

## **Activation du tissu adipeux et des cellules souches mésenchymateuses : augmentation des propriétés anti-inflammatoires.**

La médecine régénérative est un domaine émergent qui combine les connaissances de plusieurs disciplines dans le but de guérir une fonction altérée dans le corps. Généralement, elle est décrite comme la création de tissus qui peuvent réparer, remplacer ou restaurer les structures biologiques et/ou les fonctions qui pourraient manquer à cause de malformations congénitales, du vieillissement, de maladie ou destruction (Haseltine, 2003 ; Gutmann et coll. 2005, Greenwood et al., 2006).

Les cellules souches mésenchymateuses (CSM) sont des cellules multipotentes, auto-renouvelables, ayant la capacité de se différencier *in vitro* en cellules d'origine mésenchymateuse, y compris ostéoblastes, adipocytes et chondrocytes et pouvant engendrer os, graisse, cartilage et tissus musculaires *in vivo* (Pittenger et coll., 1999).

Des études récentes ont montré que la potentialité de la régénération tissulaire peut être améliorée à l'aide de cellules souches humaines dérivées du tissu adipeux (hADSCs) (voir Gimble et al., 2011)

La fréquence des cellules souches semble être considérablement plus élevée dans le tissu adipeux que dans d'autres tissus tels que la moelle osseuse (Bieback et al., 2004). En effet, la greffe autologue du tissu adipeux est une procédure thérapeutique établie, utilisée pour la réparation d'une variété de lésions tissulaires.

Afin de minimiser les divergences et les incohérences, et de permettre la comparaison des données générées par des laboratoires différents, la Société Internationale de Thérapie Cellulaire (ISCT) a fourni des lignes directrices pour la définition de MSCs basées sur (a) leurs propriétés d'adhérence au plastique (b) l'immunophénotype et (c) leur potentiel de différenciation multipotent.

En outre, plusieurs rapports publiés récemment attestent que les cellules souches humaines dérivées du tissu adipeux (hADSCs) sont capables, sous stimulation appropriée, de se différencier en d'autres types de cellules, telles que des neurones, des cardiomyocytes, des hépatocytes et des cellules pancréatiques (Schäffler et coll., 2007 ; Strem et coll., 2005) et possèdent un potentiel clinique de vasculogénèse (Madonna et al., 2009), d'ostéogénèse (Shenaq et al., 2010) et de modèles de réparation neuronale (Wakabayashi et al., 2010).

Il y a lieu de penser que des forces mécaniques soient d'une importance clé dans l'embryogenèse, le remodelage tissulaire et le comportement mitotique et motile des cellules (Vogel et coll., 2006). Les cellules détectent et répondent à la force appliquée en externe par les forces exercées par la matrice cellulaire et au contact de cellule à cellule. Les canaux ioniques activés par étirement, les facteurs de croissance, les filaments du cytosquelette, les matrices extracellulaires, les adhérences focales et les tyrosines kinases semblent impliqués dans la transformation des forces mécaniques en signaux biochimiques au sein des cellules (mécano-transduction), de sorte que ces événements en aval finissent par apporter des messages clés au noyau. (El Haj et al., 1999, Na et al., 2008 ; Walker et al., 2000, Venkatesan Iyer et al., 2012, 2013 de Chen et al. Al 2013). De plus, il est postulé que l'utilisation de forces mécaniques joue un rôle majeur dans les applications de génie tissulaire et les stratégies de médecine régénératrice. (Wang et al 2009; El Haj et al, 1999).

Les découvertes ici rapportées indiquent une forte corrélation entre les observations faites ci-dessus et les propriétés anti-inflammatoires connues des cellules mésenchymateuses (CSM) humaines cultivées. Des propriétés ainsi induites peuvent être activées en fonction de la force et du temps. Les ARN messagers de facteurs inflammatoires pro- et anti2 ont été évalués dans le tissu lipoaspiré obtenu d'un même groupe de patients et soumis à des forces mécaniques, le tissu lipoaspiré non traité servant de contrôle. Les résultats montrent que l'application d'une force atténue l'expression typique des cytokines inflammatoires du tissu adipeux. Différemment, les facteurs anti-inflammatoires sont très nettement augmentés.

Une telle modification de l'état inflammatoire tissulaire, induite mécaniquement, pourrait avoir des implications bien plus vastes, ainsi que l'expression considérablement améliorée d'autres facteurs le suggère. Nous montrons également que l'activation mécanique fonctionne aussi sur des échantillons lipoaspirés cryopréservés pendant plusieurs semaines.

### COMPLEMENT D'INFORMATION.

Après 21 jours de culture, environ 50% des cellules souches humaines adipeuses dérivées du tissu adipeux ( hADSCs) obtenues à partir du tissu adipeux activé mécaniquement ont formé de grandes sphéroïdes atteignant un diamètre moyen de 100  $\mu\text{m}$  et formant , toujours en 21 jours, des sphères d'une moyenne de 100, 95  $\pm$  10, 89  $\text{cm}^2$  (figure 11).

On a utilisé des cellules précurseurs neurales adultes de souris, obtenues à partir de la zone sub-ventriculaire comme contrôle positif : dans ce cas, la formation des sphères a été manifestement supérieure (figure 11), **les hADSCs normales ne forment pas de neurosphères.**

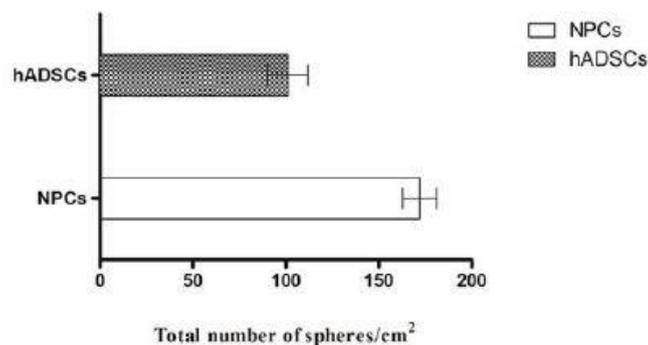
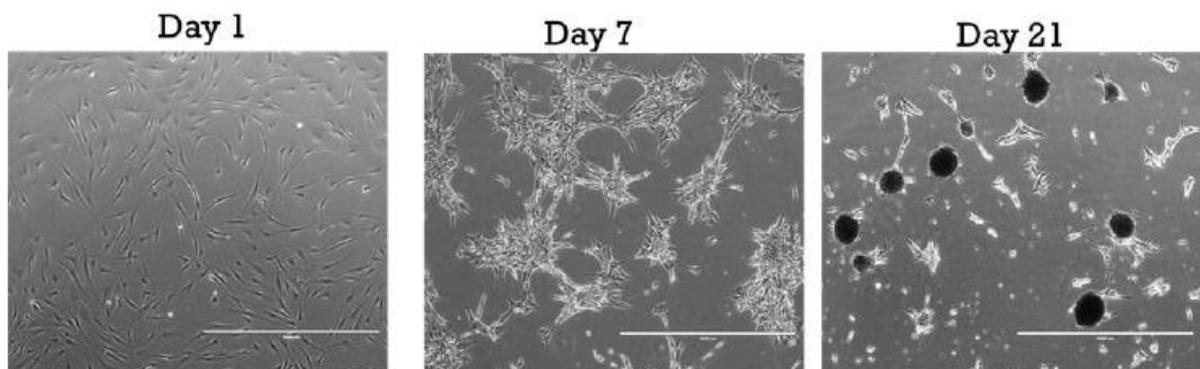


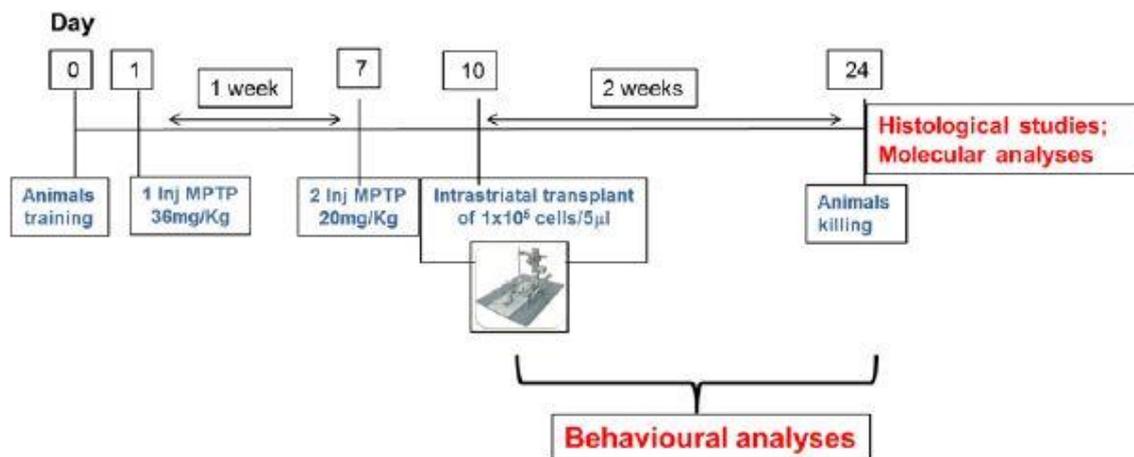
Figure 11. Après avoir été cultivées dans un milieu de neurosphères pendant 21 jours, les hADSCs provenant du tissu adipeux mécaniquement activé ont formé des sphéroïdes.

2. Le tissu adipeux activé mécaniquement et les hADSCs dérivées de ce tissu réduisent la production et la libération de IL-1 bêta, TNFalpha et IL-6 dans des cellules traitées au LPS. Autrement, l'agent anti-inflammatoire est augmenté malgré la présence de LPS. Aucun effet n'est observé pour les hADSCs dérivées de lipoaspirate.

3. Les hADSCs provenant de tissu adipeux activé mécaniquement sont cultivées pour l'obtention d'une action anti-inflammatoire significativement plus élevée que celle des hADSCs de graisse normale obtenue par liposuction.

**4. Les hADSCs du tissu adipeux activé mécaniquement favorisent rapidement la restauration de la fonction et de la coordination motrice dans le modèle expérimental de la maladie de Parkinson dans les 5 jours suivant leur administration.**

Le schéma ci-dessous décrit brièvement l'approche suivie dans l'étude



La récupération des dysfonctionnements moteurs a été étudiée au moyen d'une grille horizontale et verticale

Tests :

Neurotoxicité médiée par la microglie et le rôle des hADSCs greffées dans la baisse de la régulation du processus inflammatoire

La production d'IL-6 médiée par le MPTP dans la glie est neutralisée dans toutes les zones cérébrales cibles de l'innervation dopaminergique par les hADSCs dérivées de graisse activée et transplantées seulement dans le striatum.

**5. Chez la souris, le tissu adipeux activé mécaniquement, appliqué sur le cordon médullaire au site de la blessure, efface la dégénérescence secondaire après une lésion expérimentale traumatique de la moelle épinière et favorise une reprise remarquable de la fonction des membres postérieurs.**