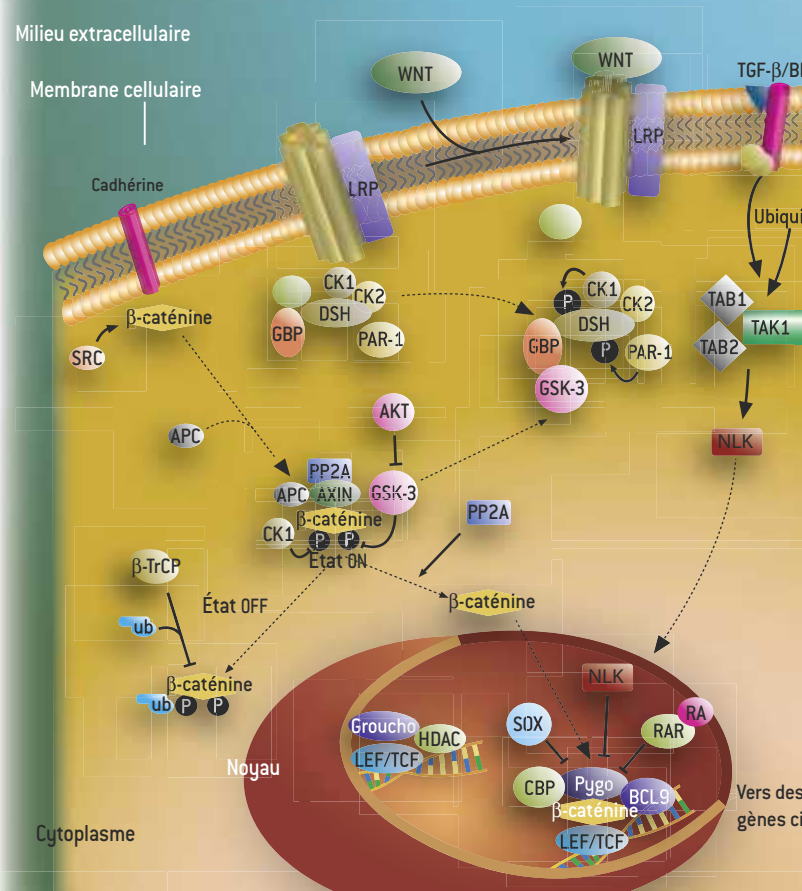
une lésion modifieraient les signaux de façon telle que la différenciation serait déclenchée. Les cellules souches peuvent subir une division symétrique engendrant deux cellules identiques à la cellule initiale ou se différencier, donnant deux cellules différenciées identiques; elles peuvent aussi subir une division asymétrique, donnant une cellule souche identique à la cellule mère et une cellule différenciée. Ainsi, le nombre total de cellules souches reflète un équilibre entre le nombre de divisions symétriques et asymétriques dans une niche. Par ailleurs, le nombre de cellules souches est également sous le contrôle de l'apoptose, la mort cellulaire programmée. Étant donné qu'une cellule progénitrice se multiplie à un rythme exponentiel, l'apoptose des cellules souches et des progéniteurs à des stades précoces a un effet notable sur le nombre final des cellules différenciées. À nouveau, l'environnement extracellulaire a un rôle essentiel dans le contrôle des populations de cellules souches, dont certaines se reproduisent et certaines sont détruites. Des facteurs extrinsèques pourraient déclencher l'apoptose de certaines cellules; de même, l'élimination de facteurs de croissance, qui seraient aussi des facteurs de survie, favoriserait la mort cellulaire.

La voie de signalisation Wnt

Ainsi, le développement des cellules souches est contrôlé par l'activité conjuguée de nombreux facteurs, dessinant un réseau de signalisation. La composition d'un tel réseau change avec le temps et avec le lieu, et les signaux qui constituent ces réseaux peuvent avoir des effets différents sur des types différents de cellules souches. Ainsi, la voie de signalisation Wnt joue un rôle crucial dans le contrôle de l'expansion de nombreux types de cellules souches. Toutefois, des résultats récents ont montré que Wnt n'est pas seulement un facteur de croissance général pour les cellules souches, mais qu'il peut aussi influencer sur le devenir des cellules souches en favorisant une voie de différenciation plutôt qu'une autre: Wnt a plus d'une corde à son arc moléculaire.

Son activité semble dépendre des propriétés intrinsèques des cellules qui peuvent changer avec le temps. Qui plus est, le contexte joue un rôle notable et détermine comment une cellule interprète les signaux Wnt, lesquels sont contrôlés par d'autres voies de signalisation qui agissent en synergie ou en opposition. On ignore encore comment une cellule souche intègre tous ces signaux et comment l'ensemble des réseaux de signalisation contrôle le fonctionnement moléculaire des cellules souches. Quoi qu'il en soit, le fait que différents types de cellules souches réagissent différemment à un signal donné sera fondamental lorsqu'il s'agira de passer à des applications thérapeutiques, dans la mesure où la différenciation doit être parfaitement contrôlée. En d'autres termes, le comportement d'une cellule souche dans le microenvironnement où elle a été transplantée peut dépendre de l'origine de la cellule. Par conséquent, il est indispensable d'étudier le comportement des différents types de cellules souches, y compris les cellules souches embryonnaires et de diverses sortes de cellules souches adultes, si l'on veut maîtriser le traitement de diverses maladies ou la réparation des lésions.

En résumé, si l'on veut mettre au point des méthodes d'ingénierie tissulaire à partir des cellules souches, on devra



4. La voie de signalisation Wnt est constituée de nombreux acteurs moléculaires. Certains sont identifiés, mais il en existe vraisemblablement encore bien davantage. Les protéines Wnt jouent un rôle essentiel dans l'expression de nombreux gènes. On a représenté ici différents acteurs de ces cascades complexes de signalisation.

préciser les mécanismes de régulation qui commandent le devenir des cellules souches et identifier les cellules souches les mieux adaptées. On devrait alors être capable d'établir des protocoles standardisés de manipulation des cellules souches. Les cellules souches, auxquelles on imposerait une voie de différenciation spécifique offriraient une source renouvelable de cellules de remplacement. Cette méthode permettrait de traiter, entre autres, la maladie de Parkinson, le diabète, les maladies cardiaques ou les lésions de la moelle épinière, mais aussi de régénérer certains tissus. Pour ce faire, nous devons pouvoir travailler sur les cellules souches (et travailler intensément), la perspective de traiter diverses maladies ou lésions par des cellules souches étant à ce prix.

Lukas SOMMER, professeur de biologie cellulaire et du développement, dirige une unité de l'Institut de biologie cellulaire de l'Institut fédéral suisse de technologie, à Zurich.

M. KLEBER et L. SOMMER, *Wnt signaling and the regulation of stem cell function*, in *Curr. Opin. Cell. Biol.*, vol. 16[6], pp. 681-687, 2004.

H. LEE et al., *Instructive role of Wnt/beta-catenin in sensory fate specification in neural crest stem cells*, in *Science*, vol. 303[5660], pp. 1020-1023, 2004.

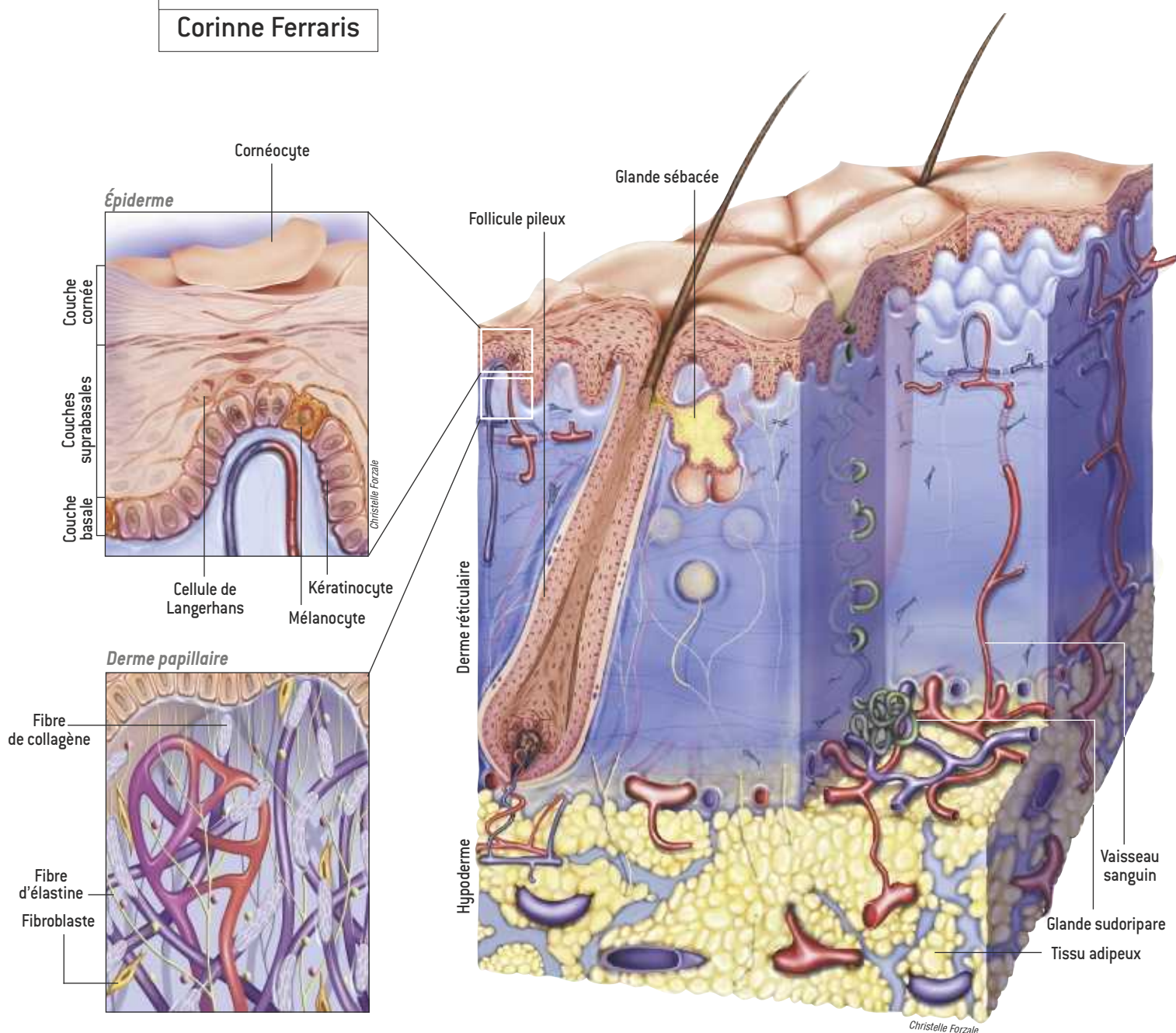
D. ZIPORI, *The nature of stem cells: state rather than entity*, in *Nat. Rev. Genet.*, vol. 5[11], pp. 873-878, nov. 2004.

O. LINDVALL, Z. KOKAIA et A. MARTINEZ-SERRANO, *Stem cell therapy for human neurodegenerative disorders-how to make it work*, in *Nat. Med., Review*, vol. 10, Suppl., pp. 42-50, juillet 2004.

La peau reconstruite

Les principales fonctions de la peau sont aujourd'hui reproduites et explorées sur des modèles de plus en plus élaborés qui contiennent les principaux types de cellules de la peau normale. Outils de tests et de recherche, les modèles de peau servent aussi à comprendre les qualités de la peau saine et à réparer la peau malade.

Corinne Ferraris



La peau est l'organe sensoriel le plus développé de notre organisme. Responsable du toucher, elle intervient dans la perception de l'environnement ; miroir de l'expression de nos émotions, elle participe à notre communication. Représentant près du sixième de notre poids corporel, elle joue, par ses multiples fonctions, un rôle essentiel dans le bon fonctionnement de l'organisme. Barrière face à l'environnement, elle protège des agressions extérieures, qu'elles soient d'origines bactériennes ou mécaniques. Elle participe à la régulation de la température du corps par la transpiration, et évite la déshydratation. Lorsqu'elle est endommagée, elle se reconstruit naturellement sauf quand une trop grande surface est lésée. Reconstruire l'épiderme, voire les différentes couches de la peau, est un enjeu majeur, notamment pour le traitement des grands brûlés. En effet, chaque année en France, 10 000 personnes sont admises dans des centres spécialisés pour les brûlures et 3 000 patients sont susceptibles de nécessiter une greffe.

L'urgence est alors de redonner à l'organisme sa barrière protectrice afin d'éviter la perte en eau et les infections. Dans le cas où les zones brûlées ne sont pas trop étendues, des autogreffes sont pratiquées : de la peau est prélevée sur des parties saines pour couvrir les plaies. Si la surface brûlée profonde est supérieure à la moitié de la surface du corps, il ne reste plus suffisamment de zones saines pour couvrir la plaie, et il faut recourir à une culture d'épiderme, dit autologue, c'est-à-dire issu du patient. Comment réalise-t-on des cultures de peau ? À partir de quelles cellules, sur quel substrat, dans quel milieu ? Les peaux reconstruites ont-elles les mêmes propriétés que la peau qu'elles remplacent ?

Toutes ces questions fondamentales qui touchent la peau de remplacement ou encore l'ingénierie tissulaire de la peau seront évoquées ici. Nous examinerons d'abord la peau normale et ses constituants, puis les étapes clés de l'histoire des peaux reconstruites, les résultats que ces modèles ont apportés sur le plan de l'étude des mécanismes biologiques impliqués dans le fonctionnement de la peau normale, sur le plan de l'étude des maladies de la peau et sur le plan clinique du traitement des grands brûlés. Nous terminerons par les espoirs que soulèvent les cellules souches de l'épiderme.

1. La peau est constituée de trois compartiments, l'épiderme, le derme et l'hypoderme, et des annexes cutanées, le poil (ou follicule pileux), la glande sébacée (qui produit le sébum) et la glande sudoripare (qui produit la sueur). Dans l'épiderme, les kératinocytes de la couche basale se divisent et se différencient en migrant vers la surface pour former la couche cornée qui protège la peau de l'environnement. En fin de parcours, les cellules de la surface (les cornéocytes) sont éliminées par le processus de desquamation. Les cellules de Langerhans sont des acteurs du système immunitaire, tandis que les mélanocytes produisent les pigments qui protègent l'ADN cellulaire contre le rayonnement solaire. Le derme confère à la peau sa résistance et sa souplesse ; il contient des fibroblastes qui synthétisent les différents constituants de la matrice extracellulaire (les fibres de collagène et d'élastine, ainsi que les protéoglycanes).

La peau représente une surface de près de deux mètres carrés et pèse environ quatre kilogrammes (sans l'hypoderme) chez un adulte de 75 kilogrammes. Elle est formée de l'épiderme et du derme sous-jacent. Sous l'influence de facteurs dermiques se développent, à partir de l'épiderme, les annexes cutanées, telles que les follicules pileux, les glandes sébacées et les glandes sudoripares. L'ensemble repose sur du tissu adipeux. L'épiderme, la couche la plus externe, est un épithélium stratifié qui se renouvelle toutes les trois à quatre semaines, et dont l'épaisseur varie de 0,05 millimètre pour les paupières à 1,5 millimètre pour la plante des pieds. Il est surtout composé de kératinocytes qui se divisent au niveau de la couche basale de l'épiderme, puis, suivant un programme de différenciation, migrent vers la surface. Au cours de la différenciation des kératinocytes, des protéines et des lipides spécifiques sont synthétisés afin que se forme la couche cornée qui confère à la peau sa fonction de barrière.

Les constituants de la peau et leur fonction

Les autres types cellulaires de l'épiderme sont les mélanocytes responsables de la couleur de la peau, les cellules de Langerhans, impliquées dans les réactions immunitaires, et les cellules de Merkel qui jouent un rôle de récepteurs mécaniques, sensibles à la pression. Les mélanocytes sont situés dans l'assise basale de l'épiderme. Ces cellules dendritiques (les dendrites sont des prolongements cellulaires) synthétisent un pigment, la mélanine, produite dans des structures spécialisées, nommées mélanosomes. Ces derniers sont transférés aux kératinocytes voisins *via* les dendrites des mélanocytes. Ils se rassemblent ensuite au-dessus du noyau des kératinocytes en formant une sorte de « casque » qui protège l'ADN contre l'action des ultraviolets. Un mélanocyte fabrique de la mélanine pour une quarantaine de kératinocytes. La protection contre les ultraviolets est fonction du type de mélanine formée : l'eumélanine présente dans les peaux de phototype foncé protège mieux que la phéomélanine majoritaire dans les peaux de phototype clair.

Les cellules de Langerhans appartiennent à la famille des cellules dendritiques. Elles assurent la surveillance immunologique de la peau. Localisées dans les couches suprabasales de l'épiderme, ces cellules présentatrices d'antigènes capturent les substances étrangères qui pénètrent dans la peau et les transportent jusqu'aux lymphocytes *T* présents dans les ganglions. Ces cellules sont notamment impliquées dans les réactions d'allergie de contact ou de sensibilisation, ainsi que dans les réactions allergiques en cas de surexposition au soleil.

Beaucoup plus épais que l'épiderme, le derme sous-jacent (un à quatre millimètres) est le tissu de soutien de la peau. Ses propriétés d'élasticité et de résistance à la pression sont dues à une matrice extracellulaire produite par les fibroblastes. Cette matrice contient surtout des fibres

de collagène et des fibres d'élastine ; elle est parcourue par de nombreux capillaires qui assurent le transport des facteurs de croissance et des nutriments jusqu'aux kératinocytes de l'épiderme.

L'aventure des peaux reconstruites

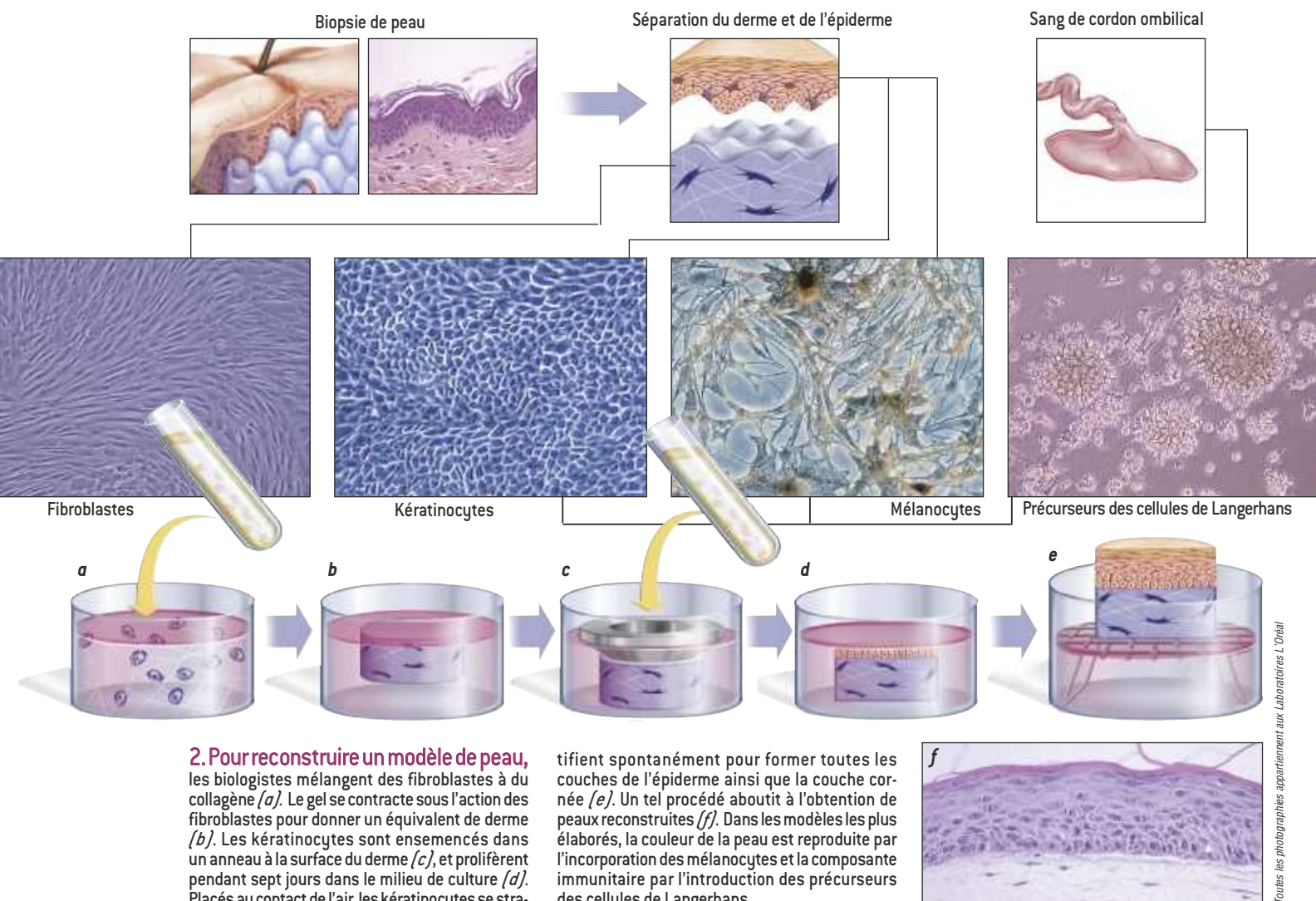
L'aventure des peaux reconstruites a commencé en 1975 avec les travaux de James Rheinwald et Howard Green, à la Faculté de médecine de Harvard, qui réussirent à obtenir un substitut d'épiderme constitué de plusieurs couches de kératinocytes. Le premier modèle d'épiderme reconstruit a été obtenu en 1979 par Michel Pruniéras et Marcelle Régner. Depuis, les modèles ont été perfectionnés par l'ajout des différents types cellulaires permettant de simuler diverses fonctions de la peau.

La peau reconstruite est synonyme de vie pour les grands brûlés, mais c'est aussi un précieux outil de recherche pour étudier la physiologie de la peau normale et les différentes maladies de peau, comme le psoriasis, ou des maladies génétiques rares, telles que *Xeroderma pigmentosum*. Ainsi recons-

truite *in vitro*, la peau imite suffisamment la peau « naturelle » pour permettre de tester des molécules et de réaliser des tests toxicologiques, autorisant ainsi le développement de méthodes alternatives aux tests sur animaux.

Quel que soit le modèle de peau reconstruite, la reconstruction suit le même schéma global : les kératinocytes sont isolés de l'épiderme ou de la gaine externe d'un follicule pileux, puis cultivés. Ils sont « ensemencés » à la surface d'un support qui est soit un derme, soit un biomatériau souvent à base de collagène. La première phase de la culture consiste à obtenir une monocouche de kératinocytes en plaçant les cellules en immersion dans le milieu de culture. Aux kératinocytes peuvent être ajoutés les autres types cellulaires de l'épiderme selon le modèle que l'on souhaite obtenir. Ensuite, les kératinocytes sont placés au contact de l'air, où ils se différencient et se stratifient spontanément pour former l'ensemble des couches de l'épiderme, ainsi qu'une couche cornée qui confère à l'épiderme reconstruit sa fonction barrière (voir la figure 2).

Une étape importante a été franchie quand on a adjoint à l'épiderme le compartiment dermique contenant des fibroblastes. L'obtention d'un équivalent de peau comprenant les deux types cellulaires majoritaires de la peau



–les kératinocytes et les fibroblastes– a ouvert des nouveaux champs d’investigation visant à mieux comprendre les interactions entre les deux compartiments de la peau. Du côté épiderme, des mélanocytes et des cellules de Langerhans ont ensuite été ajoutés aux kératinocytes. Côté derme, les biologistes ont recherché des substrats synthétiques, telles des éponges, leur permettant d’introduire non seulement des fibroblastes, mais également des cellules endothéliales qui ont la capacité de former des structures tubulaires imitant la paroi des capillaires sanguins (le derme est abondamment vascularisé).

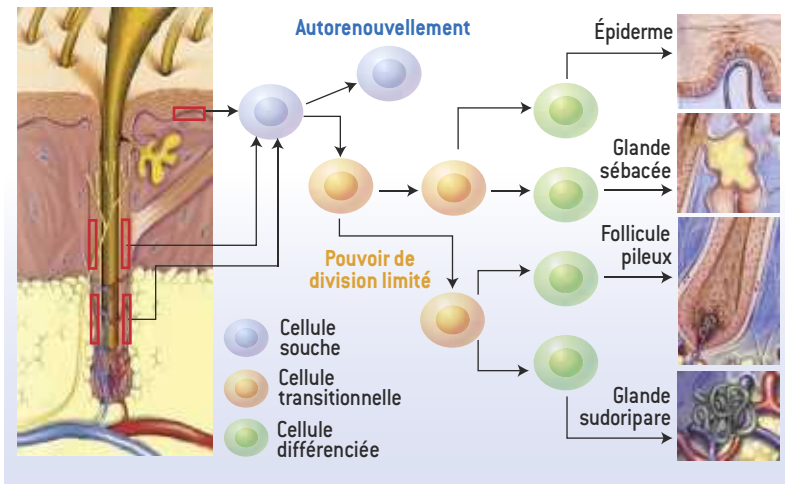
Des outils de test et de recherche

Aujourd’hui, il est possible de reproduire les différents phototypes de peau *in vitro* en sélectionnant les mélanocytes issus de biopsies cutanées d’origines ethniques différentes. Ces modèles sont utilisés pour étudier des modulateurs de la mélanogenèse (c’est-à-dire la production de mélanine par les mélanocytes), tels que l’effet d’agents éclaircissants ou pigmentants comme les ultraviolets, pour évaluer l’efficacité des filtres solaires, et pour comprendre les interactions cellulaires entre les kératinocytes et les mélanocytes.

L’introduction des cellules de Langerhans permet d’obtenir des épidermes reconstruits immunosensibles. Les cellules de Langerhans de l’épiderme ne se multiplient pas *in vitro*, de sorte qu’il est indispensable d’utiliser des précurseurs, les cellules CD34⁺ issues du sang. Une première phase de culture favorise la prolifération et la différenciation de ces précurseurs notamment en cellules dendritiques. Ensemencées avec les kératinocytes sur le substrat dermique, ces cellules dendritiques poursuivent leur différenciation en cellules de Langerhans pendant la phase de reconstruction de l’épiderme. Ces cellules sont fonctionnelles, car elles réagissent à l’application d’allergènes à la surface de l’épiderme reconstruit. Comme dans la peau normale, l’activation des cellules de Langerhans se traduit par un raccourcissement des dendrites, voire, dans certains cas, par la diminution du nombre de ces cellules au sein de l’épiderme. Un tel modèle ouvre des perspectives pour étudier les premières étapes des réactions de l’allergie de contact.

Les modèles tridimensionnels d’épiderme reconstruit ont une fonction de barrière qui permet d’imiter *in vitro* le comportement de la peau humaine en réponse à un traitement ou à un stress. Des protocoles utilisant un test simple de cytotoxicité permettent aujourd’hui de prédire le potentiel corrosif de telle ou telle molécule chimique, et le champ d’application des modèles d’épiderme reconstruit dans le domaine de la sécurité s’élargit progressivement à l’étude de la biodisponibilité des produits et du potentiel toxique des molécules pour le génome des cellules.

L’apport d’un équivalent de derme a ouvert la voie à d’autres applications, telles que l’étude de la cicatrisation, du vieillissement dû au temps et à l’exposition aux ultraviolets, ainsi que de certains cancers cutanés, tel le mélanome. Lors du vieillissement cutané dû au temps, les modifications les plus visibles interviennent dans le derme superficiel. La jonction entre le derme et l’épiderme s’aplatit, les fibroblastes se raréfient et leur capacité de synthèse du collagène (les fibres de collagène confèrent sa



3. Les cellules souches de l’épiderme sont localisées au niveau du follicule pileux (*zones rouges*) et dans la couche basale de l’épiderme. Au terme de leur différenciation, ces cellules donnent de l’épiderme, des glandes sudoripares, des glandes sébacées ou encore des follicules pileux.

résistance à la peau), de l’élastine (les fibres d’élastine sont responsables des propriétés élastiques) et des protéoglycanes (des protéines qui servent à l’hydratation du derme) diminue. Des réactions de glycation se produisent, c’est-à-dire que le sucre circulant dans le sang réagit avec les acides aminés des protéines et, en particulier, avec les fibres de collagène, établissant des ponts entre les fibres qui rigidifient la trame de collagène. L’équipe de Daniel Asselineau, des Laboratoires L’Oréal, a mis au point un équivalent dermique fabriqué avec des fibres de collagène préglyqué par du ribose (ce sucre réticule le réseau de collagène). Ce modèle permet de comprendre le rôle joué par les produits terminaux de glycation (les molécules qui ont subi une réticulation par le sucre).

L’étude du vieillissement cutané

Dans le derme, différentes sous-populations de fibroblastes coexistent : les fibroblastes papillaires localisés dans le derme superficiel, les fibroblastes réticulaires du derme profond et enfin des fibroblastes spécialisés associés aux follicules pileux. L’intégration des fibroblastes du derme superficiel et du derme profond dans les peaux reconstruites révèle qu’*in vitro* ces deux sous-populations diffèrent : elles n’ont pas les mêmes capacités de prolifération et ne synthétisent pas les mêmes molécules de la matrice extracellulaire. L’ensemble de ces travaux démontre l’intérêt de ces modèles pour la compréhension des mécanismes biologiques impliqués dans le vieillissement dû au temps.

Le vieillissement dû à l’exposition aux ultraviolets A et B est également étudié. Pendant longtemps, les ultraviolets B ont été tenus comme les seuls dangereux pour la peau. Les ultraviolets B sont responsables des coups de soleil : au sein de l’épiderme, les cellules dont l’ADN a été endommagé entrent en apoptose (déclenchent leur propre mort). Puis les biologistes ont constaté que les ultraviolets A qui pénètrent davantage dans la peau sont également nocifs, parce qu’ils altèrent directement le compartiment dermique. Par un processus de stress oxydatif (créant des radicaux

libres très réactifs), ils endommagent les fibroblastes et favorisent la synthèse de protéines responsables de la dégradation du collagène. Grâce aux modèles de peaux reconstruites contenant l'épiderme et le derme, on a montré que les kératinocytes de l'épiderme participent indirectement aux phénomènes de photovieillessement : ils sécrètent, sous l'action des ultraviolets B, des facteurs solubles qui entraînent la synthèse d'enzymes de dégradation du collagène par les fibroblastes du derme.

L'étude des maladies de la peau

Les peaux reconstruites sont aussi des modèles d'étude pour des maladies de peau, telles que *Xeroderma pigmentosum* (XP). C'est une maladie génétique rare due à une déficience de réparation des lésions induites dans l'ADN par les ultraviolets. Alors que les cellules normales réparent les lésions (mutations) induites par les ultraviolets grâce à des enzymes de réparation spécifiques, les cellules XP en sont incapables. Les patients ont une sensibilité exacerbée vis-à-vis du soleil et développent très tôt dans l'enfance des cancers cutanés sur les zones exposées. L'équipe d'Alain Sarasin, du CNRS-UPR 2169, à l'Institut Gustave Roussy, en collaboration avec l'équipe de Françoise Bernerd et D. Asselineau, des Laboratoires *L'Oréal*, ont mis au point un modèle de peau reconstruite à partir de kératinocytes et de fibroblastes de patients atteints de la maladie. Les résultats montrent des altérations spontanées de la prolifération et de la différenciation des kératinocytes. De plus, les fibroblastes de ces patients semblent interagir de façon particulière avec les kératinocytes : l'épiderme s'invagine anormalement dans l'équivalent de derme en formant des kystes qui évoquent les toutes premières étapes de la formation d'une tumeur.

Quand la peau reconstruite à partir de cellules XP est exposée aux ultraviolets, les mutations de l'ADN perdurent alors que, dans les peaux normales, elles sont réparées au bout de quatre jours. Les biologistes mènent des essais de corrections génétiques en introduisant le gène de réparation normal dans les kératinocytes XP. Ils cherchent à savoir si les peaux reconstruites avec les cellules génétiquement corrigées se comportent comme des peaux normales vis-à-vis de la réparation des lésions de l'ADN induites par les ultraviolets.

Le mélanome, dû à la prolifération des mélanocytes, est une autre pathologie de la peau dont la compréhension a

progressé grâce à l'utilisation de modèles de peau reconstruite. Le bon fonctionnement de l'épiderme, comme celui de tous les tissus, est régi par l'équilibre qui règne entre la prolifération, la différenciation et l'apoptose des cellules. Cet équilibre permet de conserver l'architecture tissulaire et en particulier de maintenir la bonne localisation des différents types cellulaires dans les tissus.

Dans la peau normale, la division des mélanocytes est sous le contrôle des kératinocytes, lesquels favorisent l'expression de protéines impliquées dans la communication intercellulaire : l'une d'elles est l'E-cadhérine. Grâce aux peaux reconstruites, il a été montré que les mélanocytes échappent au contrôle des kératinocytes en exprimant non plus l'E-cadhérine, mais la N-cadhérine, et qu'ils se mettent à communiquer avec les fibroblastes. En conséquence, les mélanocytes migrent dans le derme au lieu de rester dans l'épiderme. Cette modification du dialogue entre cellules participe au développement du processus de cancérisation.

Les applications cliniques

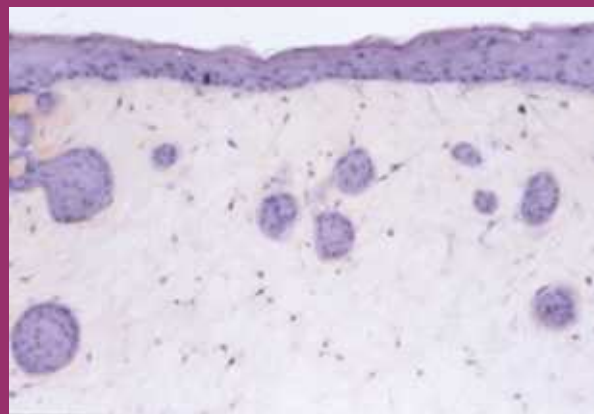
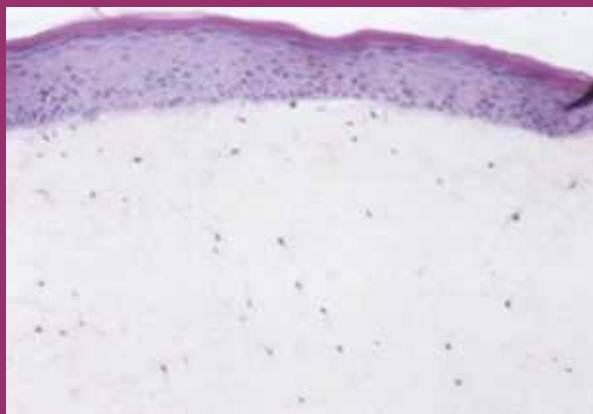
L'utilisation des épidermes reconstruits la plus remarquable est celle des épidermes utilisés pour le traitement des grands brûlés. Les premiers essais cliniques de greffes d'épithéliums autologues obtenus en culture remontent à 1979. Depuis des sociétés de biotechnologie, telles que *Genzyme Biosurgery*, ont vu le jour et produisent des épithéliums de culture pour les greffes. L'hôpital envoie au laboratoire quelques centimètres carrés d'échantillon de peau du patient, et après deux à trois semaines de culture, plus de un mètre carré d'épiderme est produit et peut être appliqué sur le patient. Cela indique que les kératinocytes se sont multipliés par 10 000. La qualité du système de culture des cellules et, en particulier, le maintien des kératinocytes souches, ceux qui conservent la capacité de régénérer l'épiderme tout au long de la vie, est primordiale pour assurer la prise des greffes et la pérennité de l'épiderme.

Le domaine d'application des peaux reconstruites en clinique concerne essentiellement le traitement des plaies chroniques, par exemple les ulcères de la jambe chez les sujets diabétiques ou les ulcères variqueux. Deux types de produits peuvent être utilisés : des cellules du patient (autologues) ou des cellules d'une autre personne (allogéniques). La Société *Organogenesis* produit de façon industrielle des peaux équivalentes allogéniques pour traiter les ulcères de jambe. Cette peau artificielle est composée d'un compartiment dermique et d'un compartiment épidermique. Appliquée sur la plaie, elle agit comme un pansement biologique. Elle libère des facteurs de croissance et stimule les propres cellules du patient : ces dernières se mettent à sécréter aussi des facteurs de croissance qui favorisent la cicatrisation et stimulent la multiplication des cellules du bord de la plaie et leur migration pour refermer l'ulcère.

La fabrication d'épiderme de culture à partir de cheveux épilés est un autre moyen intéressant d'obtention des peaux reconstruites. Les kératinocytes situés le long de la gaine externe du cheveu ont une grande capacité de multiplication, quel que soit l'âge du patient. Après plusieurs semaines de culture, il est possible d'obtenir des pétits



4. Les modèles de peau contenant des mélanocytes « bronzent » quand ils sont exposés aux ultraviolets, la coloration étant d'autant plus intense que l'exposition est prolongée (à droite).



5. Comparée à une peau reconstruite normale (à gauche), la peau reconstruite avec des cellules d'un sujet atteint de la maladie génétique

Xeroderma pigmentosum (à droite) présente des invaginations de l'épiderme dans le derme. C'est le signe des phénomènes de cancérisation précoce.

épidermes de culture qui sont greffés sur les plaies et participent à la fermeture de l'ulcère. Ces modèles de peaux reconstruites sont aussi utilisés pour traiter les plaies aiguës qui apparaissent parfois après une intervention chirurgicale visant à retirer une zone de peau cancéreuse ou un tatouage.

À ce jour, la thérapie tissulaire à partir des peaux reconstruites a permis de sauver des milliers de vies humaines dans le cas des grands brûlés et a apporté de nouvelles façons de traiter les ulcères. Toutefois, la reconstruction n'est généralement ni parfaite ni complète. C'est pourquoi les biologistes étudient de nouveaux substrats qui facilitent la culture et la transplantation des épithéliums, par exemple des films de fibrine, et qui favorisent la réorganisation et la revascularisation du derme.

Les cellules souches, matériau de reconstruction de demain ?

Dans les tissus adultes, des cellules souches pluripotentes persistent. Elles assurent la survie et le renouvellement du tissu tout au long de la vie de l'individu. Capables d'autorenouvellement, elles donnent naissance à des cellules dont la capacité de prolifération est limitée et qui sont à la source de cellules différenciées. Les cellules souches épidermiques sont localisées au niveau du follicule pileux et dans l'épiderme interfolliculaire. Elles ont un important potentiel de prolifération *in vitro*. Aujourd'hui, les cellules souches sont difficiles à isoler parce qu'elles ne sont que partiellement caractérisées : elles n'expriment quasiment pas de marqueurs de surface à l'exception de certaines protéines d'adhérence qui les maintiennent à leur place. Disposer d'une carte d'identité plus précise des cellules souches épidermiques nous permettra de les sélectionner plus aisément. Bien qu'elles soient déjà engagées dans une voie de différenciation (celle des cellules de l'épiderme), elles conservent une plasticité notable. Ainsi sous l'influence de signaux dermiques appropriés, il est possible d'orienter leur différenciation en follicules pileux, en glandes sébacées et en glandes sudoripares.

Toutefois, la multiplication de ces cellules est régulée par un mécanisme naturel, une « horloge mitotique » qui limite le nombre possible des divisions cellulaires. Cette horloge est contrôlée par la perte progressive des séquences d'ADN situées à l'extrémité des chromosomes, les télomères. L'étude de cette horloge montre que le potentiel de division

des cellules est réduit lorsque les cellules sont multipliées en culture, et l'un des principaux enjeux du futur sera de décrypter et de maîtriser l'horloge mitotique de ces cellules.

Malgré les nombreuses similitudes entre la peau humaine normale et les modèles de peaux reconstruites, certaines limites existent, et, selon l'application, les paramètres à améliorer diffèrent. Dans le cas de l'utilisation de ces modèles pour des applications *in vitro*, il est nécessaire de renforcer la fonction barrière, et d'activer les enzymes responsables de la desquamation. Dans le cas des applications cliniques, les biologistes cherchent à optimiser le support de greffe en préparant le lit de greffe avec des pansements biologiques, et à développer un substrat dermique qui aura les propriétés élastiques du derme. Bien que des améliorations aient déjà été apportées au niveau du substrat dermique, la prise de greffe est toujours délicate, et l'aspect esthétique limité. Disposer des annexes cutanées, notamment des glandes sudoripares essentielles pour la régulation thermique et des follicules pileux, est un défi à relever.

L'ingénierie tissulaire de la peau progressera quand on maîtrisera mieux l'identification, l'isolement et la multiplication des cellules souches adultes, et le rôle de leur microenvironnement. Une meilleure compréhension des mécanismes impliqués dans le vieillissement de la peau et une amélioration du traitement des grands brûlés en sont deux enjeux majeurs.

Corinne FERRARIS dirige l'équipe Nouveaux modèles du Département des peaux reconstruites des Laboratoires L'Oréal.

V. FACY et al., *Langerhans cells integrated into human reconstructed epidermis respond to known sensitizers and ultraviolet exposure*, in *J. Invest. Dermatol.*, vol. 122, pp. 552-553, 2004.

N. FORTUNEL et al., *Long-term expansion of human functional epidermal precursor cells: promotion of extensive amplification by low TGF- β 1 concentrations*, in *J. Cell Sciences*, vol. 116, pp. 4043-4052, 2003.

F. BERNERD et al., *Clues to epidermal cancer proneness revealed by reconstruction of DNA repair-deficient xeroderma pigmentosum skin in vitro*, in *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, vol. 98 (14), pp. 7817-22, 2001.

V. RONFARD et al., *Long-term regeneration of human epidermis on third degree burns transplanted with autologous cultured epithelium grown on fibrin matrix*, in *Transplantation*, vol. 70, pp. 1588-1598, 2000.

C. FERRARIS et al., *Adult epidermal keratinocytes are endowed with pilosebaceous forming abilities*, in *Int. J. Dev. Biol.*, vol. 41, pp. 491-498, 1997.

M. RÉGNIER et al., *Integration of Langerhans cells into a pigmented reconstructed human epidermis*, in *J. Invest. Dermatol.*, vol. 109, pp. 510-512, 1997.

La reconstruction des cœurs endommagés

La réparation d'une lésion due à un infarctus du myocarde est un enjeu majeur de la médecine. Aujourd'hui, les spécialistes de l'ingénierie tissulaire cardiaque parviennent à éviter la dégradation du cœur après un infarctus, chez le rat.

Smadar Cohen • Jonathan Leor

Si une peine de cœur finit en général par guérir, une lésion du muscle cardiaque due à un infarctus s'aggrave avec le temps. Contrairement au foie ou à la peau, le tissu cardiaque ne se régénère pas, de sorte que la cicatrice qui subsiste après une crise cardiaque reste une zone morte qui ne se contracte plus. En perturbant les contractions synchrones normales du muscle cardiaque, la cicatrice renforce les contraintes qui s'exercent sur les parties saines du muscle, ce qui déforme encore davantage la paroi cardiaque et entraîne la mort de nombreuses cellules. La taille de la cicatrice (l'infarctus) peut doubler en quelques mois.

Grâce aux progrès de la médecine, un nombre croissant de personnes survivent à une crise cardiaque, mais un tiers d'entre elles finissent par souffrir d'une insuffisance cardiaque qui, à terme, nécessite une transplantation, solution complexe, coûteuse, et limitée par le manque de donneurs. L'espérance de vie des personnes qui ne bénéficient pas d'une transplantation diminue progressivement, et moins de 40 pour cent d'entre eux sont encore en vie cinq ans après leur première attaque.

Si les médecins pouvaient réparer un infarctus, ou simplement l'empêcher de s'étendre, des millions de vies en seraient transformées. C'est pourquoi la fabrication de fragments de tissu cardiaque humain vivant est devenue l'un des principaux objectifs de l'ingénierie tissulaire. C'est aussi l'un des plus ambitieux. Les fibres d'un muscle cardiaque s'organisent pour former des connexions

physiques et nerveuses qui acheminent les signaux électriques et permettent aux fibres de synchroniser les contractions. La peau et le cartilage sont moins complexes à faire croître en laboratoire, car ils ne sont pas vascularisés. Pour le muscle cardiaque, la principale difficulté est de vasculariser un morceau de tissu tridimensionnel.

Bien sûr, il y a une quinzaine d'années, la perspective de « fabriquer » un tissu vivant en dehors de l'organisme tenait de la science-fiction. Pourtant, les biologistes et les ingénieurs des matériaux ont fait des progrès notables ; par exemple, nous avons mis au point un support qui favorise la croissance des cellules cardiaques et des vaisseaux sanguins dans la zone morte d'un infarctus.

À la recherche du support idéal

Un infarctus du myocarde – une crise cardiaque – survient généralement lorsqu'un important vaisseau sanguin d'alimentation du ventricule gauche du cœur est obstrué par un caillot. Une partie du muscle cardiaque, le myocarde, est privée de sang et donc d'oxygène, ce qui détruit les cellules (les cardiomyocytes) de cette zone. La dimension de l'infarctus dépend de la taille de la zone alimentée par le vaisseau sanguin avant son obstruction.

Comme les myocytes se divisent peu, les cellules survivantes ne peuvent pas repeupler la zone endommagée. Les cellules souches locales, qui agissent comme progéniteurs de nouvelles cellules dans d'autres tissus, sont inefficaces dans le cœur et incapables de réparer la lésion. Au contraire,