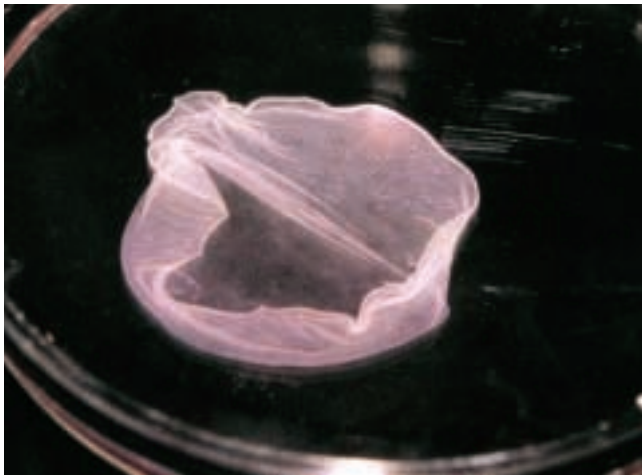
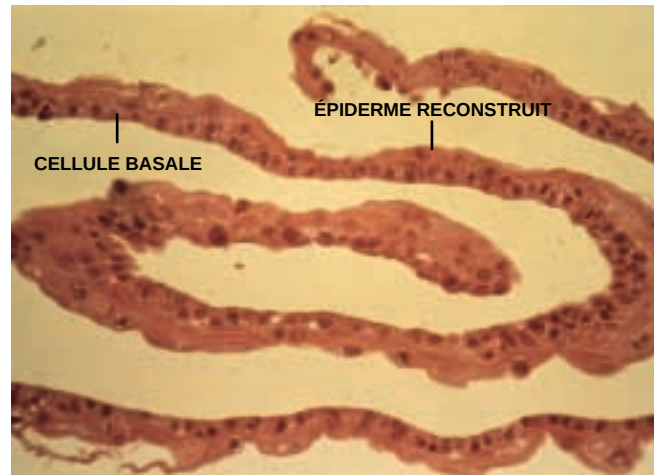




2. UN LAMBEAU D'ÉPIDERME (à gauche) reconstruit ressemble à un voile mince. Ici, il s'est détaché du milieu de culture (en noir). Quand on fait une coupe de ce lambeau selon l'épaisseur et que l'on colore



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.

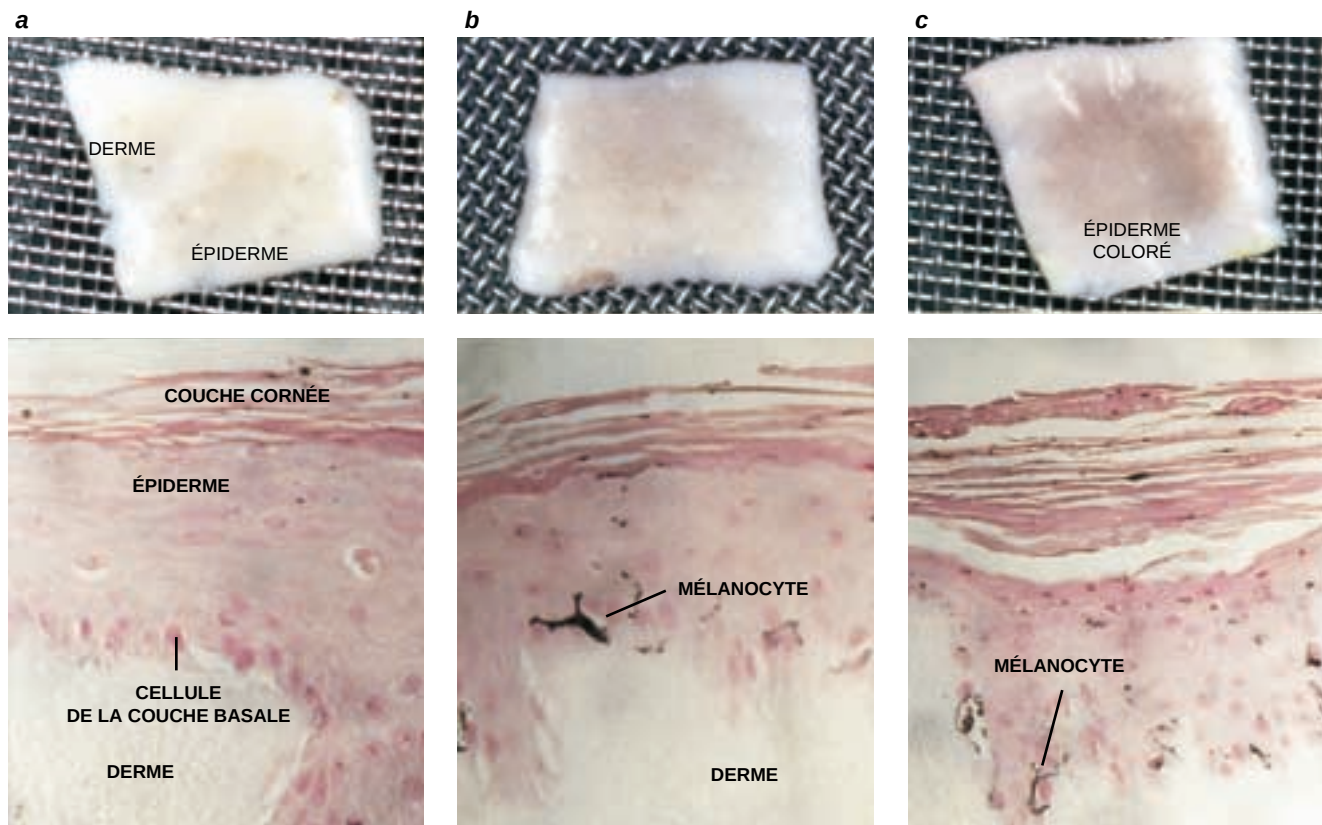
Les cellules de Langerhans sont caractérisées par l'expression, à leur surface, des molécules du soi et par la présence, dans leur cytoplasme, d'organites caractéristiques, les granules de Birbeck, petites structures en forme de bâtonnets ou de raquettes, dont la fonction reste à élucider. Les cellules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