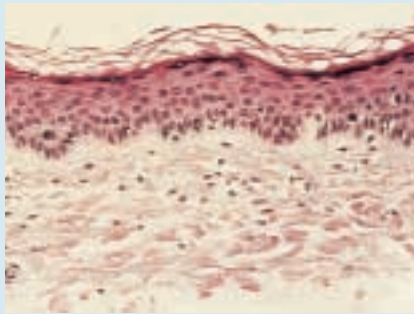


Un équivalent de peau, prêt à l'emploi

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.

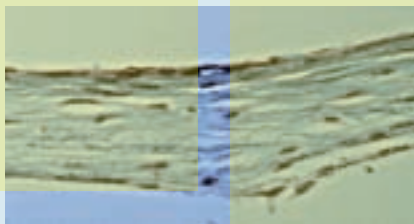
Aujourd'hui, *Apligraf* est commercialisé aux États-Unis et au Canada par les Laboratoires *Novartis Pharmaceuticals*. La peau est livrée «prête à l'emploi», et se conserve pendant cinq jours à température ambiante. Elle est en cours d'évaluation chez des personnes ayant subi des brûlures, souffrant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