

épiglotte et quelques cartilages du larynx). D'un point de vue médical, la réparation du cartilage hyalin présente un intérêt prépondérant, car les lésions du cartilage articulaire sont responsables des ostéoarthroses, notamment de la hanche (coxarthrose) ou du genou (gonarthrose). Les chondrocytes, les cellules assurant la formation du cartilage, synthétisent une matrice extracellulaire constituée d'un réseau de fibres de collagène et de protéoglycanes, des protéines qui retiennent l'eau et assurent l'hydratation du tissu. Cette matrice extracellulaire résiste à des contraintes en tension (*via* les fibres de collagène) et en compression (*via* le réseau macromoléculaire hydraté) notables. Les cellules cartilagineuses sont nourries par diffusion des éléments nutritifs à partir de la surface articulaire, puisque le cartilage est le seul tissu de l'organisme qui n'est ni vascularisé ni innervé.

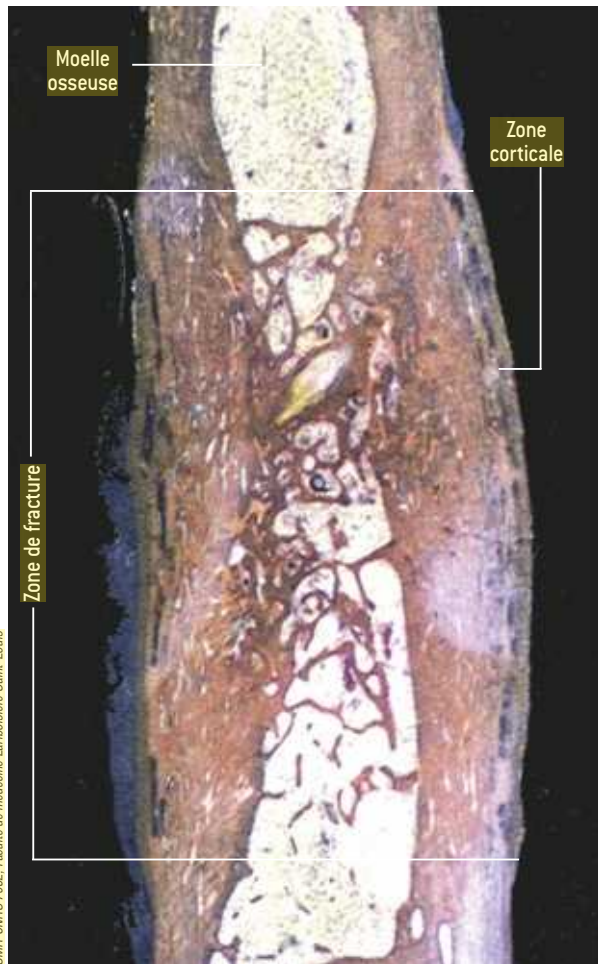
Le cartilage a un potentiel de régénération inférieur à celui de l'os, car il n'est pas vascularisé et contient peu de cellules, lesquelles migrent difficilement au sein de la matrice extracellulaire. Si des lésions de petite taille (inférieures à deux centimètres carrés) se réparent spontanément, celles de grande taille sont comblées par du fibrocartilage dont les propriétés mécaniques et la durabilité sont médiocres.

Le tissu osseux se présente sous deux architectures différentes (spongieuse ou compacte) en fonction de la localisation anatomique ; il est vascularisé et innervé. Il contient des ostéoblastes, des ostéoclastes et des ostéocytes. Les ostéoblastes, les cellules responsables de la formation du tissu osseux, sécrètent une matrice à base de collagène qui s'imprègne progressivement d'hydroxyapatite (un phosphate de calcium) conférant sa rigidité au matériau. Les ostéoclastes sont les cellules qui éliminent l'os ancien. Les ostéocytes sont des cellules osseuses matures qui emplissent les petits espaces vides de la matrice extracellulaire nommés lacunes. Ce tissu n'est pas figé : il est en perpétuel remaniement et s'adapte sans cesse aux sollicitations mécaniques. Par un processus de remodelage osseux, l'os ancien est éliminé (phase de résorption osseuse) et remplacé par de l'os nouveau (phase de formation osseuse).

Les stratégies de réparation

Une lésion osseuse se répare spontanément sauf quand elle est de grande taille. Pour accélérer la réparation du tissu osseux quand elle ne se fait pas spontanément, on dispose de plusieurs stratégies. Dans sa version la plus simple, la régénération des lésions squelettiques est guidée par des matériaux poreux recréant un environnement favorable à la repousse tissulaire. En pratique, les cellules présentes sur le pourtour de la lésion migrent au cœur du matériau, se multiplient et comblent le défaut.

Cette stratégie thérapeutique a un intérêt en clinique lorsque la lésion est de petite taille et que le tissu squelettique environnant est sain. On comble, par exemple, des pertes de substance osseuse à l'aide de céramiques poreuses à base de phosphate de calcium. Le revêtement de ces matériaux par des molécules bioactives favorise la colonisation par les cellules souches présentes dans l'environnement. Enfin, une autre solution consiste à préparer les substituts d'os ou de cartilage en laboratoire : des cellules souches sont multipliées en culture, puis mises en place sur le matériau



1. Lors d'une fracture, l'os se reconstruit d'abord de façon désorganisée, emplissant tout le canal médullaire (*en haut, os normal, en bas os en reconstruction*). Pour favoriser la consolidation de cet os de brebis, un support poreux constitué d'un bloc de corail et portant des cellules souches mésenchymateuses a été introduit dans la lésion. Lorsque la perte de substance osseuse a été consolidée, l'os s'est réarrangé, les zones corticales (périphériques) se sont homogénéisées, le canal médullaire s'est progressivement creusé et a été recolonisé par la moelle osseuse.

poreux et l'ensemble est transplanté. Cette approche aura un intérêt particulier chez les patients âgés dont le nombre de cellules souches est limité, mais encore faudra-t-il que le transplant s'intègre dans le tissu environnant.

La source des cellules souches

Pour régénérer les tissus squelettiques, on pourrait théoriquement utiliser toute cellule souche ayant un fort potentiel de prolifération et capable de se différencier en cellules squelettiques. Cependant, alors que la vie du patient n'est pas menacée, il paraît difficile d'envisager l'utilisation de cellules souches issues d'un donneur nécessitant l'administration à vie d'immunosuppresseurs pour éviter le rejet des cellules greffées.

C'est pourquoi, dans ce cas, les cellules souches embryonnaires ne semblent pas une solution réaliste à court terme. Néanmoins, le développement de banques de cellules souches embryonnaires, compatibles avec les antigènes du soi existant dans la population, pallierait cette difficulté. Cette approche éviterait les risques d'incompatibilité immunologique et garantirait un approvisionnement suffisant en cellules souches dans les cas d'urgence. Toutefois, jusqu'à présent, la majorité des études ont été effectuées avec des cellules souches adultes autologues (issues du patient lui-même), car elles évitent les problèmes de compatibilité immunologique.

Où peut-on prélever ces cellules chez le patient ? Le tissu source idéal serait riche en cellules souches capables de proliférer de se différencier en cellules squelettiques, et leur prélèvement serait peu invasif. Bien que l'on ait démontré la présence de cellules souches squelettiques dans de nombreux tissus, dont le tissu adipeux ou le muscle, la moelle osseuse reste la principale source de cellules souches pour la médecine régénératrice du squelette.

La moelle osseuse est une source majeure de cellules souches pluripotentes hématopoïétiques (cellules primitives ayant un haut pouvoir de prolifération et de différenciation vers toutes les lignées de cellules sanguines), mais c'est aussi un réservoir de cellules souches non hématopoïétiques, les cellules souches mésenchymateuses. Ces cellules contribueraient à la régénération des tissus d'origine mésenchymateuse (os, cartilage, tendon, tissu adipeux, etc.). On les isole assez facilement à partir d'un prélèvement de moelle osseuse, et on sait les amplifier : après quelques semaines de culture, on obtient une centaine de millions de cellules à partir d'un prélèvement de moelle osseuse. Cependant, elles ne prolifèrent pas de façon infinie et après 30 à 40 divisions, elles meurent. Lorsqu'elles sont utilisées sous forme d'allogreffes, elles ne semblent pas engendrer de réactions de rejet, car elles auraient des propriétés immunosuppressives. De ce fait, on pourrait envisager la constitution de banques de cellules souches mésenchymateuses

Des cellules souches au cartilage

Après avoir obtenu une quantité suffisante de cellules souches, encore faut-il les assembler en une structure tridimensionnelle capable, après transplantation, de se transformer en un tissu fonctionnel. Toutefois, l'enjeu semble davantage d'orienter les cellules vers le phénotype désiré (os ou cartilage) que d'organiser ces cellules en un tissu dont

la micro-architecture serait identique à celle du tissu à réparer : l'étape d'organisation des cellules s'effectuera après transplantation chez le patient et dépendra surtout du biomatériau où les cellules auront été ensemencées et de l'environnement biomécanique du transplant.

La cascade biologique conduisant, lors du développement embryonnaire, à la formation de cartilage chez l'embryon à partir de cellules souches est complexe. Elle est régulée par des molécules bioactives (de nombreux facteurs de croissance) et par l'environnement biophysique (concentration en oxygène, sollicitations mécaniques). Les protocoles expérimentaux utilisés pour déclencher la différenciation des cellules souches en chondrocytes recréent *in vitro* une version simplifiée de leur environnement naturel. L'engagement vers la voie chondrocytaire est amorcé par le facteur de croissance TGF β 1 ajouté au milieu de culture. Certains protocoles de culture stimulent la différenciation en chondrocytes par le biais de différents facteurs et en imposant des sollicitations mécaniques proches de celles subies par le cartilage ou une faible concentration en oxygène (le cartilage n'étant pas vascularisé, les cellules sont exposées à une concentration en oxygène très inférieure à celle du reste de l'organisme).

Toute cellule mésenchymateuse produit spontanément en culture des macromolécules s'auto-assemblant en une matrice extracellulaire, laquelle interagit directement avec la cellule et module ses propriétés d'adhérence, de migration, de prolifération, d'apoptose (la mort cellulaire programmée) et de différenciation. Hélas, l'essentiel de cette matrice se dissout rapidement dans le milieu de culture et la cellule doit sans cesse recommencer son travail de Sisyphe et reconstruire son environnement. Afin de pallier cette difficulté, les cellules sont, de plus en plus souvent, cultivées sur des hydrogels qui retiennent les macromolécules synthétisées permettant aux cellules d'élaborer progressivement un environnement macromoléculaire de type cartilage et de renforcer leur identité. Ces hydrogels d'origine naturelle ou synthétique ont aussi pour rôle de faciliter l'intégration à la lésion du cartilage préparé en laboratoire. Plusieurs équipes recherchent actuellement des supports injectables offrant des niches propices à la différenciation des cellules souches en chondrocytes, par exemple des matrices qui polymérisent *in situ* sous l'action d'ultraviolets.

Aujourd'hui, on sait obtenir à partir de cellules souches mésenchymateuses des cellules exprimant les marqueurs spécifiques des chondrocytes. Il faudra vérifier que les cellules cartilagineuses obtenues expriment uniquement les marqueurs chondrocytaires et n'ont pas une « double identité » (par exemple os-cartilage) et que les cellules gardent leurs caractéristiques de chondrocytes après transplantation. Malgré ces difficultés techniques, et même s'il n'existe pas encore d'études cliniques publiées prouvant l'efficacité de cette stratégie thérapeutique, l'obtention de chondrocytes à partir de cellules souches adultes est la voie d'avenir, car, à terme, elle permettrait l'obtention aisée d'un nombre important de cellules fonctionnelles à partir d'un prélèvement limité.

La transplantation de chondrocytes autologues est aujourd'hui la seule stratégie thérapeutique utilisée pour régénérer le cartilage en clinique. Le chirurgien prélève sous arthroscopie des petits copeaux de cartilage articulaire au niveau de zones non portantes (généralement en périphérie)