

UNIVERSITE TOULOUSE III – PAUL SABATIER
FACULTE DE CHIRURGIE DENTAIRE

ANNEE 2019

2019 TOU3 3009

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE

Présentée et soutenue publiquement

par

Charlotte VAILLANT

le 14 Février 2019

**CELLULES STROMALES MESENCHYMATEUSES ISSUES DES
DENTS TEMPORAIRES EXFOLIEES :
CARACTERISATION ET INTERETS THERAPEUTIQUES**

Directeur de thèse : Professeur Philippe KEMOUN

JURY

| | |
|------------------|--------------------------------|
| Président : | Professeur Philippe KEMOUN |
| 1er assesseur : | Docteur Marie GURGEL-GEORGELIN |
| 2ème assesseur : | Docteur Paul MONSARRAT |
| 3ème assesseur : | Docteur Mathieu LEMAITRE |



Faculté de Chirurgie Dentaire

➔ DIRECTION

DOYEN

Mr Philippe POMAR

ASSESEUR DU DOYEN

Mme Sabine JONNIOT

CHARGÉS DE MISSION

Mr Karim NASR

Mr Olivier HAMEL

Mr Franck DIEMER

PRÉSIDENTE DU COMITÉ SCIENTIFIQUE

Mme Cathy NABET

RESPONSABLE ADMINISTRATIF

Mme Muriel VERDAGUER

➔ HONORARIAT

DOYENS HONORAIRES

Mr Jean LAGARRIGUE

Mr Jean-Philippe LODTER

Mr Gérard PALOUDIER

Mr Michel SIXOU

Mr Henri SOULET

➔ ÉMÉRITAT

Mr Damien DURAN

Mme Geneviève GRÉGOIRE

Mr Gérard PALOUDIER

➔ PERSONNEL ENSEIGNANT

Section CNU 56 : Développement, Croissance et Prévention

56.01 ODONTOLOGIE PEDIATRIQUE et ORTHOPEDIE DENTO-FACIALE (Mme BAILLEUL- FORESTIER)

ODONTOLOGIE PEDIATRIQUE

Professeurs d'Université : Mme BAILLEUL-FORESTIER, Mr. VAYSSE

Maîtres de Conférences : Mme NOIRRI-ESCLASSAN, Mme VALERA, Mr. MARTY

Assistants : Mme BROUTIN, Mme GUY-VERGER

Adjoint d'Enseignement : Mr. DOMINE, Mme BROUTIN,

ORTHOPEDIE DENTO-FACIALE

Maîtres de Conférences : Mr BARON, Mme LODTER, Mme MARCHAL, Mr. ROTENBERG,

Assistants : Mme ARAGON, Mme DIVOL,

56.02 PRÉVENTION, ÉPIDÉMIOLOGIE, ÉCONOMIE DE LA SANTÉ, ODONTOLOGIE LÉGALE (Mr. HAMEL)

Professeurs d'Université : Mr. SIXOU, Mme NABET, Mr. HAMEL

Maître de Conférences : Mr. VERGNES,

Assistant: Mr. ROSENZWEIG,

Adjoints d'Enseignement : Mr. DURAND, Mlle. BARON, Mr LAGARD, Mme FOURNIER

Section CNU 57 : Chirurgie Orale, Parodontologie, Biologie Orale

57.01 CHIRURGIE ORALE, PARODONTOLOGIE, BIOLOGIE ORALE (Mr. COURTOIS)

PARODONTOLOGIE

Maîtres de Conférences : Mr. BARTHEI, Mme DALICIEUX-LAURENCIN, Mme VINEL

Assistants : Mr. RIMBERT, Mme. THOMAS

Adjoints d'Enseignement : Mr. CALVO, Mr. LAFFORGUE, Mr. SANCIER, Mr. BARRE, Mme KADDECH

CHIRURGIE ORALE

Maîtres de Conférences : Mr. CAMPAN, Mr. COURTOIS, Mme COUSTY,
Assistants : Mme COSTA-MENDES, Mr. BENAT,
Adjoints d'Enseignement : Mr. FAUXPOINT, Mr. L'HOMME, Mme LABADIE, Mr. RAYNALDI,

BIOLOGIE ORALE

Professeur d'Université : Mr. KEMOUN
Maîtres de Conférences : Mr. POULET, Mr BLASCO-BAQUE
Assistants : Mr. LEMAITRE, Mr. TRIGALOU, Mme. TIMOFEEVA, Mr. MINTY
Adjoints d'Enseignement : Mr. PUISSOCHET, Mr. FRANC, Mr BARRAGUE

Section CNU 58 : Réhabilitation Orale

58.01 DENTISTERIE RESTAURATRICE, ENDODONTIE, PROTHESES, FONCTIONS-DYSFONCTIONS, IMAGERIE, BIOMATERIAUX (Mr ARMAND)

DENTISTERIE RESTAURATRICE, ENDODONTIE

Professeur d'Université : Mr. DIEMER
Maîtres de Conférences : Mr. GUIGNES, Mme GURGEL-GEORGELIN, Mme MARET-COMTESSE
Assistants : Mme. RAPP, Mr. MOURLAN, Mme PECQUEUR, Mr. DUCASSE, Mr FISSE Mr. GAILLAC,
Adjoints d'Enseignement : Mr. BALGUERIE, Mr. MALLET

PROTHÈSES

Professeurs d'Université : Mr. ARMAND, Mr. POMAR
Maîtres de Conférences : Mr. CHAMPION, Mr. ESCLASSAN, Mme VIGARIOS, Mr. DESTRUHAUT
Assistants : Mr. EMONET-DENAND, Mr. LEMAGNER, Mr. HENNEQUIN, Mr. CHAMPION, Mme. DE BATAILLE
Adjoints d'Enseignement : Mr. FLORENTIN, Mr. GALIBOURG, Mr. GHRENASSIA, Mme. LACOSTE-FERRE, Mr. GINESTE, Mr. LE GAC, Mr. GAYRARD, Mr. COMBADAZOU, Mr. ARCAUTE, M. SOLYOM

FONCTIONS-DYSFONCTIONS, IMAGERIE, BIOMATERIAUX

Maîtres de Conférences : Mme JONJOT, Mr. NASR, Mr. MONSARRAT
Assistants : Mr. CANCEILL, Mr. OSTROWSKI, Mr. DELRIEU,
Adjoints d'Enseignement : Mr. AHMED, Mme MAGNE, Mr. VERGÉ, Mme BOUSQUET

Mise à jour pour le 01 décembre 2018

REMERCIEMENTS

A mon grand frère, Romain, mon protecteur, qui a toujours été bienveillant à mon égard. Les tensions que nous avons connues ne donnent que plus de valeur à l'amour que l'on se porte et je ne pourrais jamais assez te remercier de tout ce que tu m'as apporté depuis ma naissance. C'est avec une immense fierté et beaucoup de tendresse que je pense à toi.

A mes parents, Pascaloune et Jacot, à qui je souhaite témoigner mon plus profond respect. Vous m'avez soutenue à chacune des épreuves de ma vie, vous m'avez tout donné, l'amour, l'attention, la tendresse, le réconfort et bien plus encore. Vous êtes des parents et des personnes formidables, les mots me manquent pour vous dire à quel point je vous aime.

A ma mamie, je n'oublierai jamais tout ce que tu as fait pour nous. Tu as participé en grande partie à notre éducation et mes souvenirs d'enfance seront à jamais associés à ta présence. Tu es restée digne et courageuse quoi qu'il arrive, tu es pour moi un exemple de bravoure et de ténacité. Ta petite lolotte grandit et c'est aussi grâce à toi.

A ma grand-mère, je me souviens de ces moments passés avec toi à explorer les étagères de l'appartement du moulin à vent, pendant lesquels tu m'emportais dans tes voyages et m'ouvrais au monde, il me suffit d'y penser pour m'évader. Tu as donné de ton temps et de ton énergie pour des causes nobles, tu as été une femme généreuse et forte. Tu incarnes pour moi la persévérance.

A notre Président du jury et Directeur de thèse,

Monsieur le Professeur Philippe KEMOUN

- Professeur des Universités, Praticien Hospitalier d'Odontologie
- Docteur en Chirurgie Dentaire,
- Docteur de l'Université Paul Sabatier,
- Habilitation à diriger les recherches (HDR)
- Lauréat de l'Université Paul Sabatier

Vous nous avez fait l'honneur d'accepter la Présidence de cette thèse.

Nous souhaitons vous remercier pour tout ce que vous nous avez apporté tout au long de nos études, pour vos précieux conseils durant l'élaboration de ce travail et pour votre bienveillance. Veuillez trouver ici l'assurance de notre sincère estime.

A notre Jury de thèse,

Madame le Docteur Marie GURGEL-GEORGELIN

- Maître de Conférences des Universités, Praticien Hospitalier d'Odontologie,
- Docteur en Chirurgie Dentaire,
- Maîtrise des Sciences Biologiques et Médicales
- D.E.A. MASS Lyon III,
- Ancienne Interne des Hôpitaux,
- Doctorat d'Université - Université d'Auvergne-Clermont

Nous vous remercions et vous sommes reconnaissants d'avoir accepté de siéger à notre jury de thèse. Nous nous souviendrons de la qualité des enseignements que vous nous avez prodigués tout au long de nos études, de votre sympathie, votre disponibilité et votre dynamisme.

Nous vous prions d'accepter nos considérations les plus respectueuses.

A notre Jury de thèse,

Monsieur le Docteur Paul MONSARRAT

- Maître de Conférences des Universités - Praticien Hospitalier en Odontologie,
- Master 1 Recherche : Biosanté et Méthodes d'Analyse et de Gestion en Santé Publique,
- Master 2 Recherche : mention : Biologie, santé; spécialité : Physiopathologie,
- Lauréat de la faculté de Médecine Rangueil et de Chirurgie Dentaire de l'Université Paul Sabatier,
- Docteur de l'Université Paul Sabatier - Spécialité Physiopathologie,
- Diplôme Universitaire d'Imagerie 3D maxillo-faciale,
- CES Biomatériaux en Odontologie.
- Diplôme universitaire de Recherche Clinique en Odontologie

C'est un privilège et un grand plaisir de vous compter parmi les membres de notre jury de thèse.

Veillez croire en l'expression de notre gratitude et de notre profond respect.

A notre Jury de thèse,

Monsieur le Docteur Mathieu LEMAITRE

- Assistant hospitalo-universitaire d'Odontologie,
- Docteur en Chirurgie Dentaire,
- Master 2 Recherche, Mention : Bio Santé

*Nous vous sommes très reconnaissants d'avoir accepté de participer à notre jury de thèse.
Veuillez trouver ici le témoignage de notre profond respect et de notre vive
reconnaissance.*

TABLE DES MATIÈRES

| | |
|--|----|
| INTRODUCTION | 12 |
| 1. CELLULES STROMALES MÉSENCHYMATEUSES (CSM) | 13 |
| 1.1. Propriétés fondamentales d'une cellule souche | 13 |
| 1.1.1. Définition..... | 13 |
| 1.1.2. Niche cellulaire..... | 14 |
| 1.1.3. Classification | 15 |
| 1.1.3.1. Cellules souches totipotentes | 16 |
| 1.1.3.2. Cellules souches pluripotentes | 17 |
| 1.1.3.3. Cellules souches pluripotentes induites..... | 17 |
| 1.1.3.4. Cellules souches multipotentes | 18 |
| 1.1.3.5. Cellules souches unipotentes..... | 18 |
| 1.2. Cellules stromales mésenchymateuses (CSM) | 19 |
| 1.2.1. Historique | 20 |
| 1.2.2. Propriétés des CSM | 20 |
| 1.2.2.1. Clonogénicité | 21 |
| 1.2.2.2. Phénotype de surface..... | 22 |
| 1.2.2.3. Multipotence..... | 22 |
| 1.2.2.4. Immuno-modulation..... | 22 |
| 1.2.2.5. Migration et domiciliation..... | 23 |
| 1.2.2.6. Effet trophique..... | 24 |
| 1.3. Sources de CSM | 24 |
| 1.3.1. Extra-orales..... | 25 |
| 1.3.1.1. Moelle osseuse | 25 |
| 1.3.1.2. Tissu adipeux..... | 25 |
| 1.3.1.3. Cordon ombilical..... | 26 |
| 1.3.2. Intra-orales..... | 26 |
| 1.3.2.1. Progéniteurs mésenchymateux desmodontaux..... | 27 |
| 1.3.2.2. Progéniteurs mésenchymateux folliculaires..... | 27 |
| 1.3.2.3. Progéniteurs alvéolaires et périostés | 27 |
| 1.3.2.4. Cellules mésenchymateuses de la papille apicale | 28 |
| 1.3.2.5. Progéniteurs mésenchymateux pulpaire | 29 |
| 1.3.2.6. Autre source : pulpe de dents surnuméraires | 29 |
| 2. CELLULES STROMALES MESENCHYMATEUSES ISSUES DE DENTS TEMPORAIRES EXFOLIEES (SHED) | 32 |
| 2.1. Caractéristiques des dents temporaires | 32 |
| 2.1.1. Odontogenèse : rappels..... | 32 |
| 2.1.1.1. Aspects morphologiques de l'odontogenèse | 32 |
| 2.1.1.2. Eruption..... | 34 |
| 2.1.1.3. Particularités de l'odontogenèse des dents temporaires..... | 34 |

| | |
|---|-----------|
| 2.2. Les SHED comme source de CSM | 35 |
| 2.2.1. Phénotype | 36 |
| 2.2.2. Immuno-modulation | 37 |
| 2.2.3. Effet trophique et différenciation | 37 |
| 2.3. Mise en œuvre des banques de SHED..... | 37 |
| 2.3.1. Prélèvement | 38 |
| 2.3.2. Isolation | 39 |
| 2.3.3. Culture | 39 |
| 2.3.4. Conservation..... | 40 |
| 2.3.4.1. Cryopréservation | 40 |
| 2.3.4.2. Congélation magnétique..... | 41 |
| 3. INTERETS THERAPEUTIQUES DES SHED EN REGENERATION | 43 |
| 3.1. Processus de régénération | 43 |
| 3.2. Principes de la thérapie cellulaire et de l'ingénierie tissulaire | 43 |
| 3.3. Utilisation des SHED en médecine régénérative | 45 |
| 3.3.1. Neurologie | 46 |
| 3.3.1.1. Lésions de la moelle épinière..... | 46 |
| 3.3.1.2. Lésions nerveuses périphériques..... | 47 |
| 3.3.1.3. Maladie de Parkinson | 48 |
| 3.3.2. Cardiologie | 49 |
| 3.3.2.1. Infarctus du myocarde..... | 49 |
| 3.3.3. Pneumologie | 51 |
| 3.3.3.1. Syndrome de détresse respiratoire aiguë..... | 51 |
| 3.3.4. Hépatologie..... | 51 |
| 3.3.5. Immunologie..... | 52 |
| 3.3.5.1. Lupus érythémateux systémique | 52 |
| 3.3.6. Régénération osseuse..... | 53 |
| 3.4. SHED et régénération des tissus de la cavité orale | 56 |
| 3.4.1. Complexe dentino-pulpaire | 57 |
| 3.4.2. Régénération osseuse alvéolaire..... | 58 |
| 4. BIOETHIQUE ET LEGISLATION | 60 |
| 4.1. Historique | 60 |
| 4.2. Réglementation en vigueur en matière de recherche et utilisation des cellules souches | 61 |
| 4.2.1. Biobanques | 62 |
| 4.2.2. Ethique et biobanques de SHED | 64 |
| 4.2.2.1. Consentement | 64 |
| 4.2.2.2. Confidentialité et protection des données | 65 |
| DISCUSSION / CONCLUSION | 67 |
| ICONOGRAPHIE..... | 68 |
| BIBLIOGRAPHIE | 69 |

INTRODUCTION

Au cours des dernières décennies, de nombreux travaux de recherche ont tenté de comprendre les mécanismes moléculaires impliqués dans la régénération tissulaire. Les cellules souches sont un des éléments clés de ce processus nécessaire au maintien de l'homéostasie. Parmi les différents types cellulaires identifiés dans cette grande famille, les cellules stromales mésenchymateuses ont suscité un intérêt croissant auprès de la communauté scientifique. Isolées et caractérisées initialement à partir du compartiment stromal de la moelle osseuse, elles peuvent actuellement être prélevées au sein de tissus tels que le cordon ombilical, le tissu adipeux ou la pulpe dentaire, notamment.

Au sein des tissus oraux, isolées en premier lieu dans la pulpe de dents permanentes, ces cellules stromales mésenchymateuses (CSM) ont par la suite pu être isolées à partir du tissu pulpaire de dents temporaires. Les CSM issues de dents temporaires exfoliées ont pour particularité d'être contenues dans un organe voué à être remplacé. Les avantages qui en découlent nous ont semblés tout à fait intéressants à explorer. Leurs propriétés immuno-modulatrices, leur potentiel de prolifération et leurs multiples capacités de différenciation font d'elles des candidates idéales dans le domaine de la médecine régénérative. Dans de nombreux domaines médicaux, tels que la neurologie, la cardiologie ou encore l'hépatologie, les traitements pharmacologiques ou chirurgicaux préconisés jusqu'à présent connaissent certains écueils et nécessiteraient d'être complétés voire remplacés par de nouvelles approches, moins invasives et plus prédictibles.

Ayant fait le constat du potentiel de ces cellules pour de futures applications cliniques, des industriels ont mis en place des infrastructures et dispositifs dans le but de les conserver dans des conditions optimales permettant leur utilisation ultérieure en thérapie cellulaire, dans le cadre de greffe autologue. Le cadre juridique en France n'autorise pas, à l'heure actuelle, le développement de tels systèmes, qui ne permettent qu'une utilisation à des fins personnelles, contre rémunération.

Nous profiterons de l'occasion qui nous est ici donnée pour faire état des avancées scientifiques les plus récentes en matière de recherche sur les cellules souches, la thérapie cellulaire et la médecine régénérative. Nous détaillerons ensuite les propriétés des cellules souches issues des dents temporaires exfoliées et les implications cliniques qui en découleraient. Enfin, les enjeux éthiques et législatifs du développement de telles techniques seront abordés.

1. CELLULES STROMALES MÉSENCHYMATEUSES (CSM)

1.1. Propriétés fondamentales d'une cellule souche

1.1.1. Définition

Une cellule souche (CS) peut être définie comme une cellule indifférenciée capable à la fois d'auto-renouvellement et de différenciation en cellules plus spécialisées dans certaines conditions. Son mode de division est dit asymétrique : une cellule fille s'engage dans une voie de différenciation (maturation, spécialisation) tandis que l'autre conserve la capacité d'auto-renouvellement pour éviter le tarissement du stock de CS (1,2).

La fonction des CS est de proliférer et de créer chez l'embryon, ou pérenniser chez l'adulte, la diversité des compartiments fonctionnels d'un tissu durant la vie de l'individu, en produisant un large spectre de cellules différenciées. Chez l'adulte, elles contribuent au maintien de l'homéostasie et à la fonction des structures de supports, en particulier du stroma (3).

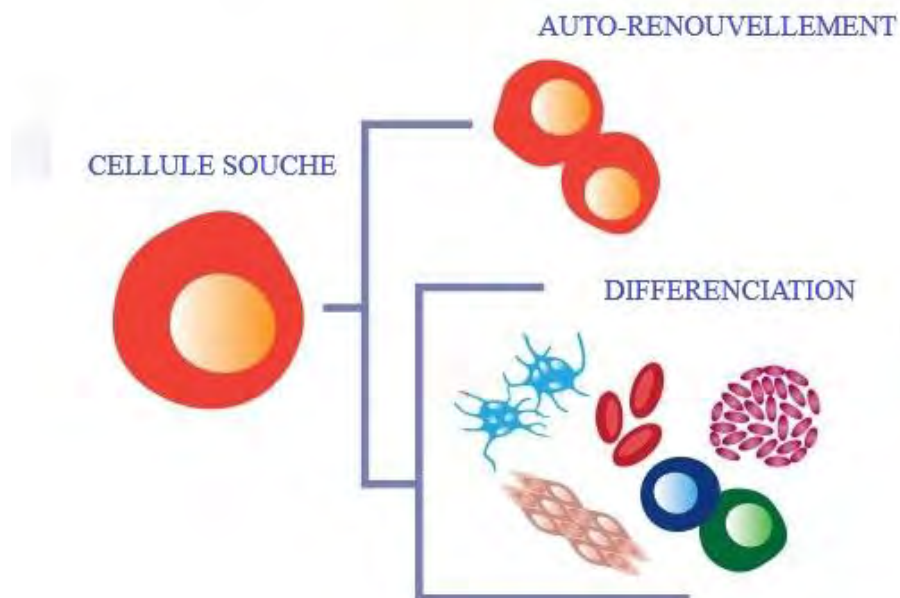


Figure 1 : Propriétés fondamentales d'une cellule souche (4)

Quelque soit l'origine embryonnaire des structures tissulaires adultes, l'existence de CS est nécessaire au renouvellement cellulaire et à la régénération tissulaire. Outre les cellules souches mésenchymateuses, nous pouvons citer les cellules souches épidermiques, nerveuses, hépatiques, ou encore hématopoïétiques. Notons que la vitesse de renouvellement varie selon les structures considérées : pour exemple la peau et le sang se régénèrent bien plus rapidement que le foie et le tissu nerveux. Mais les CS à elles-seules ne sont pas en mesure d'exercer les rôles qui leur sont dévolus ; leur régulation dépend des composants du microenvironnement local et sont localisées dans des zones bien spécifiques, dites des « niches ».

1.1.2. Niche cellulaire

Au sein des tissus, le microenvironnement local des CS est composé d'éléments nécessaires à leur régulation (5). Ces zones bien spécifiques, dites des « niches », au sein desquelles elles sont retrouvées sont indispensables à leur fonction. L'influence des composants de ces niches permettrait d'orienter le devenir des cellules – quiescence, auto-renouvellement, différenciation – assurant ainsi le maintien de l'homéostasie tissulaire (6). La niche représente un milieu dynamique, nutritif et informationnel dans lequel l'intégration de multiples signaux permet un contrôle précis du nombre et de la fonction des cellules souches.

Elles comprennent : (6)

- Des CS elles-mêmes,
- des cellules de support qui interagissent directement avec les CS par l'intermédiaire de récepteurs membranaires, de gap junctions ou de facteurs solubles,
- de la matrice extracellulaire (MEC) qui correspond à un réseau de macromolécules complexe et dynamique présentant diverses propriétés physiques et biochimiques (7),
- de vaisseaux sanguins qui conduisent des signaux systémiques et permettent le recrutement de cellules inflammatoires ou d'autres cellules circulantes dans la niche mais aussi l'entrée et la sortie des CS (migration et domiciliation),
- de fibres nerveuses communiquant de lointains messages physiologiques aux CS dans leur microenvironnement.

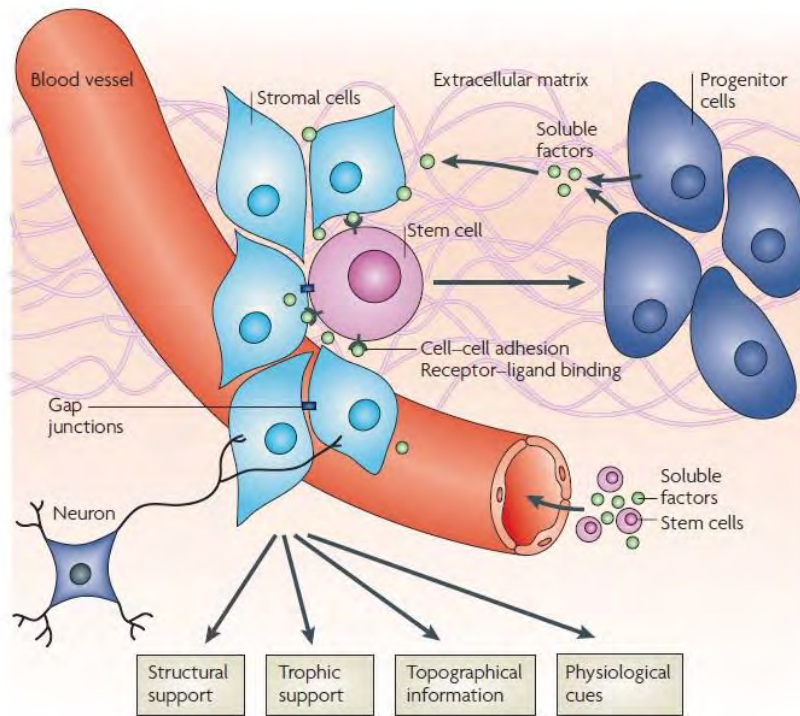


Figure 2 : Schématisation des composants d'une niche de cellules souches (6)

La connaissance des mécanismes moléculaires régissant les interactions entre les CS et leurs niches doit être approfondie et nécessite encore l'élaboration de travaux de recherches en vue de l'exploitation des données théoriques à des fins thérapeutiques.

Actuellement, nous assistons au développement d'approches visant à modifier *in vivo* les niches cellulaires afin de manipuler l'activité des CS. Ces possibilités ouvrent la voie à de nouvelles opportunités thérapeutiques en médecine régénérative (6).

1.1.3. Classification

Les CS peuvent être classées selon le stade d'évolution au cours du développement :

- Anténatales : elles concernent alors les CS issues de l'embryon et du fœtus
- Périnatales : provenant du cordon ombilical ou de la membrane amniotique
- Post-natales : issues notamment de la moelle osseuse, du tissu adipeux ou encore de la pulpe dentaire, potentiellement tous les conjonctifs

Il apparaît cependant plus pertinent à des fins didactiques de les catégoriser selon leur potentiel de différenciation :

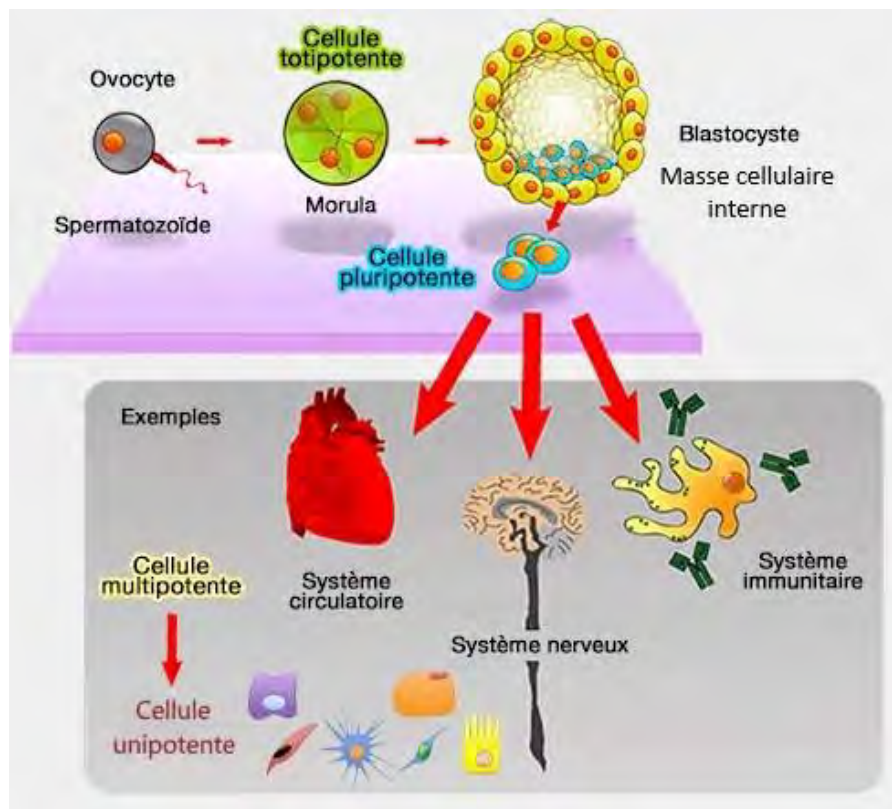


Figure 3 : Potentiel de différenciation des cellules souches (8)

1.1.3.1. Cellules souches totipotentes

Seules les CS embryonnaires (CSE) issues des premières divisions de l'ovocyte fécondé (jusqu'au stade huit cellules) sont considérées comme telles, puisqu'elles perdent par la suite la capacité de pouvoir former à elles-seules tous les tissus nécessaires au développement d'un organisme entier, viable (c'est-à-dire y compris les annexes embryonnaires). Le génome peut donc, à ce stade, coder l'information nécessaire à l'élaboration d'un organisme entier (9).

1.1.3.2. Cellules souches pluripotentes

Elles correspondent aux cellules pouvant être récupérées dans la masse cellulaire interne du blastocyste et ont la propriété de pluripotence, c'est-à-dire de générer n'importe quelle cellule spécialisée et fonctionnelle de l'organisme puisqu'elles peuvent se différencier pour donner naissance aux cellules issues de n'importe lequel des trois feuillets embryonnaires (ectoderme, mésoderme et endoderme) mais ne permettent pas la formation d'un organisme puisqu'elles ne peuvent coder pour les annexes embryonnaires (10). En dépit de l'intérêt scientifique qu'elles suscitent, de nombreuses questions éthiques font obstacles à leur utilisation à des fins thérapeutiques, leur prélèvement nécessitant la destruction de l'embryon dont elles proviennent. Ainsi, à l'heure actuelle, il n'existe ni thérapeutique ni essai clinique appliqués à l'homme basés sur l'utilisation de ces cellules. Cependant, elles peuvent être utilisées à des fins de recherche dans un cadre juridique bien défini.

1.1.3.3. Cellules souches pluripotentes induites

La reprogrammation génique de cellules somatiques différenciées pour l'obtention de CS pluripotentes induites (iPSC pour « induced pluripotent stem cells ») a été proposée initialement en 2006 par Takahashi et Yamanaka en premier lieu chez la souris (11).

En introduisant 4 gènes (c-Myc, OCT3/4, SOX2, Klf4) (12) au moyen de rétrovirus dans des fibroblastes murins adultes, ils ont fait acquérir à ces cellules des propriétés de progéniteurs embryonnaires. En 2007, Takahashi et coll. sont parvenus aux mêmes résultats à partir de fibroblastes humains (13). Yu et coll. ont mené une étude similaire chez l'homme en manipulant d'autres gènes (OCT4, SOX2, NANOG, LIN28) (14).

L'obtention de ces cellules représente une avancée majeure laissant espérer de s'affranchir de la plupart des contraintes légales et éthiques associées à l'utilisation de CSE. Cependant, en France, l'utilisation chez l'homme de cellules manipulées génétiquement n'est pas autorisée à ce jour.

Au Japon, un essai clinique sur l'utilisation des iPSCs a débuté en 2014 dans le cadre de dégénération maculaire liée à l'âge (15). Actuellement, le recul clinique permettant de s'assurer de l'innocuité de telles transplantations cellulaires ne semble pas suffisant pour étendre l'utilisation des iPSCs à la thérapeutique. En effet, le potentiel tumorigénique n'a pas été clairement évalué.

1.1.3.4. Cellules souches multipotentes

Rapidement, au cours du développement, la propriété de pluripotence est perdue et les cellules prennent alors le statut de progéniteurs, restreints à un groupe d'organes ou tissus. Elles sont présentes dans de nombreux tissus après la naissance (16).

Contrairement aux cellules pluripotentes qui ont la capacité de se diviser indéfiniment, les CS multipotentes (déjà engagées dans un programme spécifique) ne le peuvent que pour compenser l'apoptose ou en cas de dommages tissulaires. Elles participent à la régénération des tissus en fonction des signaux envoyés par l'environnement. Certains signaux inductifs permettraient à une lignée cellulaire de se développer de façon prédominante, mettant en lumière l'existence de sous-populations cellulaires dans un contingent initial de progéniteurs tissulaires (17).

L'Allemand F.E.C. Neumann a été le premier à postuler à la fin du XIXe siècle qu'une CS pourrait être à l'origine de toutes les lignées. Les CS hématopoïétiques (CSH) par exemple, ont la capacité de donner naissance à toutes les cellules hématopoïétiques matures circulantes, *via* la production de progéniteurs qui se différencient à leur tour en cellules des lignées myéloïdes et lymphoïdes. Les CSH sont donc à l'origine de la formation continue et régulée des cellules sanguines (18).

1.1.3.5. Cellules souches unipotentes

Ce sont des précurseurs dédiés à un type cellulaire mais qui ont la capacité de s'auto-renouveler comme toutes les CS. Nous en exposons ci-dessous deux exemples.

Chez les mammifères, l'épiderme se renouvelle continuellement. La desquamation des cellules à la surface de la peau doit naturellement être compensée par le renouvellement de l'épiderme, assuré par les kératinocytes de la couche basale qui se divisent activement et se différencient en cellules de la couche cornée (19). En Europe, Ronfard et coll. ont été les pionniers dans l'isolement des CS de patients sévèrement brûlés, suivie par leur expansion et par la transplantation de couches d'épithélium stratifié produites *in vitro* (20).

Les hépatocytes constituent la population de cellules la plus importante du foie et assurent l'essentiel des fonctions métaboliques et de détoxification. Bien que différenciés et quiescents dans un foie non stimulé, les hépatocytes peuvent, si besoin, proliférer *in situ*, dotant le foie de ses capacités régénératives (21). En réponse à une hépatectomie partielle, le foie régénère principalement par prolifération cellulaire. Toutefois, si une atteinte hépatique s'accompagne d'une inhibition de la prolifération des hépatocytes, la régénération implique l'induction de CS (22). Dans un foie adulte en condition pathologique, les hépatocytes dérivent d'hépatocytes préexistants ou de cellules progénitrices, selon la nature de l'atteinte hépatique (23).

Le terme générique « souche » reste cependant trop généraliste et simpliste pour refléter convenablement les fonctionnalités, les propriétés et les caractéristiques des cellules qui répondent à cette définition.

1.2. Cellules stromales mésenchymateuses (CSM)

Parmi les CS adultes, les CSM ont été décrites dans de nombreux tissus (15, 16, 17). Il est généralement considéré que les cellules à l'origine des CSM sont issues du mésoderme, or une étude publiée en 2007 par Takashima et coll. suggère que la population CSM pourrait correspondre à une population hétérogène de cellules progénitrices d'origines embryonnaires différentes avec des potentialités de différenciation dépendantes de cette origine (27).

Le terme de cellules « souches », désignant à l'origine les cellules embryonnaires totipotentes (capables de générer toutes les cellules de l'organisme), ne serait pas totalement admis par la communauté scientifique française qui préfère employer le terme de cellules « stromales mésenchymateuses » qui serait plus en accord avec la notion de cellules progénitrices.

Les travaux de Caplan en 1991, ont permis d'introduire le terme de « mesenchymal stem cell », la traduction littérale étant « cellules souches mésenchymateuses », certains auteurs ont pris le parti de l'employer (28)(29). En 2017, il a lui-même proposé de remplacer ces termes pour les désigner comme « Medicinal Signaling Cells » afin de refléter davantage leur capacité à sécréter des facteurs bioactifs ayant des effets immuno-modulateurs et trophiques, en partie responsables de leur rôle dans la régénération tissulaire (30).

1.2.1. Historique

Les recherches menées par Friedenstein et ses collaborateurs dans les années 1970 ont permis de montrer l'existence de CS « non-hématopoïétiques », contenues dans le compartiment stromal de la moelle osseuse. Leur isolation et leur mise en culture ont permis de les décrire comment étant des cellules adhérentes au plastique, capables de cloner et de proliférer rapidement (31). Ces cellules médullaires, d'allure fibroblastique, forment *in vitro* des « colony forming units-fibroblastic » (CFU-F).

Les expériences de transplantation *in vivo* ont confirmé l'existence d'une sous-population de cellules progénitrices médullaires potentiellement responsables de la régénération des tissus conjonctifs (32); qualifiées par la suite de cellules souches stromales de la moelle osseuse (33).

Cette découverte n'a pas eu de répercussion immédiate dans le monde scientifique puisque ce n'est que dans les années 1990 que des travaux similaires ont été entrepris et finalement publiés dans des revues de renommée mondiale. Les travaux de Prockop et coll. et ceux de Pittenger et coll., notamment, ont donné lieu à des articles publiés dans la revue Science, en 1997 et 1999, respectivement (16,34).

Depuis, d'autres populations cellulaires semblables aux CSM de la moelle osseuse ont pu être isolées à partir de diverses sources tissulaires. La compréhension des mécanismes biologiques régissant la régénération tissulaire est devenue un enjeu majeur des recherches actuelles et les applications thérapeutiques pouvant en découler sont d'un intérêt certain en terme de santé publique.

1.2.2. Propriétés des CSM

En 2007, l'ISCT (« International Society for Cellular Therapy ») a défini les CSM comme des cellules multipotentes isolées à partir de nombreux tissus et qui associent différents critères (35) :

- Les CSM doivent être adhérentes au plastique dans des conditions de culture standardisées
- Elles forment des clones *in vitro* : leur nombre témoigne du potentiel multipotent de la culture

- Elles doivent exprimer les marqueurs de surface CD105, CD73 et CD90
- Elles ne doivent pas exprimer CD45, CD34, CD14 ou CD11b, CD79a ou CD19 ainsi que les molécules de surface HLA-DR (« Human Leukocyte Antigen », marqueurs spécifiques hématopoïétiques)
- Elles peuvent se différencier en 3 lignages : chondrocytes, ostéoblastes et adipocytes

Les CSM sont donc des cellules multipotentes à l'origine des composants des tissus conjonctifs du squelette : os, cartilage, tissu adipeux. De façon plus contestée, elles donneraient également naissance aux cellules musculaires sarcomériques (squelettiques et cardiaques) et aux cellules endothéliales, voire à des cellules d'origine non mésodermique selon un mécanisme de transdifférenciation.

Elles sont destinées à se différencier en cellules conjonctives mais peuvent aussi en cellules nerveuses, hépatocytes, cardiomyocytes, entre autres ; *in vitro* selon les conditions de culture (36,37). Cependant, les conditions expérimentales ne peuvent pas reproduire le microenvironnement tissulaire réel, c'est là toute la difficulté de la transposition des recherches à l'application clinique. La complexité du vivant ne peut pas être représentée dans sa totalité dans le milieu de culture.

Les critères proposés par l'ISCT visent à uniformiser la caractérisation et l'isolation des CSM *in vitro*, afin que les investigations dans ce domaine montrent une certaine harmonisation. L'échange de données au sein de la communauté scientifique est primordial dans l'intérêt de l'avancée des recherches.

L'application de l'ensemble des critères des cellules souches à l'étude des CSM montre que ces cellules constituent une catégorie singulière, différente, à bien des égards, des cellules souches classiques de l'hématopoïèse.

1.2.2.1. Clonogénicité

Dans des conditions de dilution et de cultures appropriées, variables selon les espèces, des colonies individuelles se forment et correspondent à un précurseur unique. Ces colonies sont appelées CFU-F (pour « colony forming units-fibroblastic ») (35).

1.2.2.2. *Phénotype de surface*

Malheureusement il n'existe pas de marqueur spécifique des CSMs mais certains permettent de les identifier et les isoler *in vitro*. Outre les marqueurs CD105, CD73 et CD90, le marqueur STRO-1 (antigène de surface résistant à la trypsine) semble faire partie des marqueurs de sous-populations multipotentes ; il est exprimé précocement et son expression diminue progressivement en culture.

En 2006, Kerkis et coll. ont publié une étude permettant de montrer la présence de marqueurs de CSEs à la surface de CSMs issues de tissu pulpaire de dents temporaires (qu'ils nomment « IDPSCs » pour « immature dental pulp stem cells ») : Oct-4, Nanog, SSEA-3, SSEA-4 (« stage-specific embryonic antigens »), TRA-1-60, TRA-1-81 (« tumor recognition antigens ») (38). De ce fait, certains auteurs les qualifiaient de pluripotentes (39).

1.2.2.3. *Multipotence*

Les CSM sont destinées à s'orienter vers des phénotypes de cellules des conjonctifs : ostéocytes, chondrocytes, adipocytes, fibroblastes de la peau et des tendons, myocytes, entre autres (40,41).

Certains auteurs suggèrent qu'elles feraient preuve d'une grande « plasticité » et leur confèrent la capacité à se différencier en hépatocytes, cellules nerveuses, endothéliales ou encore musculaires cardiaques, comme cela a déjà été évoqué (36,37,42).

1.2.2.4. *Immuno-modulation*

Les progéniteurs mésenchymateux auraient la capacité de moduler la réaction immunitaire, et ainsi l'inflammation, lorsqu'elles sont transplantées *in vivo*. Ces propriétés immuno-modulatrices et anti-inflammatoires ont fait, et font actuellement, l'objet de nombreuses études (43,44).

Elles exercent leurs effets via la sécrétion de molécules bioactives, selon des mécanismes paracrines. L'apport de facteurs solubles dérivés de CSM pourrait ainsi s'envisager en thérapeutique (45).

Faisant suite à des études précliniques, montrant l'efficacité et l'innocuité de la greffe de CSM, des essais cliniques ont pu récemment voir le jour afin d'élaborer de nouvelles approches thérapeutiques dans le cadre de désordres immunitaires. En hématologie, dans des essais de phase I-II, la greffe de CSH a été associée à celle de CSM autologues, pour améliorer la prise de greffe, ou de CSM allogéniques, pour induire une immunosuppression (29).

Leur effet immunosuppresseur s'exprime par une action inhibitrice sur l'ensemble des effecteurs de la réponse immune innée et adaptative (46). Elles ont en outre un effet inhibiteur sur les lymphocytes T et B en les bloquant en phase G0/G1 du cycle cellulaire (47,48). Elles agissent également au niveau des cellules dendritiques (cellules spécifiquement présentatrices de l'antigène) en bloquant la différenciation des monocytes en cellules dendritiques et en inhibant partiellement la maturation de ces dernières ainsi que leur production de cytokines pro-inflammatoires, *in vitro* (49).

N'exprimant pas à leur surface de molécules des complexes d'histocompatibilité I et II, elles n'activent pas de lymphocytes allogéniques ou xénogéniques et sont ainsi considérées comme non immunogènes (40).

L'apport systémique ou local de CSM pourrait être une solution permettant de palier aux écueils des traitements immunosuppresseurs actuels, qui engendrent des effets secondaires cytotoxiques importants.

1.2.2.5. Migration et domiciliation

Les CSM sont extrêmement rares dans la circulation sanguine et lorsqu'elles sont injectées par voie intra-veineuse elles se logent préférentiellement au niveau de certains organes, notamment au sein des poumons (50,51). Aussi, leur administration systémique a permis d'améliorer significativement les fonctions neurologiques après une ischémie cérébrale chez le rat. Injectées de façon systémique, elles ont été capables de migrer dans les tissus cérébraux endommagés (52). Les études menées sur la migration et la domiciliation des CSM ont permis de montrer qu'elles restent à un stade quiescent au sein de leur niche jusqu'à ce qu'elles reçoivent des signaux entraînant leur migration vers les tissus endommagés (53). Après leur passage passif dans les micro-vaisseaux, elles peuvent interagir avec les cellules *in situ* et sécrètent un ensemble de facteurs de croissance et de cytokines (54).

1.2.2.6. Effet trophique

De par leur capacité à sécréter des molécules impliquées dans l'homéostasie, telles des cytokines, des facteurs de croissance et des glycoprotéines de la MEC, les CSM ont un effet sur la trophicité tissulaire (55). Ces molécules participent à la réduction de l'inflammation et sont impliquées dans la stimulation de la régénération tissulaire.

| Propriétés des CSMs | |
|----------------------------|--|
| <i>In vitro</i> | |
| Clonogénicité | Formation de colonies de type CFU-F |
| Phénotype de surface | Marqueurs positifs : CD 73, CD90, CD105 Marqueurs négatifs : CD14, CD19, CD31, CD45, HLA-DR |
| Multipotence | Différenciation en cellules de la lignée mésodermique selon le microenvironnement. Phénomènes de transdifférenciation rapportés mais controversés. |
| <i>In vivo</i> | |
| Immuno-modulation | <ul style="list-style-type: none">- Bloquent les lymphocytes T et B dans la phase G0/G1 du cycle cellulaire- Interfèrent dans la sécrétion de l'interféron γ et le TNF α- Modifient l'activité des cellules dendritiques |
| Migration et domiciliation | Domage tissulaire > stimulation des CSM restées quiescentes > migration vers tissu cible > traversée de l'endothélium > sécrétion de facteurs solubles |
| Effet trophique | Synthèse de : <ul style="list-style-type: none">- Composants de la MEC- Facteurs de croissance- Cytokines |

Tableau 1 : Tableau récapitulatif des propriétés des CSM *in vitro* et *in vivo*

1.3. Sources de CSM

Elles peuvent être prélevées dans différents tissus tels que le tissu adipeux, les muscles, le sang de cordon ombilical, le placenta, le liquide amniotique, la membrane synoviale, notamment (56).

Bien qu'elles partagent des caractéristiques communes elles peuvent, selon leur origine, varier en ce qui concerne leur potentiel de différenciation et leur capacité d'expansion (57). Nous exposerons ci-après les principales sources de CSM.

1.3.1. Extra-orales

1.3.1.1. Moelle osseuse

La moelle osseuse contient deux grands types de cellules souches distinctes et interdépendantes : les cellules souches hématopoïétiques (CSH) et les cellules stromales mésenchymateuses (BMMSCs pour « bone marrow mesenchymal stromal cells »). Les BMMSCs supportent la différenciation des CSH via des signaux moléculaires spécifiques. Elles ont été caractérisées *a posteriori* à partir de prélèvements médullaires et par la suite des cellules similaires ont pu être isolées de la quasi-totalité des tissus et définies comme CSM (58).

Bien que la découverte de ces cellules dans la moelle soit un événement d'une importance majeure, certaines de leurs propriétés ont amené les scientifiques à rechercher de nouvelles sources de CSMs. En outre, leur expansion *ex vivo* ne peut aboutir qu'à 30 à 50 doublements de populations et l'expansion cellulaire à long terme risque d'engendrer des aberrations chromosomiques (59)(60). De plus, leur fréquence est faible et estimée entre 0,01 % et 0,0001 % des cellules nucléées de la moelle osseuse adulte (16). Enfin, leur prélèvement nécessite une anesthésie générale et la méthode de prélèvement est hautement invasive (aspiration, le plus fréquemment au niveau de la crête iliaque).

1.3.1.2. Tissu adipeux

Les CSM issues du tissu adipeux (ASCs pour « adipose-derived stem cells ») représentent une source très prometteuse en thérapie cellulaire pour des raisons de sécurité, d'ergonomie de prélèvement et de culture. Le tissu adipeux est de prélèvement aisé puisqu'il se réalise sous anesthésie locale et présente peu de risque de morbidité (lipoaspiration, dermoplastie) (61).

Le tissu adipeux constitue donc une source de CSM en quantités abondantes et les ASCs ont montré des capacités de prolifération supérieures aux BMMSCs (57).

1.3.1.3. Cordon ombilical

Il a été rapporté que les tissus tels que le sang placentaire, le placenta mais aussi la matrice ombilicale (appelée gelée de Wharton) contiennent des cellules possédant un phénotype proche de celui des BMMSCs ayant l'avantage de constituer une population cellulaire plus primitive, bien que cette assertion reste contestée. Ainsi elles possèderaient des capacités de prolifération plus élevées que les cellules issues de la moelle osseuse. De plus, leur utilisation ne se heurte pas aux problèmes éthiques soulevés par l'utilisation de CSE (39).

1.3.2. Intra-orales

Ce travail s'intéressant essentiellement aux SHED, il ne s'agit pas dans cette partie de détailler toutes les données concernant les autres types de progéniteurs retrouvés au niveau des tissus dentaires et péri-dentaires. Certains éléments semblent cependant intéressants à des fins de comparaison.

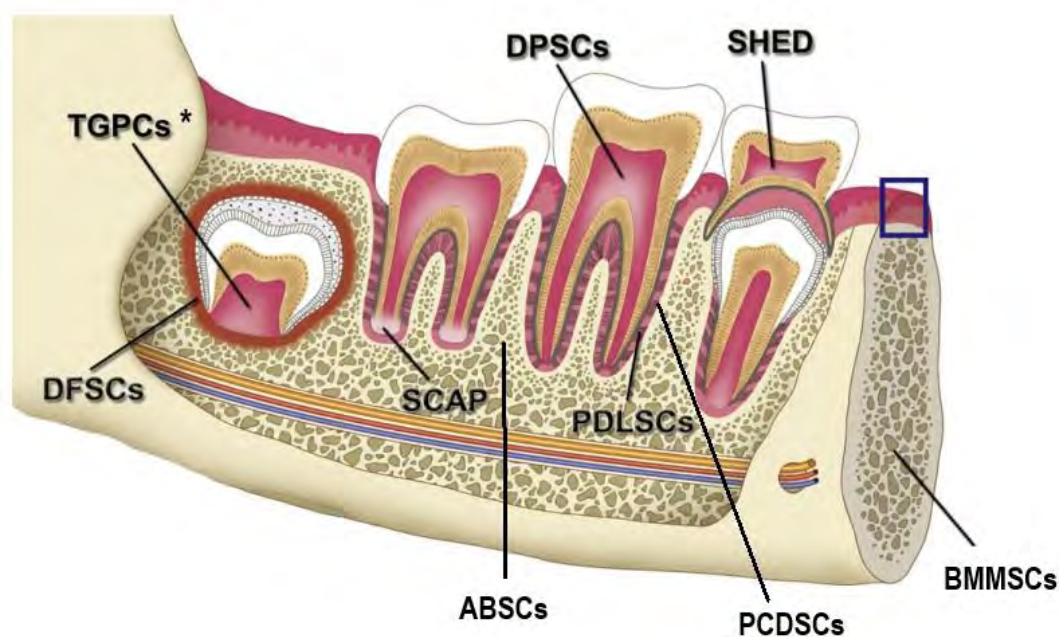


Figure 4 : Schématisation des sources de CSMs orales, adapté à partir du schéma de Egusa et coll. (62)

TGPCs* : non abordé dans ce travail

1.3.2.1. *Progéniteurs mésenchymateux desmodontaux*

Les cellules progénitrices du ligament parodontal (« PerioDontal Ligament Stem Cells », PDLSCs) peuvent être prélevées au niveau de la surface radiculaire de dents avulsées. Elles permettent le maintien de l'homéostasie tissulaire des structures parodontales de par leur potentiel ostéoblastique et cémentoblastique (63) et possèdent les caractéristiques *in vitro* des CSM (64),(65),(66).

Une étude publiée en 2008 par Liu et coll. a été conduite dans un modèle porcin de transplantation autologue de PDLSCs qui se sont révélées capables d'induire une régénération des tissus parodontaux (67).

1.3.2.2. *Progéniteurs mésenchymateux folliculaires*

Le follicule dentaire, enveloppant les bourgeons dentaires en développement, contient des cellules progénitrices d'origine ectomésenchymateuse appelées « dental follicle stem cells » (DFSCs). Elles peuvent être isolées après avulsion de dents de sagesse incluses ou à l'état de germe.

In vitro elles ont la capacité de se différencier en odontoblastes, cémentoblastes, ostéoblastes (68), chondrocytes, myoblastes et cellules nerveuses (69,70).

Une étude menée *in vivo* par Handa et coll. a montré qu'une sous population de DFSCs bovines était capable de former du ciment après transplantation chez la souris immunodéprimée (71).

1.3.2.3. *Progéniteurs alvéolaires et périostés*

Les sources de CSM doivent être accessibles et les méthodes de prélèvement les moins invasives possibles. Dans cette logique, il a été proposé de récupérer les cellules progénitrices alvéolaires (alveolar bone-derived stromal cells ou « ABSCs ») à partir de résidus de forage implantaire. Elles ont été capables *in vitro* de se différencier en ostéoblastes, adipocytes et chondroblastes (72).

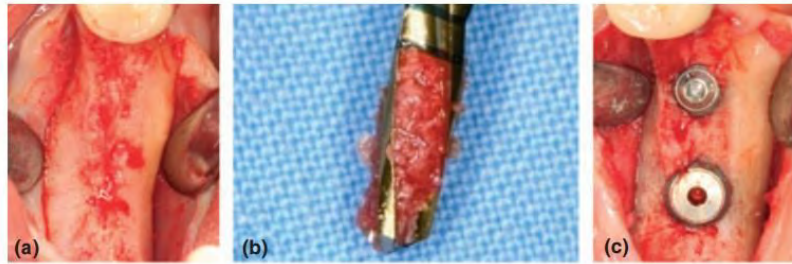


Figure 5: Ostéotomie implantaire, foret permettant de récupérer l'os alvéolaire (73)

Les CSM de la couche interne du périoste (« periosteum-callus-derived mesenchymal stem cells » ou PCDSCs) ont montré un potentiel ostéogénique, chondrogénique et adipogénique (74).

Après transplantation chez la souris, elles permettent une formation osseuse en quantité plus importante en comparaison des BMMSCs (75).

1.3.2.4. Cellules mésenchymateuses de la papille apicale

Les cellules mésenchymateuses immatures issues de la papille apicale (appelées SCAP pour « stem cells from apical papilla ») sont retrouvées dans la région apicale de la racine des dents permanentes immatures et semblent être localisées préférentiellement au sein de niches périvasculaires (76). Elles sont les précurseurs de la pulpe radiculaire, se différencient en odontoblastes primaires responsables de la formation de la dentine radiculaire (77).

Elles ont la capacité de se différencier en odontoblastes et adipocytes *in vitro* (78),(79) et sont capables de générer un complexe dentino-pulpaire fonctionnel *in vivo* lorsqu'elles sont transplantées avec une matrice appropriée chez la souris immuno-déficiente (77).

1.3.2.5. *Progéniteurs mésenchymateux pulpaire*

Découvertes initialement par Fitzgerald et coll. en 1990 lors de l'observation de cellules de type fibroblastique capables de se différencier en odontoblastes (80), les « dental pulp stem cells » (DPSCs) ont été finalement isolées et identifiées en 2000 par Gronthos et coll. (81). Elles semblent résider dans les régions péri-vasculaires du tissu pulpaire. En effet, l'expression des marqueurs STRO-1 et CD146 dans la pulpe est restreinte aux pourtours des vaisseaux sanguins (82).

Les DPSCs ont la capacité de former *in vivo*, après transplantation chez la souris immuno-déficiente, des complexes pulpo-dentaires (83).

De plus, elles expriment à leur surface des marqueurs de cellule nerveuse et d'adipocyte. Il a été établi l'existence de sous-populations dans le tissu pulpaire faisant état de l'hétérogénéité des DPSCs. Cette hétérogénéité inclut des capacités variables concernant le potentiel de différenciation et la capacité d'auto-renouvellement de ces cellules (84). Ainsi une sous-population a montré *in vivo* des capacités ostéogéniques (85).

Après transplantation dans le liquide cérébro-spinal de rat, elles ont été capables de migrer dans différentes régions du cortex et d'exprimer des marqueurs neuronaux spécifiques (86).

1.3.2.6. *Autre source : pulpe de dents surnuméraires*

La pulpe de dent surnuméraire pourrait être une source accessible de CSM, au même titre que les DPSCs et les SHED. Elles sont dans la majorité des cas vouées à être extraites du fait des désordres qu'elles peuvent engendrer (87).

En 2008 Huang et coll. (88) ont ainsi suggéré qu'il pourrait s'agir d'une source de CSM probante, d'autant qu'elle présente l'avantage d'un prélèvement relativement aisé et l'absence de risque de morbidité du site. Cependant, la prévalence des dents surnuméraires étant relativement faible, les quantités disponibles restent limitées.

En 2011, Lee et coll. ont souhaité comparer les propriétés *in vitro* de DPSCs de dents surnuméraires et de SHED (89).

Cette analyse a permis de montrer certaines similitudes concernant les populations cellulaires étudiées (capacités de différenciation en lignées adipogénique, ostéogénique et chondrogénique, marqueurs de surface). Cependant, le taux de prolifération des SHED s'est révélé plus important, tout comme leur vitesse de doublements de population, dont les valeurs ont de nouveau été évaluées 48 heures après la mise en culture.

Depuis les années 2000, l'isolation, la caractérisation et la mise en évidence des potentialités des différentes populations de CSM issues de la sphère orale ont permis de mettre en lumière la possibilité de restaurer les tissus endommagés par de nouvelles approches thérapeutiques. Dans le domaine de l'ingénierie tissulaire, ces cellules pourraient faire partie des outils utilisés en vue de la régénération des structures lésées. Cependant, les matériels et méthodes développés par les équipes de recherche divergent et peuvent influencer les résultats obtenus. En 2009, Huang et coll. ont établi un tableau récapitulatif des capacités *in vitro* et *in vivo* des CSM pouvant être prélevées au niveau des tissus dentaires et péri-dentaires (60). Nous l'avons reproduit à titre indicatif.

| | Analyse <i>in vitro</i> | | Analyse <i>in vivo</i> |
|-----------------|-------------------------|--|--|
| Type cellulaire | DP* | Multipotence | Formation tissulaire ectopique |
| DPSCs | 60 > 120 | Osteo-dentinogénique Adipogénique Chondrogénique Myogénique Neurogénique | + + + + + Complexe dentino-pulpaire Cellules « odontoblast-like » Tissu « bone-like » |
| SHED | > 140 | Dentinogénique Adipogénique Chondrogénique Myogénique Neurogénique Ostéo-induction | + + + + + Tissu « dentin-pulp-like » Cellules « odontoblast-like » Formation tissulaire osseuse |
| SCAP | > 70 | Dentinogénique Adipogénique Chondrogénique Myogénique Neurogénique | + + ND ND + + Complexe dentino-pulpaire Cellules « odontoblast-like » |
| PDLSCs | ND | Ostéo-cémentogénique Adipogénique Chondrogénique Myogénique Neurogénique | + + + ND + Tissu « cementum-like » Formation « PDL-like » |
| DFPCs* | ND | Cémentogénique Odontogénique Adipogénique- chondrogénique Myogénique Neurogénique | + + + + ND ND Formation « PDL-like » Formation de matrice cémentaire |
| BMMSCs | 30 > 50 | Odontogénique Ostéogénique Adipogénique- chondrogénique Myogénique Neurogénique | - + + + + + Formation tissulaire osseuse Formation cartilagineuse, musculaire, neuronale |

Tableau 2 : Tableau récapitulatif des propriétés des CSM orales d'après Huang et coll. (60)

DP : Doublements de population

ND : non déterminé

DFPCs : Dental follicle precursor cells

2. CELLULES STROMALES MESENCHYMATEUSES ISSUES DE DENTS TEMPORAIRES EXFOLIEES (SHED)

2.1. Caractéristiques des dents temporaires

L'Homme présente deux dentitions successives, il est qualifié de « diphodont ». La première denture est constituée de 20 dents temporaires (en l'absence d'anomalie), qui seront remplacées par 32 dents successives, dites permanentes.

2.1.1. Odontogenèse : rappels

2.1.1.1. Aspects morphologiques de l'odontogenèse

Afin de restaurer ou remplacer de façon optimale les structures tissulaires dans le domaine de l'odontologie, la connaissance des mécanismes régissant leur développement au stade embryonnaire et les moyens de les reproduire semblerait être l'approche la plus pertinente.

Le développement dentaire débute morphologiquement vers la 6^{ème} – 7^{ème} semaine de la gestation et s'étend jusqu'à l'âge de 18- 25 ans environ. La mise en place des deux dentures, temporaire et permanente, comprend quatre périodes : la vie intra-utérine avec la formation des bourgeons des dents temporaires, la petite enfance de 0 à 6 ans avec la dentition temporaire, l'enfance de 6 à 12 ans avec la dentition mixte et l'adolescence de 12 à 16 ans avec la dentition permanente, l'odontogenèse s'achève entre 18 et 25 ans par la rhizogenèse et l'éruption des 3^{ème} molaires permanentes.

Entre la 5^{ème} et la 6^{ème} semaine de vie intra-utérine, le mésenchyme des futurs maxillaires est infiltré par des cellules ayant migré depuis les crêtes neurales, c'est l'induction primaire, à l'origine de la morphogenèse primaire de l'organe dentaire. Le germe dentaire qui est produit à ce stade est composé de trois entités : l'organe de l'émail, la papille primitive (structure ectomésenchymateuse), le follicule fibreux (structure ectomésenchymateuse périphérique). La différenciation des odontoblastes et des améloblastes est ensuite initiée (90).

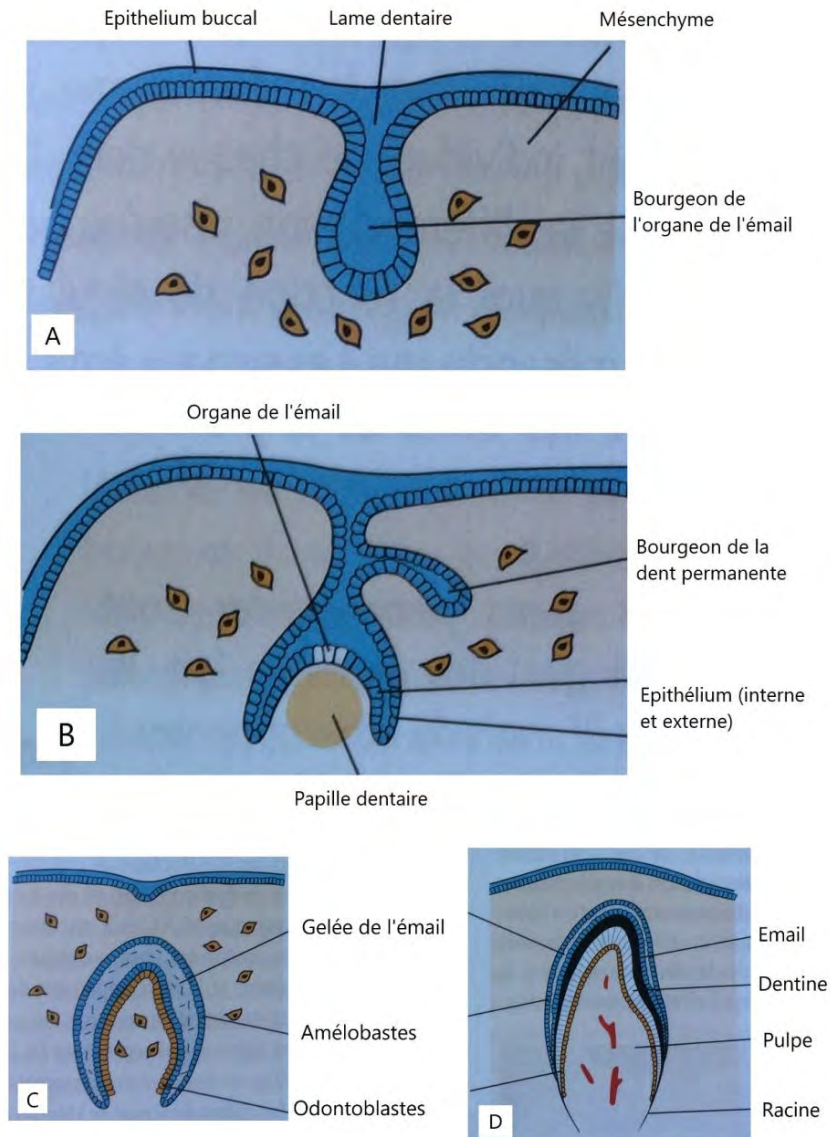


Figure 6 : Schématisation des stades initiaux du développement dentaire (91)

- A : Stade de bourgeon
- B : Stade de cupule
- C : Stade de cloche
- D : Début du développement radiculaire

Cette phase d'odontogenèse primaire fixée, commencent à se développer les structures coronaires puis radiculaires et parodontales en même temps que se produit l'éruption.

2.1.1.2. Eruption

Le développement dentaire d'un individu comprend des processus variés : la formation des cryptes dans l'os alvéolaire, la minéralisation des couronnes et des racines et l'éruption dentaire qui regroupe l'ensemble des mouvements qu'effectue la dent depuis sa position d'inclusion jusqu'à sa position fonctionnelle sur l'arcade dentaire.

Les mécanismes éruptifs ne sont pas encore complètement élucidés mais plusieurs approches ont permis d'apporter certains éléments de réponse : études radiologiques et histologiques de sujets normaux, observations cliniques de sujets présentant des anomalies d'éruption, observations expérimentales chez les animaux.

2.1.1.3. Particularités de l'odontogenèse des dents temporaires

Les dents temporaires ne servent pas seulement de guides pour les dents permanentes, elles sont également impliquées dans l'induction de la formation osseuse lors de leur éruption (92). L'existence de la dent temporaire est éphémère. Elle est régie par trois phénomènes génétiquement programmés : organes trop petits pour une arcade croissante et mal adaptée à l'évolution de la fonction manducatrice, brève période de maturation, qui ne permet pas de former un organe persistant, rapidement suivie d'une période de sénescence pulpaire liée à la résorption.

Les dents de remplacement commencent leur développement morphologique pendant l'odontogenèse des dents temporaires. Ces dernières subissent une rhizalyse (résorption radiculaire physiologique) suivie d'une exfoliation qui coïncident avec le développement de l'organe permanent sous-jacent (93). Ce phénomène, nécessaire à l'éruption des dents permanentes, s'accompagne de modifications du tissu pulpaire. Au stade de formation et développement les DT sont peu minéralisées et faiblement ancrées dans le support osseux. Arrivées au stade de maturité on assiste à une période de stabilité où le potentiel de défense est optimal. Elles passent finalement en phase de sénescence marquée par l'usure et la rhizalyse qui aboutira à l'exfoliation. Aussi, la poussée des germes définitifs sous-jacents se déroule dans un contexte inflammatoire. On assiste à une succession de phases actives de résorption et de réparation par destruction cémentaire et dentinaire, désorganisation des fibroblastes desmodontaux et action des macrophages.

Au stade précoce de la résorption la pulpe reste vivante mais le nombre de fibres nerveuses se réduit. S'ensuit le développement du tissu de granulation et une dégénérescence des odontoblastes. Les structures radiculaires disparaissent peu à peu, remplacées par un tissu de granulation qui progresse jusqu'à l'exfoliation.

Sous l'action conjuguée des forces éruptives de la dent permanente et des forces masticatoires exercées sur la denture temporaire, on observe une modification du tissu conjonctif interposé entre les deux organes dentaires en un tissu de granulation typique fortement hyperhémie de type inflammatoire se met en place. Dans la phase terminale, de très nombreux ostéoclastes sont présents et du tissu de granulation est retrouvé sur les deux versants, pulpaire et desmodontal.

2.2. Les SHED comme source de CSM

Les SHED représentent une source accessible de CSM post-natales qui peuvent être isolées et cultivées *ex vivo*. Isolées depuis le tissu pulpaire de DT et caractérisées initialement par Miura et coll. en 2003, elles font aujourd'hui l'objet de nombreuses recherches afin de déterminer les possibilités thérapeutiques qu'elles pourraient offrir du fait de leurs propriétés (94).

Il a été démontré que leur **taux de prolifération** est plus important que les DPSCs et les BMMSCs (SHED > DPSCs > BMMSCs) (94–96). Elles possèdent également la plus grande **capacité de doublement de population** parmi les CSM recensées (supérieure à 140) (60).

Leur prélèvement présente peu, voire pas, **de risque de morbidité** du site donneur puisque les dents temporaires sont des organes voués à s'exfolier naturellement, contrairement au recueil de BMMSCs qui fait appel à des techniques hautement invasives. Une avulsion dentaire rend opportunément accessible et en quantité intéressante ces cellules pour de potentielles applications cliniques. Les dents temporaires représentent en effet une source intarissable.

2.2.1. Phénotype

Il a été démontré en 2010 par Yamaza et coll. que les SHED expriment les marqueurs de surface mésenchymateux suivants : STRO-1, SSEA-4, CD73, CD105, CD146 (MUC18), CD166 et n'expriment pas CD34 et CD45 (marqueurs hématopoïétiques) (97).

Kerkis et coll. ont résumé les résultats obtenus par Miura et coll.(94) Yamaza et coll. (97) et Pivoriūnas et coll. (98) dans le tableau suivant :

| <i>Stem cell populations</i> | <i>SHED</i> | |
|-------------------------------------|---------------------------------------|--------------|
| Adult/mesenchymal stem cell markers | Miura 2003 and Yamaza/pivoriunas 2010 | |
| SH2 (CD105) | n/a | 6.77%/99.7% |
| SH3/SH4 (CD73) | n/a | 91.93%/97.3% |
| CD29 | n/a | n/a |
| CD146 (MUC 18) | + | 48.39%/66.3% |
| CD44 | n/a | n/a |
| STRO-1 | 9% | 12.06%/n/a |
| Vimentin | n/a | n/a |
| CD117 (c-kit) | n/a | n/a |
| CD90 | n/a | n/a/99.6% |
| Progenitor/stem cell markers | | |
| ALF | + | n/a |
| CD34 | n/a | -/- |
| CD13 | n/a | n/a |
| CD31 | n/a | n/a |
| CD45 | - | -/ |
| ABCG2 | n/a | n/a |
| P63 | n/a | n/a |
| Connexin43 | n/a | n/a |
| Nestin | + | n/a |
| α -Fetoprotein | n/a | n/a |
| Osteonectina | + | n/a |
| P53 | n/a | n/a |
| ECM proteins | | |
| Fibronectin | n/a | n/a |
| Tenascin | n/a | n/a |
| Collagen type I | - | n/a |
| ES cell markers | | |
| Oct3/4 | - | |
| Nanog | - | |
| SSEA-3 | n/a | |
| SSEA-4 | n/a | 85.40%/n/a |
| TRA-1-81 | n/a | |
| TRA-1-60 | n/a | |
| Rex-1 | n/a | |

Figure 7: Résultats des analyses phénotypiques réalisées par Miura et coll. en 2003, Yamaza et coll. et Pivoriūnas et coll. en 2010 (99)

n/a : non analysé, (+) marqueur positif, (-) marqueur négatif

2.2.2. Immuno-modulation

Yamaza et coll. en 2010 ont publié une étude portant spécifiquement sur les propriétés immuno-modulatrices des SHED. A ces fins, ils ont analysé les effets de la transplantation systémique de SHED chez la souris atteinte de lupus érythémateux systémique (modèle MRL/lpr). Une inhibition significative des lymphocytes Thelper 17 (Th17) a pu être observée *in vitro*. Après transplantation, une élévation du taux de lymphocytes T régulateurs (Tregs) a pu être détectée.

Les lymphocytes Th17 produisent des cytokines pro-inflammatoires telles que IL-17 et entretiennent les processus auto-immuns. Les lymphocytes Tregs permettent de supprimer ce type de sécrétion. La transplantation de SHED permettrait donc de moduler le ratio Th17/Tregs en inhibant l'activité des lymphocytes Th17.

2.2.3. Effet trophique et différenciation

Issues nécessairement d'individus jeunes, les SHED sont considérées comme des cellules plus « immatures » que celles prélevées au sein des dents permanentes, bien que cette hypothèse nécessite d'être vérifiée expérimentalement. Leur capacité à proliférer plus rapidement comparativement aux DPSCs, ainsi que leur plus grande « plasticité » pourraient être attribués à cette caractéristique (94,100,101).

2.3. Mise en œuvre des banques de SHED

L'élaboration de thérapies novatrices en médecine régénérative doit s'inscrire dans un contexte d' « approche centrée sur le patient ». Il ne s'agit plus de traiter une pathologie mais bien des individus car chacun sait qu'il existe de grandes disparités inter-individuelles ; les facteurs environnementaux, sociaux et économiques ne pouvant être négligés pour une prise en charge adéquate des patients.

Des méthodes de conservation de cellules et/ou tissus sains, en vue de leur utilisation autologue différée éventuelle, ont été développées. La transplantation cellulaire autogène a pour avantage de ne présenter que très peu voire pas du tout de risque de rejet immunitaire, l'adjonction de traitement immunosuppresseur n'est donc pas requise en général. Le recours à ce type de greffe élimine également le risque de contracter une maladie provenant du donneur (101).

Des infrastructures de stockage de SHED existent actuellement dans d'autres pays développés tels que le Japon (Three Brackets), la Suisse (Future Health Biobank), la Norvège (Norwegian Tooth Bank) ou encore les Etats-Unis (Store-a-tooth, StemSave, BioEden). Certaines de ces compagnies étendent leurs horizons à l'international, comme par exemple la compagnie BioEden qui possède des laboratoires en Angleterre et en Thaïlande. Cependant les lois en vigueur qui s'appliquent à de telles pratiques varient selon le pays considéré. La France n'autorise pas la conservation de cellules pour une utilisation différée dans le cadre de la greffe autologue en l'absence de pathologie qui justifierait cette démarche (voir partie **4. Bioéthique et législation**).

Le stockage de SHED implique des étapes de laboratoire précédées par des étapes cliniques et nécessite en amont une information du patient ; dans ce cas particulier le consentement des parents ou du responsable légal.

Le protocole de banking de SHED que nous proposons de retranscrire dans ce travail a été publié par Arora et coll. en 2009 (102).

2.3.1. Prélèvement

Les SHED ne seront prélevées qu'après validation de certains critères de sélection. Cela implique une phase d'observation clinique macroscopique par le chirurgien-dentiste complétée par des examens radiologiques.

Il serait préférable, selon les auteurs, d'avulser la dent avant son exfoliation naturelle, lorsqu'une mobilité « modérée » de cette dernière peut être objectivée. Le tissu pulpaire doit être de couleur rouge, indiquant qu'il y a eu un afflux sanguin avant avulsion. Si une coloration grisâtre est objectivée, il en sera déduit que la pulpe est nécrosée et non exploitable. Les clichés radiographiques doivent permettre de confirmer le diagnostic. Il s'agira majoritairement d'incisives et de canines présentant une résorption radiculaire ayant atteint le tiers coronaire. Dans le cas des molaires temporaires, il serait conseillé de retenir seulement celles extraites pour raisons orthodontiques à un stade relativement précoce (101).

La ou les dent(s) sélectionnée(s) sont alors transférées dans un flacon contenant une solution saline de phosphate hypotonique (apportant les nutriments nécessaires et permettant d'éviter le dessèchement des tissus). Le flacon est alors placé dans un dispositif permettant le contrôle de la température puis l'ensemble est inséré dans un système de transport isolant. L'échantillon est ainsi maintenu dans un état hypothermique durant le transport (sustentation). La viabilité des cellules dépend notamment de la température et du temps écoulé entre le prélèvement et le stockage.

2.3.2. Isolation

Après réception au laboratoire où les cellules seront conservées, le protocole peut être décrit comme suit :

- Nettoyage de la surface dentaire au PBSA (Dulbecco's Phosphate Buffered Saline without Ca²⁺ and Mg²⁺) (trois lavages),
- désinfection avec povidone iodée puis de nouveau lavage au PBSA,
- récupération du tissu pulpaire caméral (excavateur stérile ou rinçage),
- pulpe placée dans une boîte de pétri stérile,
- digestion tissulaire avec :

Collagenase Type 1 et Dispase pendant une heure à 37°C,

Ou Trypsine – EDTA,
- obtention de suspensions unicellulaires à l'aide d'un filtre de 70 µm

2.3.3. Culture

Les cellules sont ensuite placées dans un milieu adapté à la culture des CSM (« *α modified minimal essential medium* ») avec : 2mM de glutamine, 15 % de sérum de veau fœtal (SVF), 0,1 mM phosphate acide L-ascorbique, 100 µg/ml pénicilline, 100 µg/ml streptomycine, à 37°C et 5% de CO₂ dans l'air.

En modifiant le milieu de culture il est possible d'obtenir plusieurs lignées cellulaires : odontoblastes, adipocytes, cellules nerveuses, etc. Si les cultures sont réalisées avec une préparation non sélective, certaines colonies peuvent correspondre à des cellules semblables morphologiquement aux cellules épithéliales ou endothéliales qui disparaissent habituellement après plusieurs passages. Dans le cas contraire il est possible d'avoir recours à trois procédures :

- « retrysiniser » les cultures sur une courte durée pour que les cellules stromales se détachent
- Changer le milieu 4 à 6 heures après les subcultures (les cellules stromales adhèrent plus précocement)
- Trier des cellules marquées par fluorescence avec l'utilisation des marqueurs STRO-1 ou CD 146

Ce n'est qu'une fois ces étapes validées que les parents et le donneur sont informés de la viabilité des cellules et la possibilité de les stocker pour de potentielles applications futures.

2.3.4. Conservation

Il existe principalement deux approches pour le stockage des cellules permettant leur utilisation différée.

2.3.4.1. Cryopréservation

Dans ce procédé, les cellules sont préservées dans la vapeur de nitrogène liquide à une température inférieure à 150 °C. L'activité biologique en est stoppée, ainsi que les processus pouvant provoquer la mort cellulaire (103). Les cellules conserveraient de ce fait leurs propriétés et leur viabilité à long terme (104,105).

Pour plus de sûreté l'échantillon est séparé en plusieurs « cryo-tubes » introduits dans des systèmes distincts. Pour un stockage optimal il serait préférable que les cellules soient placées dans ces dispositifs en cours de phase exponentielle de croissance.

2.3.4.2. Congélation magnétique

L'application d'un champ magnétique permet d'abaisser le point de congélation de l'organisme que l'on souhaite conserver (à 6-7°C). Il s'agit d'un refroidissement permettant de s'affranchir des inconvénients de la congélation conventionnelle tels que les dommages pouvant être causés par l'expansion de la glace sur la paroi cellulaire. Une fois l'échantillon uniformément refroidi, le champ magnétique est stoppé et la congélation se produit très rapidement. Cette technologie connue sous le nom de CAS (« Cells Alive System ») a été mise au point par la société Abi et est, à l'heure actuelle, utilisée par l'Université d'Hiroshima (Japon) qui suggère qu'elle permettrait d'améliorer le taux de survie cellulaire. Il s'agirait d'un moyen de préservation moins onéreux et plus fiable que les techniques conventionnelles (102).

Les approches diffèrent selon les auteurs, quant à la technique employée pour la conservation des cellules et le type de produit biologique à stocker. Certains auteurs proposent d'isoler et purifier les SHED avant leur stockage alors que d'autres considèrent qu'il serait préférable (considérant le coût et le temps de travail en laboratoire) de conserver les échantillons biologiques entiers, c'est-à-dire les dents extraites.

Giuventù et coll. en 2012, publiaient les résultats d'une étude comparative sur le sujet et tentaient de démontrer l'apport d'une technique de percée des dents par laser Nd:YAG. Cela permettrait de créer des micro-tunnels au travers des tissus minéralisés, servant à la diffusion du milieu de cryoconservation du tissu pulpaire (106).

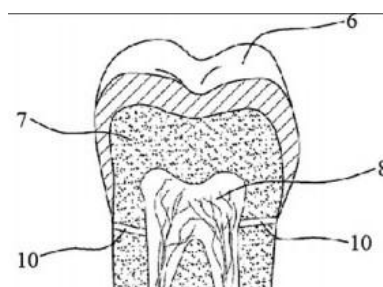


Figure 8 : Localisation des micro-tunnels après percée laser (106)

(10) : localisation préférentielle

A des fins de comparaison, trois stratégies ont été mises en œuvre afin d'analyser l'impact de la cryopréservation des cellules et l'apport éventuel de la technique développée. En pratique, 4 dents ont été percées avant congélation (méthode 1), 2 ont été fracturées mécaniquement immédiatement après récupération (méthode 2), 4 autres ont été cryopréservées selon les méthodes conventionnelles après fracture mécanique (méthode 3). Les propriétés des SHED *in vitro* se sont révélées semblables selon les méthodes 1 et 2 (morphologie, phénotype immun, viabilité et taux de prolifération). En revanche, le procédé de fracture mécanique avant cryoconservation semblerait altérer certaines propriétés des SHED : altération de la viabilité des cellules et diminution significative du taux de prolifération. Cependant, des études plus approfondies intégrant un plus grand nombre d'échantillons et sur le long terme sont nécessaires pour valider ces premières observations.

Malheureusement, il n'existe pas de protocole universel établi pour le banking des SHED, les méthodes sont diverses et les données scientifiques dont nous disposons à ce sujet également. Arora et coll. ont pour exemple estimé le temps entre le prélèvement de l'échantillon et le stockage des cellules à 40 heures maximum, sans qu'aucune justification d'ordre biologique ne soit explicitée. Les critères permettant de sélectionner les dents potentiellement éligibles au stockage mériteraient également d'être clarifiés, dans un souci d'harmonisation des démarches diagnostiques. A noter enfin, qu'il n'est pas fait mention des éventuels désordres fonctionnels engendrés par une avulsion « prématurée » des dents temporaires. Ces dernières participent aux fonctions essentielles telles que la phonation et la mastication et cela doit être pris en considération pour ne pas interférer dans le développement de l'enfant.

3. INTERETS THERAPEUTIQUES DES SHED EN REGENERATION

3.1. Processus de régénération

La régénération est un processus physiologique complexe aboutissant à la restauration fonctionnelle et architecturale des tissus, à différencier du phénomène de réparation qui permet seulement de rétablir la fonction, et qui souvent n'est pas pérenne.

La réaction inflammatoire précède toujours la réparation/régénération tissulaire d'un conjonctif. La réparation tissulaire aboutit à une cicatrice si le tissu lésé ne peut régénérer ou lorsque la destruction tissulaire a été importante et/ou prolongée. Toutefois, et de manière encore exceptionnelle et souvent peu contrôlée, la réaction peut aboutir à la reconstitution d'un tissu conjonctif identique au tissu préexistant : c'est la régénération (107).

Les tissus dentaires (à l'exception de l'émail) ont des capacités de régénération qui dépendent essentiellement des compétences de leurs CSM endogènes (108).

3.2. Principes de la thérapie cellulaire et de l'ingénierie tissulaire

Le domaine de la **médecine régénérative** regroupe les approches thérapeutiques ayant pour objectif le rétablissement d'un organe dont les cellules ont été endommagées ou détruites, par un traumatisme, une pathologie ou le vieillissement. Elle peut faire appel à diverses stratégies d'utilisation des CSM : remplacement cellulaire direct, recrutement de progéniteurs endogènes locaux, stimulation de l'angiogenèse, immuno-modulation.

La **thérapie régénérative** a pour but de recréer sur le site lésé un microenvironnement favorable à l'activation des progéniteurs et à les orienter vers un phénotype spécifique permettant la mise en place d'une MEC adaptée à la fonction (109).

Les greffes cellulaires peuvent être réalisées à partir de trois sources : l'individu lui-même (autogreffe), un autre individu de la même espèce (allogreffe) ou enfin un individu d'une espèce différente (xénogreffe).

Le développement de **biothérapies cellulaires** nécessite de prendre en compte certains paramètres essentiels qui ont été résumés par Bernard Klein (directeur de l'Institut de recherches en biothérapie, Montpellier) et John de Vos (responsable de l'Unité de thérapie cellulaire du CHU de Montpellier) à l'occasion d'un Séminaire Ketty Schwartz en 2011. Il en est ressorti les principes essentiels suivants :

- Identifier la lésion et les cellules ou molécules pouvant la corriger
- Viser une régénération à long terme du tissu :

Les cellules injectées doivent être capables de proliférer *in vivo* et de générer de façon continue des cellules différenciées (allogreffe de CSHs par exemple) ou bien être injectées après différenciation et être capables de survivre à long terme (greffe d'îlots de Langherans par exemple).

- S'assurer de la sécurité et l'innocuité des produits administrés :

Il faut avoir recours à des techniques visant à détecter les anomalies génétiques dans un petit contingent cellulaire puisque des lésions chromosomiques sont susceptibles d'apparaître *in vitro*. L'objectif étant d'éliminer le risque de formations tumorales.

Pour que les cellules injectées *in vivo* exercent la fonction attendue, il faut en amont identifier les facteurs et les conditions nécessaires à l'engagement des cellules dans la voie de différenciation appropriée.

- Evaluer la vascularisation du tissu :

La survie des cellules dépend de leur proximité aux vaisseaux sanguins (apport d'oxygène, élimination du CO₂, apport de nutriments pour la prolifération et l'activité métabolique).

- Choisir la voie d'administration la plus appropriée (locale ou systémique)
- Evaluer les composants du microenvironnement local nécessaires à la survie, la prolifération et la différenciation des cellules injectées
- Connaître et contrôler le comportement du système immunitaire après transplantation

Les thérapies cellulaires ont l'avantage majeur de viser une guérison définitive du patient après une injection unique de cellules (« one shot treatment »). Ceci explique les moyens scientifiques et médicaux considérables investis pour ces thérapies (110).

L'**ingénierie tissulaire** trouve son origine au croisement de plusieurs disciplines que sont la biologie, l'ingénierie et la clinique. Elle consiste en une incorporation de cellules progénitrices au sein de biomatériaux de support (associés ou non à des facteurs de croissance) qui ont pour rôle de guider l'expansion et la différenciation des cellules ; ce dispositif a pour but la formation artificielle du tissu lésé (111,112).

Les biomatériaux de support ou de soutien (appelés aussi « échafaudages » ou « scaffolds ») correspondent à des réseaux tridimensionnels et peuvent être d'origine naturelle ou synthétique. Ils doivent être biocompatibles, leur structure doit permettre une néo-vascularisation et être compatible avec la colonisation et la conductivité des cellules. Aussi, leur taux de dégradation doit être à la fois prédictible et reproductible. Leur porosité doit également permettre la colonisation et la conductivité cellulaire (113,114).

3.3. Utilisation des SHED en médecine régénérative

Depuis leur découverte, les SHED ont suscité un intérêt croissant au sein de la communauté scientifique. Leurs propriétés et les capacités diverses dont elles ont fait preuve, additionné à leur facilité de prélèvement et aux quantités potentiellement disponibles, en feraient des candidates idéales pour des applications cliniques en médecine régénérative. Elles s'inscrivent également dans le concept de « waste material re-utilization » (115). En effet, les DT considérées jusqu'alors comme des déchets médicaux, représentent aujourd'hui une source intarissable d'éléments potentiellement exploitables en thérapeutique.

Selon les effets recherchés ou bien les propriétés pour lesquelles elles ont été étudiées, les SHED ont été administrées seules ou associées à un support (« scaffold »). Certains chercheurs et auteurs ont focalisé leurs travaux sur les applications cliniques potentielles pouvant être développées à partir de milieux conditionnés par ces cellules, c'est-à-dire des milieux contenant les facteurs sécrétés par ces dernières. C'est ce que nous appellerons par la suite « SHED-CM » pour « conditioned medium ».

3.3.1. Neurologie

3.3.1.1. *Lésions de la moelle épinière*

Les lésions de la moelle épinière (LME) peuvent être causées dans certains cas par une pathologie (comme un cancer) mais sont dans la grande majorité des cas d'origine traumatique (accident, chute, violence) (116). Les ruptures anatomiques avec perte de continuité sont relativement rares par rapport aux contusions. Elles peuvent entraîner des paralysies et ne bénéficient d'aucun traitement efficace à ce jour. Lors de paraplégie ou de tétraplégie l'objectif est de rétablir le fonctionnement de la moelle épinière sectionnée ou comprimée en rétablissant la continuité axonale.

Sakai et coll. en 2012 ont publié des résultats encourageants, pouvant faire envisager d'utiliser la transplantation de SHED dans le cas de LME (117). Dans un modèle de rat dont la moelle épinière avait été sectionnée, l'apport de SHED aurait permis un rétablissement, bien que partiel, des fonctions locomotrices des membres inférieurs. La phase aiguë initiale suivant la LME se poursuit par des dommages secondaires causant la nécrose tissulaire et l'apoptose des neurones. Ces phénomènes s'étendent depuis la zone lésée et provoquent ainsi des dommages de plus en plus importants.

Les facteurs trophiques sécrétés par les SHED permettraient de promouvoir la survie neuronale, leur prolifération, leur différenciation et leur migration (118–120). Leur activité neurorégénérative s'illustre au travers de trois mécanismes principaux :

- Inhibition de l'apoptose des neurones, des astrocytes et des oligodendrocytes, préservation des neurofilaments et des gaines de myéline
- Action paracrine sur les facteurs inhibant la croissance axonale (protéoglycanes et glycoprotéines sécrétées par les astrocytes et les oligodendrocytes, respectivement)
- Amélioration de la trophicité tissulaire par remplacement cellulaire en se différenciant en oligodendrocytes matures

3.3.1.2. *Lésions nerveuses périphériques*

Une lésion nerveuse périphérique (LNP) peut être causée par un traumatisme ou bien être la conséquence de complications chirurgicales. Elle entraîne une démyélinisation des axones et provoque l'atrophie ainsi que la perte de fonction du muscle correspondant. Selon l'importance de la lésion, les séquelles peuvent être variées et les approches thérapeutiques employées également. Si la taille de la lésion est d'environ 1 à 2 mm, une régénération « naturelle » peut s'envisager. Une suture « bout-à-bout » est observée en-deçà de 5 mm. Pour des défauts plus larges il faudra envisager d'autres thérapeutiques, telle que la greffe autologue, qui constitue le « gold standard » actuel (121). Cependant elle présente certains inconvénients non négligeables, tels que la morbidité du site donneur, la formation éventuelle de névrome douloureux ou encore l'absence de compatibilité entre le greffon et le site receveur.

Après l'apparition d'une LNP, les macrophages recrutés depuis la circulation sanguine vont phagocyter les axones, produire des facteurs de croissance et promouvoir la migration des cellules de Schwann, cellules gliales majeures du système nerveux périphérique. Ces dernières jouent un rôle prépondérant dans la régénération axonale (produisent des facteurs neurotrophiques, des cytokines et les composants de la MEC) mais participent également à la phagocytose des axones et de la myéline au cours des premiers stades suivants les lésions.

La transplantation de CSM permettrait de promouvoir la régénération tissulaire via un mécanisme paracrine. Les molécules sécrétées par les SHED pourraient permettre de moduler localement l'activité des cellules endogènes au sein du tissu cible. Elles conditionneraient le microenvironnement local par la sécrétion d'exosomes qui servent notamment à la communication cellulaire en transférant des ARNmessagers et des microARN, ainsi qu'à l'expulsion de composants cellulaires tels que des protéines produites en trop grande quantité (122).

En 2015, Sugimura-Wakayama et coll. ont publié une étude portant sur les effets paracrines potentiels des SHED (123). *In vitro*, l'addition de SHED-CM a permis une amélioration significative de la migration des cellules de Schwann ainsi qu'un accroissement de leur taux de prolifération. Cela a en outre eu un effet positif sur l'expression de gènes relatifs à la formation de MEC et à l'angiogenèse.

In vivo, dans un modèle murin de lésion du nerf sciatique (de l'ordre de 10 mm), il a été montré que les individus auxquels ont été administré SHED-CM possédaient un nombre d'axones myélinisés significativement plus important que le groupe contrôle 12 semaines après chirurgie. L'atrophie du muscle gastrocnémien aurait ainsi été réduite.

Les SHED sécrètent notamment des facteurs trophiques qui sembleraient favoriser la régénération des nerfs périphériques et par extension la récupération de la fonction musculaire correspondante. Ainsi elles pourraient permettre de créer un microenvironnement favorable à la régénération nerveuse périphérique.

3.3.1.3. *Maladie de Parkinson*

La maladie de Parkinson est l'une des maladies neurodégénératives les plus répandues. Elle est causée par la perte de neurones dopaminergiques au sein de la substance noire (124) et se traduit par des symptômes tels que des tremblements, une rigidité et une bradykinésie (trouble moteur qui se caractérise par un ralentissement des mouvements et la perte de la finesse du mouvement).

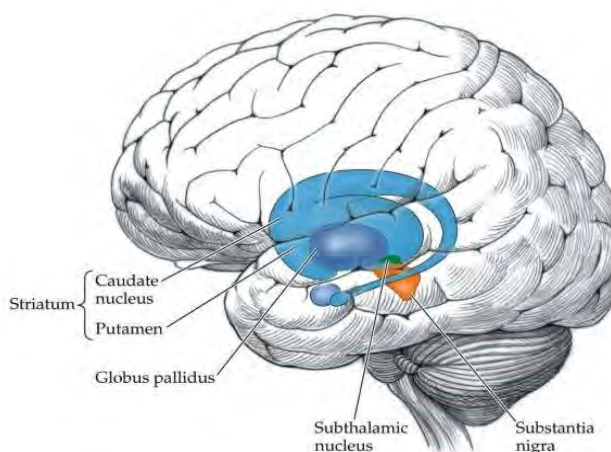


Figure 9 : Localisation anatomique de la substance noire (125)

Dans des conditions de culture standard, en l'absence de facteurs inductifs neuronaux, il a été montré que les SHED exprimaient des marqueurs neuraux (Nestin) et gliaux (GFAP) (reflétant l'origine ectomésenchymateuse) (84,94). De plus, des cellules de la pulpe dentaire issues de rats ont été capables de survivre et d'exprimer des marqueurs neuronaux après transplantation dans le cerveau de rongeur (118). Certains auteurs considèrent que du fait qu'elles dérivent des cellules des crêtes neurales, leur potentiel neurogénique serait plus important comparé à d'autres cellules de la lignée mésodermique (96).

In vitro, l'addition de cytokines telles que SHH (sonic hedgehog), FGF-8 (fibroblast growth factor 8), GDNF (glial cell line-derived neurotrophic factor) et Forskoline, a permis d'induire une différenciation des SHED en une population cellulaire semblable aux neurones dopaminergiques. L'étape de « pré-différenciation » *in vitro* semble améliorer les résultats obtenus après transplantation dans le striatum. En effet les désordres comportementaux observés chez le rat semblent réduits dans ce cas (126). Aussi, les cellules transplantées ont pu survivre et se différencier en cellules semblables aux neurones dopaminergiques dans une étude menée chez le rat parkinsonien (96).

3.3.2. Cardiologie

Les maladies cardio-vasculaires (MCV) font partie des principales causes de mortalité dans le monde. L'Organisation Mondiale de la Santé a estimé à 17,7 millions le nombre de décès imputables aux maladies cardio-vasculaires, soit 31% de la mortalité mondiale totale (127). La réduction du nombre de décès imputables aux MCV est un enjeu majeur de santé publique.

3.3.2.1. Infarctus du myocarde

L'infarctus du myocarde (IDM) est généralement dû à la présence de facteurs de risques combinés et se traduit le plus souvent par un phénomène aigu pouvant engager le pronostic vital. Les thérapies indiquées actuellement, pharmacologiques et chirurgicales, ne peuvent palier de façon satisfaisante aux dommages irréversibles du tissu cardiaque engendrés par un IDM.

Il a été rapporté que l'administration de DPSCs pourrait permettre d'améliorer la fonction cardiaque après un IDM, dans un modèle de rat (128).

En 2015, Yamaguchi et coll. ont proposé d'évaluer les effets de l'administration de SHED-CM *in vivo* chez la souris atteinte d'ischémie cardiaque aiguë. Les capacités de modulation du comportement des cardiomyocytes *in vitro* par SHED-CM ont également été testées (129).

L'administration systémique de SHED-CM a permis de réduire la taille des lésions myocardiques après ischémie/reperfusion (I/R) chez la souris.



Figure 10 : Représentation de tissus myocardiques de souris traitées par SHED-CM ou DMEM (contrôle) 24 heures après I/R (129)

En bleu : zone non-ischémique

En rouge : zone à risque

En blanc : zone d'infarctus

Les phénomènes d'apoptose observés lors de pathologies cardiaques ischémiques pourraient également être diminués par l'injection de SHED-CM *in vivo*. La production accrue de cytokines pro-inflammatoires est une composante prédominante des lésions myocardiques post-ischémiques (130). L'expression des cytokines TNF- α , IL-6 et IL-1 β s'accroît après I/R mais l'administration de SHED-CM pourrait permettre d'atténuer ce processus.

De plus, les expériences menées *in vitro* ont démontré que l'application de SHED-CM promeut la survie des cardiomyocytes en réponse à l'hypoxie.

3.3.3. Pneumologie

3.3.3.1. *Syndrome de détresse respiratoire aiguë*

Le syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA) de l'adulte se traduit par un œdème pulmonaire de perméabilité survenant à la suite d'une agression directe ou indirecte de la membrane alvéolo-capillaire, associé à une inflammation pulmonaire intense et une hypoxémie sévère (diminution critique de la quantité d'oxygène contenue dans le sang).

En 2015, Wakayama et coll. ont publié les résultats d'une étude portant sur les effets de l'administration de SHED et de SHED-CM dans un modèle murin d'atteinte pulmonaire aiguë (131). Une seule injection intraveineuse de chaque type (cellules et milieu conditionné) a permis d'atténuer les dommages pulmonaires et ainsi d'accroître le taux de survie. L'un des effets thérapeutiques observés concernait l'atténuation de la réponse pro-inflammatoire grâce aux facteurs sécrétés par les SHED considérés comme responsables de l'induction de l'activité macrophagique au sein des poumons.

Les macrophages évoqués étaient de type M2 mais cette notion de polarisation M1/M2 recouvrerait en réalité un continuum d'états fonctionnels. Ils pourraient ainsi être, dans un premier temps, inflammatoires avant de participer à la résolution de l'inflammation, ce qui suggère que les changements fonctionnels des macrophages résultent de modifications de leur microenvironnement (132).

3.3.4. Hépatologie

Le foie est la plus volumineuse glande de l'organisme (à sécrétion endocrine et exocrine). Il joue un rôle métabolique majeur dans les conditions physiologiques et occupe une place centrale dans un grand nombre de métabolismes médicamenteux.

Il est doté d'un système enzymatique très riche qui participe à l'élimination des endo- et des xénobiotiques (médicaments, alcool). L'intoxication alcoolique provoque d'importants dégâts hépatocytaires. Chez le buveur excessif, l'acétaldéhyde produit en trop grande quantité ne peut être métabolisé et se fixe sur les membranes cellulaires, les détruisant par des mécanismes toxiques puis inflammatoires et immunologiques. Par la suite on assiste à une nécrose séquelle, une stéatose, une hépatite alcoolique et enfin à la cirrhose. D'autres types de lésions chroniques peuvent aboutir à une cirrhose hépatique : hépatite virale, hépatite auto-immune.

Il n'existe pas de traitement curatif actuellement, la seule thérapeutique envisageable consiste en une greffe de foie dont les inconvénients tels que la faible proportion de donneurs et le risque non négligeables de complications ont poussé les chercheurs à explorer de nouvelles voies.

Ishkitiev et coll. ont été les premiers à avoir rapporté la capacité de différenciation hépatogénique des CSM issues de la pulpe dentaire *in vitro* (133). Les cellules extraites de pulpe de dents temporaires ont été mises en culture dans un milieu contenant de l'HGF (hepatocyte growth factor), de l'oncostatine M et de l'Insulin-Transferrin-Selenium-X. Dans ces conditions, elles ont été capables de se différencier en cellules semblables à des hépatocytes (par un mécanisme de transdifférenciation) et une production d'albumine a pu être observée. Elles ont également été capables de métaboliser l'ammoniac en urée, suggérant la présence d'un cycle de l'urée.

En 2015, une étude a été menée pour évaluer les effets de la transplantation d'hépatocytes dérivés de SHED chez des rats atteints d'insuffisance hépatique aigüe et de cirrhose biliaire secondaire (due à un obstacle situé dans les canaux transportant la bile, empêchant son écoulement normal à l'extérieur de la glande). Les tests réalisés ont permis de montrer l'absence de fibrose chez les animaux ayant reçu une transplantation cellulaire directe, ainsi que l'intégration fonctionnelle des cellules (134).

Ito et coll. ont rapporté que l'administration de SHED-CM chez le rat atteint d'insuffisance hépatique sévère exerçait un effet anti-inflammatoire via l'induction de l'activité macrophagique M2, stoppant de ce fait l'apoptose des hépatocytes (135).

3.3.5. Immunologie

3.3.5.1. Lupus érythémateux systémique

Le lupus érythémateux systémique (LES), encore appelé lupus érythémateux disséminé, est une maladie chronique auto-immune non spécifique d'un organe dont les causes restent inconnues. Elle est caractérisée par la production d'auto-anticorps anti-nucléaires, anti-ADN. Parmi les facteurs déclenchants on note les facteurs environnementaux, hormonaux et immunologiques. Cette réaction auto-immune est entretenue par différentes boucles d'amplification dont les mécanismes mettent en jeu à la fois des cibles cellulaires (lymphocytes B, lymphocytes T, cellules dendritiques) et des cibles moléculaires (cytokines telles que les interférons α et β , protéines impliquées dans la signalisation cellulaire, protéines d'adhésion cellulaire).

Il n'existe pas de traitement curatif pour cette pathologie, aussi les seuls traitements disponibles visent à réduire les symptômes et prévenir les complications. Seront indiqués certains anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens ainsi que des immunosuppresseurs (136).

En 2010, Yamaza et coll. ont publié les résultats de leurs recherches sur les effets de la transplantation de SHED dans un modèle murin de LES (souris MRL/lpr) (97). Ils ont ainsi rapporté une réduction significative des taux d'auto-anticorps anti-nucléaires, anti-ADN double brin IgM et IgG, retrouvés dans le serum. La fonction rénale en aurait également été en partie restaurée (réduction du taux de C3 dans l'urine, augmentation du taux de Créatinine dans le serum).

3.3.6. Régénération osseuse

Les SHED ont montré un très fort potentiel d'ostéo-induction dans des modèles d'étude animaux. En 2008, Seo et coll. ont publié une étude portant sur la capacité des SHED à induire une néoformation osseuse *in vivo* dans un modèle de souris immunodéprimées chez lesquelles un défaut osseux, de grande étendue, avait été créé au niveau de la calvaria (92). Les SHED ont été transplantées à l'aide d'un support d'hydroxyapatite/phosphate tricalcique (HA/TCP) et les résultats montrent une néoformation osseuse considérable en utilisant cette technique.

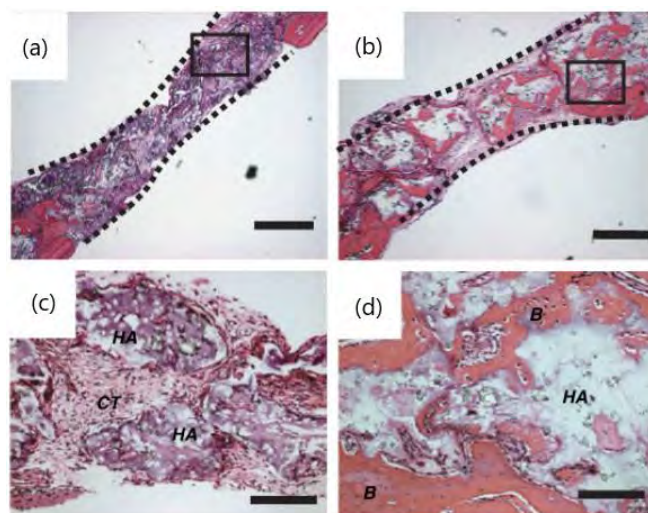


Figure 11 : Analyse histologique de la néo-formation osseuse induite par les SHED sur un support d'HA/TCP (92)

(a)(c) : groupe contrôle, tissu conjonctif seulement (CT)

(b)(d) : transplants de SHED montrant une néo-formation osseuse (B)

Le potentiel ostéogénique des SHED a également été étudié chez le chien, au niveau de la mandibule, par Behnia et coll. en 2014 (137). Les cellules, isolées à partir de DT humaines, avaient été cryopréservées durant 5 ans avant de servir à l'étude. Elles ont conservé la capacité à proliférer ainsi que leur aptitude à induire une régénération du tissu osseux. L'analyse effectuée 12 semaines après transplantation n'a révélé l'apparition d'aucune formation tumorale ou de signe de malignité associé à cette thérapeutique.

| Cible thérapeutique | Auteurs | Source cellulaire | Modèle animal | Résultats |
|---|-------------------------------|-------------------------------|---------------|--|
| Lésion nerveuse périphérique | Sugimura et coll. 2015 (123) | SHED-CM | Rat | <i>In vitro</i> : amélioration de la migration et la prolifération des cellules de Schwann <i>In vivo</i> : Accroissement du nombre d'axones myélinisés Réduction de l'atrophie du muscle gastrocnémien |
| Maladie de Parkinson | Nosrat et coll. 2004 (118) | Cellules issues de DT de rat | Rat | <i>In vivo</i> : Survie des cellules Expression de marqueurs neuronaux |
| | Zhang et coll. 2018 (126) | SHED induites <i>in vitro</i> | Rat | <i>In vivo</i> : Réduction des désordres comportementaux |
| | Wang et coll. 2010 (96) | SHED | Rat | <i>In vivo</i> : Différenciation en cellules semblables aux neurones dopaminergiques |
| Infarctus du myocarde | Yamaguchi et coll. 2015 (129) | SHED-CM | Souris | <i>In vitro</i> : Effet positif sur la survie des cardiomyocytes dans un contexte d'hypoxie <i>In vivo</i> : Réduction de la taille des lésions myocardiques Réduction de l'apoptose Effet inhibiteur sur l'expression des cytokines TNF- α , IL-6, IL-1 β |
| Syndrome de détresse respiratoire aiguë | Wakayama et coll. 2015 (131) | SHED et SHED-CM | Souris | <i>In vivo</i> : Atténuation des dommages pulmonaires Atténuation de la réponse pro-inflammatoire Amélioration du taux de survie |
| Insuffisance hépatique | Ishkitiev et coll. 2010 (133) | SHED | - | <i>In vitro</i> : Différenciation hépatogénique Production d'albumine Cycle de l'urée |
| | Ishkitiev et coll. 2015 (134) | SHED induites <i>in vitro</i> | Rat | <i>In vivo</i> : Intégration fonctionnelle des cellules Absence de fibrose séquellaire |
| | Ito et coll. 2017 (135) | SHED-CM | Rat | <i>In vivo</i> : Effet anti-inflammatoire Réduction de l'apoptose hépatocytaire |
| Lupus érythémateux systémique | Yamaza et coll. 2010 (97) | SHED | Souris | <i>In vivo</i> : Réduction des taux d'auto-anticorps dans le serum Amélioration de la fonction rénale |
| Régénération osseuse | Seo et coll. 2008 (92) | SHED (support HA/TCP) | Souris | <i>In vivo</i> : Néoformation osseuse au niveau de la calvaria |
| | Behnia et coll. 2014 (137) | SHED | Chien | <i>In vivo</i> : Néoformation osseuse au niveau de la mandibule |

Tableau 3 : Tableau récapitulatif des études menées *in vitro* et *in vivo* sur l'utilisation potentielle des SHED en médecine régénérative (non exhaustif, études évoquées dans ce travail)

3.4. SHED et régénération des tissus de la cavité orale

Dans le domaine de la médecine orale, les recherches sont orientées vers deux approches :

- Génération d'un germe entier (111,138,139)
- Régénération d'une structure ciblée

La formation d'un germe dentaire exige de récapituler les processus de développement odontogène et nécessite notamment la présence de cellules épithéliales et ecto-mésenchymateuses compétentes. L'élaboration de cet organe « bio-artificiel » doit faire intervenir des cellules progénitrices d'origines diverses ainsi que des matériaux de support et des molécules bioactives adéquats. En 2009, Ikeda et coll. sont parvenus à créer un germe dentaire *in vitro*, en utilisant les CSM et les cellules épithéliales prélevées au sein d'un bourgeon dentaire. Après 7 jours de culture, le germe néo-formé a été réimplanté dans une alvéole vide de souris. L'éruption de la dent correspondante a pu avoir lieu, sa structure était viable et fonctionnelle et elle s'est intégrée à l'occlusion.

Ces résultats, laissent penser qu'à l'avenir les chirurgiens-dentistes pourraient avoir à disposition les outils permettant de générer de nouvelles dents, de remplacement. Cette option s'ajouterait alors à l'arsenal thérapeutique de réhabilitation prothétique. Il faut cependant rester prudent vis-à-vis de l'interprétation de telles conclusions. L'extrapolation des résultats de l'animal à l'homme n'est pas chose aisée, pour des raisons génétiques évidentes ainsi que du fait des nombreux paramètres à considérer quant aux patients. Leur état de santé général, les traitements pharmacologiques, les facteurs de risque tels que le tabac ou l'alcool ; ne peuvent être ignorés. La mise en œuvre de telles thérapeutiques nécessite une réflexion approfondie sur le plateau technique à employer, les modifications infrastructurelles qui en découleraient, la formation des praticiens, notamment. Il s'agit également d'évaluer le coût, pour la société et les patients, que peuvent représenter de telles pratiques, que l'on pourrait qualifier de thérapeutiques d'exception.

3.4.1. Complexe dentino-pulpaire

En conditions physiologiques, les cellules progénitrices endogènes n'ont pas la capacité de régénérer *ad integrum* les structures tissulaires pulpaire lorsque les lésions ont atteint un stade avancé ; d'autant que leur potentiel diminue avec l'âge (140).

L'ingénierie tissulaire du tissu pulpaire pourrait être une alternative aux traitements conventionnels endodontiques. Cette stratégie thérapeutique viserait à promouvoir la revitalisation de dents nécrosées ou servirait dans le cas d'inflammations pulpaire irréversibles, *via* la formation d'un nouveau tissu sain et fonctionnel capable de produire de la dentine (141).

Il s'agirait d'une approche intéressante pour permettre aux dents permanentes immatures nécrosées de terminer leur édification radiculaire dans de meilleures conditions (142). Deux théories s'affrontent quant aux cellules impliquées dans ce phénomène. Les DPSCs disparaîtraient lors de l'infection et les SCAP seraient la source primaire des odontoblastes et des cellules pulpaire (77). Cette théorie est remise en cause par certains auteurs qui évoquent une possible survie des DPSCs à l'infection au niveau apical ; dans ce cas, les DPSCs seraient en nombre suffisant pour recoloniser le canal (143,144). La technique de revitalisation en « endodontie régénérative » semble intéressante mais limitée aux dents très immatures. La nature du tissu présent dans le canal et la possibilité d'allongement radiculaire font l'objet de débats (145).

Le succès d'une thérapeutique visant la régénération du tissu pulpaire dépend en partie de la revascularisation des tissus lésés. Les recherches menées par Sakai et coll. ont permis de confirmer les résultats publiés par Miura et coll. concernant le potentiel odontogénique des SHED et ont analysé à cette occasion leur potentiel angiogénique. Ils ont conclu à la capacité des SHED à se différencier en cellules endothéliales fonctionnelles, à permettre une angiogenèse et à la possibilité d'anastomose des nouveaux vaisseaux avec ceux de l'hôte (141).

Aussi, lorsqu'elles sont transplantées chez la souris immunodéficiente, associées à un support biodégradable, les SHED permettraient la formation d'un tissu présentant des caractéristiques morphologiques semblables à celles de la pulpe physiologique (146).

3.4.2. Régénération osseuse alvéolaire

Comme nous l'avons évoqué précédemment (chapitre 3.3.6.), le potentiel ostéogénique des SHED a été étudié par Behnia et coll. chez le chien. Yamada et coll. ont également étudié ce potentiel chez le chien mais en utilisant des cellules issues de DT de chiots et ont montré que la transplantation de ces cellules permettait la formation d'os mature. Cependant, nous avons fait le choix de nous intéresser exclusivement, ou presque, aux cellules issues de DT humaines.

En 2009, Zheng et coll. ont eu recours à la transplantation de SHED dans le cas de lésions osseuses parasymphysaires chez le cochon (147). Leur différenciation en ostéoblastes a permis la formation de tissu osseux fonctionnel.

Nous avons tenté, au travers de ce travail, de répertorier un certain nombre des études menées sur les SHED et l'intérêt thérapeutique qu'elles pourraient revêtir. Cependant, nous n'en avons pas fait une liste exhaustive et nos critères de sélection des publications à ce sujet n'ont pas fait l'objet d'une démarche systématique. Une revue systématique a été publiée en 2014 à partir de quatre bases de données : Entrez Pubmed, Cab Abstracts, Scopus, Web of Science. Les critères d'inclusion étaient les suivants : manuscrits publiés en anglais seulement, entre 2000 et 2012, études menées *in vivo* concernant le potentiel de réparation/régénération de tissus « non-dentaires » à partir de CSM de pulpe dentaire, DPSCs et SHED, humaines ou non (148).

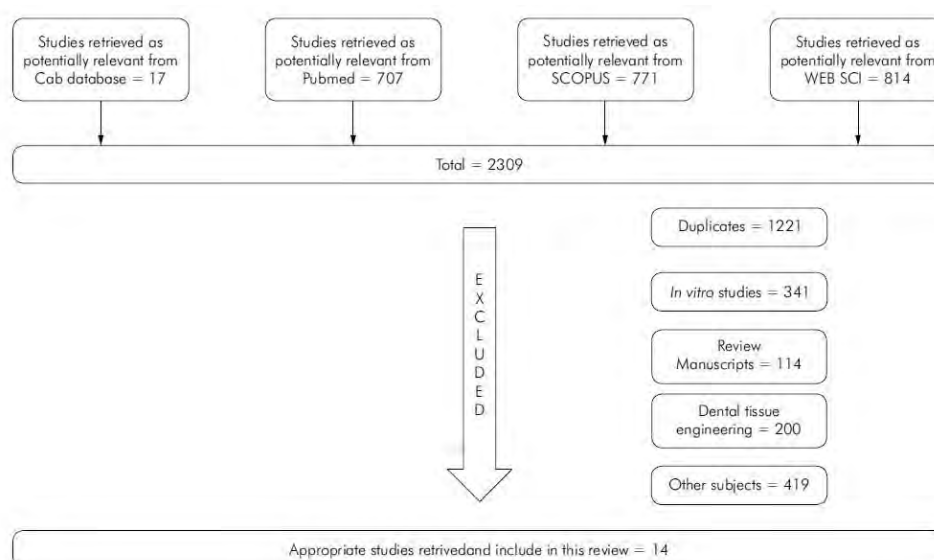


Figure 12 : Diagramme de flux présentant les résultats des recherches dans les bases de données et les procédés utilisés pour sélectionner les études à inclure dans la revue systématique (148)

Parmi les 14 études retenues, 6 ont fait usage de SHED humaines ou animales :

| Auteur(s) | Cible thérapeutique | Source cellulaire | Modèle animal | Scaffold(s) | Résultats |
|---------------------------------------|--|--------------------------|------------------|-----------------------|---|
| Sakai et coll. 2012 (117) | Section de la moelle épinière | SHED | Rat | Aucun | Rétablissement de la fonction locomotrice des membres inférieurs |
| Yamada et coll. 2011 (149) | Lésion osseuse mandibulaire | Dent temporaire de chien | Chien | PRP | Formation osseuse viable, mature |
| Zheng et coll. 2009 (147) | Lésion osseuse oro-faciale | Dent temporaire de porc | Cochon miniature | B-TCP | Régénération de la lésion osseuse mandibulaire de taille critique |
| Iohara et coll. 2008 (150) | Angiogenèse dans l'ischémie des membres inférieurs | Dent temporaire de porc | Souris | Aucun | Néo-formation capillaire sanguin, flux sanguin augmenté |
| Seo et coll. 2008 (92) | Lésion osseuse de la calvaria | SHED | Souris | HA/TCP | Réparation de la lésion, formation osseuse en grande quantité |
| De Mendonça Costa et coll. 2008 (151) | Lésion osseuse cranien | SHED | Rat | Membrane de collagène | Accroissement de la formation d'os mature |

Tableau 4 : Tableau récapitulatif des études répertoriées dans la revue systématique de Daltoe et coll. (148)

Choix d'inclusion arbitraire : cellules issues de dents temporaires humaines ou animales

En s'appuyant sur ce modèle, il pourrait s'avérer intéressant d'actualiser ces données en y ajoutant les études publiées entre 2012 et 2019, en incluant éventuellement les travaux portant sur la régénération des tissus dentaires et péri-dentaires.

4. BIOETHIQUE ET LEGISLATION

La bioéthique sous-tend une réflexion sur les progrès de la recherche dans les domaines de la biologie, de la médecine et de la santé. Ce néologisme, né dans les années 1970, regroupe les questions éthiques, ou morales, posées par les avancées technologiques ou scientifiques, et l'impact qu'elles peuvent avoir sur l'être humain. Il s'agit d'un travail commun à la croisée de plusieurs disciplines : science, philosophie, droit, médecine. Si la réflexion à laquelle nous invite la bioéthique dépasse largement le champ de la science, c'est parce que les découvertes scientifiques qu'elle interroge peuvent, par leurs usages, remodeler en profondeur notre société voire notre définition de l'individu. Elle appelle notamment à réfléchir aux dérives éventuelles que peuvent engendrer de tels progrès et ainsi de définir les limites à poser pour éviter que l'Homme ne nuise à son semblable, dans la logique de l'adage « *primum non nocere* ».

4.1. Historique

La France a été le premier pays à créer un **Comité Consultatif National d'Ethique** (CCNE) pour les sciences de la vie et de la santé, par décret (*Décret n° 83-132*) du Président de la République en 1983. Il s'agit d'une institution indépendante qui a pour vocation de soulever les enjeux des avancées de la connaissance scientifique dans le domaine du vivant et de susciter une réflexion de la part de la société. Aussi, afin d'assurer la protection des principes éthiques fondamentaux, la première loi de bioéthique a été promulguée en 1994. Évolutive, cette loi est régulièrement révisée pour prendre en compte les avancées scientifiques et les nouvelles attentes de la société.

Les principales dispositions de la loi de bioéthique de 2004, (*loi n° 2004-800 du 6 août 2004*) sont les suivantes :

- Le clonage, reproductif ou thérapeutique, est interdit
- La recherche sur l'embryon et les cellules embryonnaires est en principe interdite
- Par dérogation, les recherches peuvent être autorisées sur l'embryon et les cellules embryonnaires, pour une période limitée à cinq ans si "elles sont susceptibles de permettre des progrès thérapeutiques majeurs"

- Le cercle des personnes pouvant procéder à un don d'organe pour une greffe est élargi
- La brevetabilité est autorisée pour "une invention constituant l'application technique d'une fonction d'un élément du corps humain"
- Une **Agence de la biomédecine** est créée.

4.2. Réglementation en vigueur en matière de recherche et utilisation des cellules souches

Le cadre juridique français de bioéthique est fondé sur le triptyque dignité, liberté, solidarité. Le principe de dignité se traduit par une protection particulière du corps humain : respect, inviolabilité et non-patrimonialité. Le principe de liberté individuelle s'exprime à travers l'obligation de consentement, le droit au respect de la vie privée et l'autonomie du patient. Enfin, le principe de solidarité s'appréhende avec une certaine conception du don altruiste, l'attention portée aux plus vulnérables et la mutualisation des dépenses de santé.

Le cadre légal relatif aux dons et transplantations d'organes, de tissus et de cellules a été établi en France par la *loi n° 76-1181 du 22 décembre 1976* (dite loi Caillavet). Cette activité thérapeutique est basée sur les principes suivants : respect du corps de la personne vivante ou décédée, non-patrimonialité du corps humain, consentement et anonymat du donneur et gratuité du don.

Depuis 2012, c'est la loi dite « Jardé » du 5 mars 2012 qui avait tenté de clarifier le régime juridique des recherches organisées et pratiquées sur l'être humain en vue du développement des connaissances biologiques ou médicales désignées par les termes de « recherche impliquant la personne humaine ». Elle avait permis de rationaliser, dans le code de la santé publique, l'encadrement des recherches en offrant aux recherches un cadre réglementaire commun tout en identifiant des niveaux d'intervention sur les personnes de ces recherches (et des risques subséquents) pour la définition des protections afférentes. On y distinguait les recherches interventionnelles (catégorie 1), les recherches interventionnelles avec risque minime (catégorie 2) et enfin les recherches non interventionnelles (catégorie 3). Les recherches impliquant l'utilisation de CSM en thérapie cellulaire entrent dans la première catégorie. Leur mise en œuvre exigerait une autorisation de l'ANSM et sont soumises à l'avis du Comité de Protection des Personnes.

La loi Jardé a été modifiée en 2016 par l'ordonnance du 16 juin 2016 qui visait à adapter la législation relative aux recherches biomédicales aux normes européennes en la matière, et particulièrement au règlement (UE) n° 536/2014 du Parlement européen et du Conseil du 16 avril 2014 relatif aux essais cliniques de médicaments. Cette modification est d'ailleurs intervenue avant que les décrets d'application, normes réglementaires nécessaires à la concrétisation et à l'application de la loi de 2012, soient édictés par le gouvernement.

4.2.1. Biobanques

S'il n'y a pas véritablement de définition légale de la biobanque (ou biothèque), il s'agit en fait d'une « collection de matériels biologiques ».

Ces questions sont régies par la *directive européenne n° 2004/23/CE du 31 mars 2004* relative à l'établissement de normes de qualité et de sécurité pour le don, l'obtention, le contrôle, la transformation, la conservation, le stockage et la distribution des tissus et cellules humains. Plusieurs finalités existent pour les biobanques : la recherche scientifique, à des fins de diagnostic ou enfin à but thérapeutique ; mais ce dernier doit être **avéré et actuel**.

Les cellules souches issues de la pulpe dentaire offrent des perspectives encourageantes pour le traitement de certaines maladies, incitant ainsi à collecter et faire conserver ses propres cellules souches en vue d'un besoin ultérieur.

Pourtant, la conservation de la pulpe dentaire issue des dents extraites n'est pas autorisée à des fins thérapeutiques autologues potentielles ultérieures. Or, c'est ce que certaines sociétés ont cherché à développer, dans la plupart des pays de l'OCDE. Mais, pour l'heure, aucune biobanque privée n'a été autorisée en France.

En novembre 2011, le laboratoire Clinident a tenté d'implanter une biobanque spécialisée vers Clermont-Ferrand, après avoir obtenu une autorisation de l'AFSAPPS (Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé) « d'exercer les activités de préparation et de conservation de tissus (pulpe dentaire et ses cellules souches dentaires) utilisés à des fins thérapeutiques autologues » ; mais l'autorisation d'exercer cette activité a été retirée quelques semaines plus tard car, en fin de compte, la société proposait aux personnes de conserver la pulpe dentaire issue de leurs dents extraites par des chirurgiens-dentistes, moyennant rémunération et ce, à des fins thérapeutiques autologues potentielles ultérieures (152). Or, un tel dispositif est contraire au droit français.

D'abord, du point de vue des principes évoqués auparavant, le principe de non-patrimonialité du corps humain, prévu par l'*article 16-1 alinéa 3 du Code civil*, et son corollaire, l'interdiction de conclure une convention sur le corps humain, ses éléments ou ses produits prévue par l'*article 16-5 du Code civil*, interdisent une telle pratique. Il se serait agi de contracter sur des éléments du corps humain moyennant une rémunération. Or, ce raisonnement a pu être contesté car la rémunération ne portait pas sur l'élément corporel, mais sur la prestation de transformation et de conservation que proposait la société (153).

Ensuite, car le droit français ne prévoit de possibilité de préparation et conservation de la pulpe dentaire à des fins thérapeutiques autologues que si cette finalité thérapeutique est avérée, et pas simplement éventuelle. C'est ce que prévoit le *Code de la santé publique* en ses *articles L. 1243-2 et L.1245-5*. Et c'est ce qu'a reproché précisément la Cour administrative de Lyon au laboratoire Clinident pour ensuite valider le retrait de l'autorisation d'exercer : « *aucune justification précise et immédiate de l'utilisation des tissus et préparations de thérapie cellulaire en cause à des fins thérapeutiques avérées* ».

L'*article L. 1243-2 du Code de la santé publique* dispose en effet que « *peuvent assurer la préparation, la conservation, la distribution et la cession, à des fins thérapeutiques autologues ou allogéniques, des tissus et de leurs dérivés et des préparations de thérapie cellulaire, les établissements et les organismes autorisés à cet effet, après avis de l'Agence de la biomédecine, par l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé qui s'assure du respect des dispositions* ». A noter dans cette disposition législative qu'il n'y a pas d'interdiction de principe à l'implantation d'une biobanque privée en la matière, mais aucune n'a réuni les conditions nécessaires pour obtenir l'autorisation d'exercer cette activité de la part de l'ANSM.

Militant pour l'autorisation et le développement de biobanques privées, Christine Lassalas conclut, à propos de l'exigence de nécessité thérapeutique avérée, en soulevant un certain nombre de questions que le droit n'a pas résolu : « *Dès lors, il semble que la seule exigence légale concernant le prélèvement et la conservation des cellules souches dentaires soit de justifier d'une finalité thérapeutique. Un certain nombre de questions se posent alors. À quel moment faut-il apprécier cette exigence ? Doit-elle être réalisée lors du prélèvement ? S'agissant des conditions exigées lors du prélèvement, la loi impose une finalité thérapeutique, mais peut-on se satisfaire d'une indication thérapeutique prévisible ou probable ? Peut-on considérer qu'au regard de l'évolution des recherches fondamentales, il n'y a pas de doute possible quant aux vertus thérapeutiques des cellules de la pulpe dentaire ?*

Par ailleurs, faut-il considérer que les parties détachées du corps humain, quelles qu'elles soient, sont soumises obligatoirement au principe du don anonyme et gratuit et qu'il ne saurait être question d'une conservation à titre privé ? » (154).

Ce sont des questions éthiques liées à la **solidarité** des dons des éléments et produits du corps humain effectués de manière **anonyme** (*art. 16-8 Code civil*) et gratuite (*art. 16-6 Code civil*) qui justifient ce refus d'anticiper l'intérêt thérapeutique de ces cellules souches prélevées dans la pulpe dentaire. Mais, au-delà du principe de non-patrimonialité du corps humain et de ses éléments et produits, une tendance factuelle s'observe à déroger à ce principe, notamment en matière de propriété intellectuelle (en brevetant progressivement sur le vivant). Sans voir dans ces éléments du corps humain des éléments monnayables comme sources de profit (*art. 16-6 Code civil*), n'ira-t-on pas vers la possibilité de déterminer le sort de ces éléments pour les conserver à titre préventif ?

D'aucuns arguent que les besoins français ne sont pas satisfaits et que l'importation importante de ces cellules inciterait à ouvrir les possibilités de constituer des biobanques privées de conservation à titre préventif des cellules souches.

4.2.2. Ethique et biobanques de SHED

4.2.2.1. Consentement

Le consentement est une notion cardinale quant au respect du corps humain de la personne. Il est évidemment exigé pour pratiquer des soins sur la personne et donc porter atteinte à l'intégrité du corps humain mais il est aussi exigé en cas de prélèvement d'éléments du corps humain ou de collecte de ses produits. Ce consentement préalable est d'ailleurs révocable à tout moment par le donneur (*Art. L. 1211-2 Code de la santé publique*).

En revanche, quant à la destination de l'élément prélevé, il y a une présomption d'acceptation de l'usage des éléments et produits à d'autres fins thérapeutiques et scientifiques que celles initialement prévues, puisque seule une opposition expresse l'empêcherait (*L. 1211-2 alinéa 2 Code de la santé publique*).

En pratique, selon la manière dont la question sera posée au patient du devenir de sa dent, il peut en faire don ou l'abandonner. L'idéal serait qu'il donne un consentement relatif à ce que la dent soit destinée à la recherche ou à des fins thérapeutiques (don), plutôt que de lui demander simplement s'il souhaite conserver sa dent (abandon).

Pour ce faire, il conviendrait, comme pour toute intervention chirurgicale, de conserver une trace écrite de ce consentement éclairé par une information complète (155).

Dans son avis n° 58, le CCNE estimait que « *toute personne doit être présumée capable a priori de recevoir des informations et de donner un consentement "libre et éclairé" à un acte médical qu'on lui propose, à moins qu'il ait été établi que cette capacité lui fait défaut* ». Mais la loi n'exige pas ce consentement exprès et se contente d'une non-opposition, moyennant une information complète (155).

Dans le cas du consentement de la personne mineure, il est important de souligner que les informations délivrées doivent être adaptées à l'âge du patient et à ses capacités de compréhension, bien que la décision soit soumise à l'accord du ou des titulaires de l'autorité parentale.

4.2.2.2. Confidentialité et protection des données

Les informations génétiques contenues dans les cellules souches sont des informations à caractère personnel puisque le matériel génétique confronté, dans le cadre d'un traitement de données, à une base de données à une autre donnée nominative, pourrait faire apparaître l'identité de la personne donneuse.

Afin d'assurer la cohérence avec les principes d'anonymat chers aux dons, il convient d'encadrer strictement l'acquisition, le traitement, l'accès à ces données et leur conservation. En outre, on pourrait préciser que les données dont il s'agit pourraient ici être considérées comme des « données concernant la santé ». L'alinéa 35 du Règlement Général sur la Protection des Données (RGPD) prévoit précisément que font partie des données concernant la santé notamment « *des informations obtenues lors du test ou de l'examen d'une partie du corps ou d'une substance corporelle, y compris à partir de données génétiques et d'échantillons biologiques* ».

De toute évidence, les éléments connus à l'issue des recherches effectuées sur les cellules sources issues du traitement des dents données sont considérés comme des données à caractère personnel dès lors qu'elles sont reliées à leurs donateurs ; quand bien même ensuite certaines extractions de ce traitement de données seraient-elles rendues anonymes.

Par conséquent, le consentement au traitement de ces données à caractère personnels doit être explicite, et donné au regard de chacun des finalités du traitement.

Mais le RGPD réserve un sort particulier pour les données à caractère scientifique :
« *Souvent, il n'est pas possible de cerner entièrement la finalité du traitement des données à caractère personnel à des fins de recherche scientifique au moment de la collecte des données. Par conséquent, les personnes concernées devraient pouvoir donner leur consentement en ce qui concerne **certains** domaines de la recherche scientifique, **dans le respect des normes éthiques reconnues en matière de recherche scientifique** ».*
L'information éclairée des patients doit donc permettre, lorsque plusieurs finalités sont d'emblée imaginées, de leur laisser le choix d'accepter le traitement de leurs données pour certaines d'entre elles seulement. Mais il est bien entendu que l'ensemble des finalités du traitement n'est pas toujours connu au moment de la collecte des données.

Nous pourrions conclure cette partie en citant un extrait de la Contribution du CCNE à la révision de la loi de bioéthique 2018-2019 :

« *La question essentielle dans la réflexion éthique n'est-elle pas aujourd'hui de remettre en équilibre la tension entre la singularité des désirs individuels, exacerbés par les promesses des sciences et techniques et les nécessités du collectif dans sa construction du bien commun, qui oblige, non seulement à mesurer les conséquences des actions, mais aussi à prévenir leurs effets délétères, la solidarité (la fraternité) devenant un principe majeur d'équilibre entre l'individu et le collectif ?* »

DISCUSSION / CONCLUSION

Les études menées jusqu'à présent sur les propriétés *in vitro* et *in vivo* des SHED nous laissent penser qu'il s'agit de cellules mésenchymateuses multipotentes post-natales relativement accessibles, dont les quantités disponibles semblent suffisantes pour de potentielles applications cliniques dans le cadre de greffes autologues. Ce type de greffe ayant en général pour inconvénient de faire intervenir deux sites opératoires sur un même individu, avec un risque de morbidité associé au site de prélèvement, l'avulsion de dents temporaires avant leur exfoliation permettrait de s'affranchir de ce type de considération. Cependant nous devons nous assurer de ne pas compromettre de ce fait les fonctions essentielles assurées par les dents temporaires.


Les travaux de recherche que nous avons évoqués dans le présent travail ne font état que d'essais réalisés dans des modèles animaux et des études chez l'homme seront nécessaires pour confirmer les résultats obtenus ainsi que pour attester de l'innocuité, sur le long terme, de ce type de thérapeutique en thérapie cellulaire.

Les SHED pourraient être prélevées à titre préventif chez des individus jeunes et en bonne santé afin d'être cryoconservées plusieurs années durant et servir ultérieurement en cas d'apparition plus ou moins soudaine d'une pathologie ou d'une lésion qui nécessiterait l'intervention de techniques de transplantation cellulaire à des fins de régénération des structures endommagées.

L'intégration de thérapeutiques d'exception faisant appel aux SHED dans l'arsenal déjà à disposition ne peut cependant se passer de réflexions plus pragmatiques. Quelles conditions faudrait-il réunir pour y avoir accès ? Quelles modifications infrastructurelles seraient à envisager ? Quel coût serait imputable à chacune des étapes du protocole ?

Les pouvoirs publics doivent s'emparer de ces questions, trouver des réponses rapidement et en particulier un positionnement éthique. En effet, la recherche et la santé n'attendent pas...

Le Président et Directeur



ICONOGRAPHIE

| | |
|--|----|
| <u>Figure 1</u> : Propriétés fondamentales d'une cellule souche (4) | 13 |
| <u>Figure 2</u> : Schématisation des composants d'une niche de cellules souches (6) | 15 |
| <u>Figure 3</u> : Potentiel de différenciation des cellules souches (8) | 16 |
| <u>Figure 4</u> : Schématisation des sources de CSMs orales, adapté à partir du schéma de Egusa et coll. (62)..... | 26 |
| <u>Figure 5</u> : Ostéotomie implantaire, foret permettant de récupérer l'os alvéolaire (73) | 28 |
| <u>Figure 6</u> : Schématisation des stades initiaux du développement dentaire (91)..... | 33 |
| <u>Figure 7</u> : Résultats des analyses phénotypiques réalisées par Miura et coll. en 2003, Yamaza et coll. et Pivoriūnas et coll. en 2010 (99)..... | 36 |
| <u>Figure 8</u> : Localisation des micro-tunnels après percée laser (106) | 41 |
| <u>Figure 9</u> : Localisation anatomique de la substance noire (125) | 48 |
| <u>Figure 10</u> : Représentation de tissus myocardiques de souris traitées par SHED-CM ou DMEM (contrôle) 24 heures après I/R (129) | 50 |
| <u>Figure 11</u> : Analyse histologique de la néo-formation osseuse induite par les SHED sur un support d'HA/TCP (92)..... | 53 |
| <u>Figure 12</u> : Diagramme de flux présentant les résultats des recherches dans les bases de données et les procédés utilisés pour sélectionner les études à inclure dans la revue systématique (148)..... | 58 |
| | |
| <u>Tableau 1</u> : Tableau récapitulatif des propriétés des CSM <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> | 24 |
| <u>Tableau 2</u> : Tableau récapitulatif des propriétés des CSM orales d'après Huang et coll. (60) | 31 |
| <u>Tableau 3</u> : Tableau récapitulatif des études menées <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> sur l'utilisation potentielle des SHED en médecine régénérative (non exhaustif, études évoquées dans ce travail)..... | 56 |
| <u>Tableau 4</u> : Tableau récapitulatif des études répertoriées dans la revue systématique de Daltoe et coll. (148)..... | 59 |

BIBLIOGRAPHIE

1. Alison MR, Poulsom R, Forbes S, Wright NA. An introduction to stem cells. *J Pathol.* juill 2002;197(4):419-23.
2. Bongso A, Richards M. History and perspective of stem cell research. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* déc 2004;18(6):827-42.
3. Coulombel L. Cellules souches tissulaires adultes : *seing is not being*. *médecine/sciences.* juin 2003;19(6-7):683-94.
4. <https://steemit.com/science/@digitalwriter/stem-cells-a-scientific-breakthrough>.
5. Scadden DT. The stem-cell niche as an entity of action. *Nature.* juin 2006;441(7097):1075-9.
6. Jones DL, Wagers AJ. No place like home: anatomy and function of the stem cell niche. *Nat Rev Mol Cell Biol.* janv 2008;9(1):11-21.
7. Gattazzo F, Urciuolo A, Bonaldo P. Extracellular matrix: A dynamic microenvironment for stem cell niche. *Biochim Biophys Acta BBA - Gen Subj.* août 2014;1840(8):2506-19.
8. <http://vetopsy.fr/embryologie/differentiation-cellulaire-1.php>.
9. Leeb C, Jurga M, McGuckin C, Moriggl R, Kenner L. Promising new sources for pluripotent stem cells. *Stem Cell Rev.* mars 2010;6(1):15-26.
10. Hemmat S, Lieberman DM, Most SP. An introduction to stem cell biology. *Facial Plast Surg FPS.* oct 2010;26(5):343-9.
11. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell.* 25 août 2006;126(4):663-76.
12. Takahashi K, Okita K, Nakagawa M, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from fibroblast cultures. *Nat Protoc.* 2007;2(12):3081-9.
13. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell.* 30 nov 2007;131(5):861-72.
14. Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, Antosiewicz-Bourget J, Frane JL, Tian S, et al. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science.* 21 déc 2007;318(5858):1917-20.
15. Mandai M, Kurimoto Y, Takahashi M. Autologous Induced Stem-Cell-Derived Retinal Cells for Macular Degeneration. *N Engl J Med.* 24 2017;377(8):792-3.
16. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science.* 2 avr 1999;284(5411):143-7.
17. Santiago JA, Pogemiller R, Ogle BM. Heterogeneous differentiation of human mesenchymal stem cells in response to extended culture in extracellular matrices. *Tissue Eng Part A.* déc 2009;15(12):3911-22.
18. Boisset J-C, Robin C. Origine endothéliale des cellules souches hématopoïétiques: La preuve en image. *médecine/sciences.* oct 2011;27(10):875-81.

19. Guasch G. Les cellules souches épithéliales de la peau. médecine/sciences. août 2006;22(8-9):710-2.
20. Ronfard V, Rives JM, Neveux Y, Carsin H, Barrandon Y. Long-term regeneration of human epidermis on third degree burns transplanted with autologous cultured epithelium grown on a fibrin matrix. Transplantation. 15 déc 2000;70(11):1588-98.
21. Gilgenkrantz H. [The hepatocyte is the only stem cell in the liver]. Med Sci MS. avr 2015;31(4):357-9.
22. Michalopoulos GK. Liver regeneration: alternative epithelial pathways. Int J Biochem Cell Biol. févr 2011;43(2):173-9.
23. Lemaigre F. [Lineage fate decisions in normal and regenerating liver]. Med Sci MS. nov 2012;28(11):958-62.
24. Kolf CM, Cho E, Tuan RS. Mesenchymal stromal cells. Biology of adult mesenchymal stem cells: regulation of niche, self-renewal and differentiation. Arthritis Res Ther. 2007;9(1):204.
25. Baksh D, Song L, Tuan RS. Adult mesenchymal stem cells: characterization, differentiation, and application in cell and gene therapy. J Cell Mol Med. sept 2004;8(3):301-16.
26. Porada CD, Zanjani ED, Almeida-Porad G. Adult mesenchymal stem cells: a pluripotent population with multiple applications. Curr Stem Cell Res Ther. sept 2006;1(3):365-9.
27. Takashima Y, Era T, Nakao K, Kondo S, Kasuga M, Smith AG, et al. Neuroepithelial cells supply an initial transient wave of MSC differentiation. Cell. 29 juin 2007;129(7):1377-88.
28. Caplan AI. Mesenchymal stem cells. J Orthop Res Off Publ Orthop Res Soc. sept 1991;9(5):641-50.
29. Bourin P, Sensebé L, Charbord P. Les cellules souches mésenchymateuses (CSM) : données, controverses, perspectives. 2004;10:10.
30. Caplan AI. Mesenchymal Stem Cells: Time to Change the Name! Stem Cells Transl Med. juin 2017;6(6):1445-51.
31. Friedenstein AJ, Gorskaja JF, Kulagina NN. Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs. Exp Hematol. sept 1976;4(5):267-74.
32. Friedenstein AJ, Chailakhyan RK, Gerasimov UV. Bone marrow osteogenic stem cells: in vitro cultivation and transplantation in diffusion chambers. Cell Tissue Kinet. mai 1987;20(3):263-72.
33. Owen M, Friedenstein AJ. Stromal stem cells: marrow-derived osteogenic precursors. Ciba Found Symp. 1988;136:42-60.
34. Prockop DJ. Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues. Science. 4 avr 1997;276(5309):71-4.
35. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. Cytotherapy. 2006;8(4):315-7.
36. Chang Y-J, Hwang S-M, Tseng C-P, Cheng F-C, Huang S-H, Hsu L-F, et al. Isolation of mesenchymal stem cells with neurogenic potential from the mesoderm of the amniotic membrane. Cells Tissues Organs. 2010;192(2):93-105.

37. Tomita Y, Makino S, Hakuno D, Hattan N, Kimura K, Miyoshi S, et al. Application of mesenchymal stem cell-derived cardiomyocytes as bio-pacemakers: current status and problems to be solved. *Med Biol Eng Comput.* févr 2007;45(2):209-20.
38. Kerkis I, Kerkis A, Dozortsev D, Stukart-Parsons GC, Gomes Massironi SM, Pereira LV, et al. Isolation and characterization of a population of immature dental pulp stem cells expressing OCT-4 and other embryonic stem cell markers. *Cells Tissues Organs.* 2006;184(3-4):105-16.
39. Renard E, Lopez-Cazaux S, Guicheux J, Weiss P, Laboux O, Alliot-Licht B. Les cellules souches de la pulpe dentaire. *C R Biol.* sept 2007;330(9):635-43.
40. Caplan AI. Why are MSCs therapeutic? New data: new insight. *J Pathol.* janv 2009;217(2):318-24.
41. Gang EJ, Jeong JA, Hong SH, Hwang SH, Kim SW, Yang IH, et al. Skeletal myogenic differentiation of mesenchymal stem cells isolated from human umbilical cord blood. *Stem Cells Dayt Ohio.* 2004;22(4):617-24.
42. Petersen BE, Bowen WC, Patrene KD, Mars WM, Sullivan AK, Murase N, et al. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science.* 14 mai 1999;284(5417):1168-70.
43. Nauta AJ, Fibbe WE. Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells. *Blood.* 15 nov 2007;110(10):3499-506.
44. English K. Mechanisms of mesenchymal stromal cell immunomodulation. *Immunol Cell Biol.* janv 2013;91(1):19-26.
45. Wang M, Yuan Q, Xie L. Mesenchymal Stem Cell-Based Immunomodulation: Properties and Clinical Application. *Stem Cells Int.* 14 juin 2018;2018.
46. Aggarwal S, Pittenger MF. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. *Blood.* 15 févr 2005;105(4):1815-22.
47. Corcione A, Benvenuto F, Ferretti E, Giunti D, Cappiello V, Cazzanti F, et al. Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions. *Blood.* 1 janv 2006;107(1):367-72.
48. Jones S, Horwood N, Cope A, Dazzi F. The antiproliferative effect of mesenchymal stem cells is a fundamental property shared by all stromal cells. *J Immunol Baltim Md 1950.* 1 sept 2007;179(5):2824-31.
49. Jiang X-X, Zhang Y, Liu B, Zhang S-X, Wu Y, Yu X-D, et al. Human mesenchymal stem cells inhibit differentiation and function of monocyte-derived dendritic cells. *Blood.* 15 mai 2005;105(10):4120-6.
50. Kuznetsov SA, Mankani MH, Leet AI, Ziran N, Gronthos S, Robey PG. Circulating connective tissue precursors: extreme rarity in humans and chondrogenic potential in guinea pigs. *Stem Cells Dayt Ohio.* juill 2007;25(7):1830-9.
51. Barbash IM, Chouraqui P, Baron J, Feinberg MS, Etzion S, Tessone A, et al. Systemic delivery of bone marrow-derived mesenchymal stem cells to the infarcted myocardium: feasibility, cell migration, and body distribution. *Circulation.* 19 août 2003;108(7):863-8.
52. Li Y, Chen J, Zhang CL, Wang L, Lu D, Katakowski M, et al. Gliosis and brain remodeling after treatment of stroke in rats with marrow stromal cells. *Glia.* févr 2005;49(3):407-17.
53. Chavakis E, Urbich C, Dimmeler S. Homing and engraftment of progenitor cells: a prerequisite for cell therapy. *J Mol Cell Cardiol.* oct 2008;45(4):514-22.

54. Cselenyák A, Pankotai E, Horváth EM, Kiss L, Lacza Z. Mesenchymal stem cells rescue cardiomyoblasts from cell death in an in vitro ischemia model via direct cell-to-cell connections. *BMC Cell Biol.* 2010;11(1):29.
55. Ankrum J, Karp JM. Mesenchymal stem cell therapy: Two steps forward, one step back. *Trends Mol Med.* mai 2010;16(5):203-9.
56. Hass R, Kasper C, Böhm S, Jacobs R. Different populations and sources of human mesenchymal stem cells (MSC): A comparison of adult and neonatal tissue-derived MSC. *Cell Commun Signal CCS.* 14 mai 2011;9:12.
57. Kern S, Eichler H, Stoeve J, Klüter H, Bieback K. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue. *Stem Cells Dayt Ohio.* mai 2006;24(5):1294-301.
58. da Silva Meirelles L, Chagastelles PC, Nardi NB. Mesenchymal stem cells reside in virtually all post-natal organs and tissues. *J Cell Sci.* 1 juin 2006;119(Pt 11):2204-13.
59. Bianco P, Riminucci M, Gronthos S, Robey PG. Bone marrow stromal stem cells: nature, biology, and potential applications. *Stem Cells Dayt Ohio.* 2001;19(3):180-92.
60. Huang GT-J, Gronthos S, Shi S. Mesenchymal Stem Cells Derived from Dental Tissues vs . Those from Other Sources: Their Biology and Role in Regenerative Medicine. *J Dent Res.* sept 2009;88(9):792-806.
61. Mizuno H. Adipose-derived stem cells for tissue repair and regeneration: ten years of research and a literature review. *J Nippon Med Sch Nippon Ika Daigaku Zasshi.* avr 2009;76(2):56-66.
62. Egusa H, Sonoyama W, Nishimura M, Atsuta I, Akiyama K. Stem cells in dentistry--part I: stem cell sources. *J Prosthodont Res.* juill 2012;56(3):151-65.
63. Isaka J, Ohazama A, Kobayashi M, Nagashima C, Takiguchi T, Kawasaki H, et al. Participation of periodontal ligament cells with regeneration of alveolar bone. *J Periodontol.* mars 2001;72(3):314-23.
64. Gay IC, Chen S, MacDougall M. Isolation and characterization of multipotent human periodontal ligament stem cells. *Orthod Craniofac Res.* août 2007;10(3):149-60.
65. Xu J, Wang W, Kapila Y, Lotz J, Kapila S. Multiple differentiation capacity of STRO-1+/CD146+ PDL mesenchymal progenitor cells. *Stem Cells Dev.* avr 2009;18(3):487-96.
66. Seo B-M, Miura M, Gronthos S, Bartold PM, Batouli S, Brahimi J, et al. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *Lancet Lond Engl.* 10 juill 2004;364(9429):149-55.
67. Liu Y, Zheng Y, Ding G, Fang D, Zhang C, Bartold PM, et al. Periodontal ligament stem cell-mediated treatment for periodontitis in miniature swine. *Stem Cells Dayt Ohio.* avr 2008;26(4):1065-73.
68. Honda MJ, Imaizumi M, Suzuki H, Ohshima S, Tsuchiya S, Satomura K. Stem cells isolated from human dental follicles have osteogenic potential. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* juin 2011;111(6):700-8.
69. Yao S, Pan F, Prpic V, Wise GE. Differentiation of Stem Cells in the Dental Follicle. *J Dent Res.* août 2008;87(8):767-71.
70. Lin N-H, Gronthos S, Bartold PM. Stem cells and future periodontal regeneration. *Periodontol* 2000. 2009;51:239-51.

71. Handa K, Saito M, Yamauchi M, Kiyono T, Sato S, Teranaka T, et al. Cementum matrix formation in vivo by cultured dental follicle cells. *Bone*. nov 2002;31(5):606-11.
72. Fawzy El-Sayed KM, Paris S, Becker S, Kassem N, Ungefroren H, Fändrich F, et al. Isolation and characterization of multipotent postnatal stem/progenitor cells from human alveolar bone proper. *J Cranio-Maxillo-fac Surg Off Publ Eur Assoc Cranio-Maxillo-fac Surg*. déc 2012;40(8):735-42.
73. Park J-C, Kim JC, Kim Y-T, Choi S-H, Cho K-S, Im G-I, et al. Acquisition of human alveolar bone-derived stromal cells using minimally irrigated implant osteotomy: in vitro and in vivo evaluations. *J Clin Periodontol*. mai 2012;39(5):495-505.
74. Wang Q, Huang C, Zeng F, Xue M, Zhang X. Activation of the Hh Pathway in Periosteum-Derived Mesenchymal Stem Cells Induces Bone Formation in Vivo. *Am J Pathol*. déc 2010;177(6):3100-11.
75. Agata H, Asahina I, Yamazaki Y, Uchida M, Shinohara Y, Honda MJ, et al. Effective bone engineering with periosteum-derived cells. *J Dent Res*. janv 2007;86(1):79-83.
76. Sonoyama W, Liu Y, Yamaza T, Tuan RS, Wang S, Shi S, et al. Characterization of Apical Papilla and its Residing Stem Cells from Human Immature Permanent Teeth –A Pilot Study. *J Endod*. févr 2008;34(2):166-71.
77. Huang GT-J, Sonoyama W, Liu Y, Liu H, Wang S, Shi S. The Hidden Treasure in Apical Papilla: The Potential Role in Pulp/Dentin Regeneration and BioRoot Engineering. *J Endod*. juin 2008;34(6):645-51.
78. Sonoyama W, Liu Y, Fang D, Yamaza T, Seo B-M, Zhang C, et al. Mesenchymal stem cell-mediated functional tooth regeneration in swine. *PloS One*. 20 déc 2006;1:e79.
79. Abe S, Yamaguchi S, Amagasa T. Multilineage Cells from Apical Pulp of Human Tooth with Immature Apex. *Oral Sci Int*. 1 mai 2007;4(1):45-58.
80. Fitzgerald M, Chiego DJ, Heys DR. Autoradiographic analysis of odontoblast replacement following pulp exposure in primate teeth. *Arch Oral Biol*. 1990;35(9):707-15.
81. Gronthos S, Mankani M, Brahim J, Robey PG, Shi S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 5 déc 2000;97(25):13625-30.
82. Shi S, Gronthos S. Perivascular niche of postnatal mesenchymal stem cells in human bone marrow and dental pulp. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res*. avr 2003;18(4):696-704.
83. Batouli S, Miura M, Brahim J, Tsutsui TW, Fisher LW, Gronthos S, et al. Comparison of stem-cell-mediated osteogenesis and dentinogenesis. *J Dent Res*. déc 2003;82(12):976-81.
84. Gronthos S, Brahim J, Li W, Fisher LW, Cherman N, Boyde A, et al. Stem cell properties of human dental pulp stem cells. *J Dent Res*. août 2002;81(8):531-5.
85. Yang X, Walboomers XF, van den Beucken JJJP, Bian Z, Fan M, Jansen JA. Hard tissue formation of STRO-1-selected rat dental pulp stem cells in vivo. *Tissue Eng Part A*. févr 2009;15(2):367-75.
86. Király M, Kádár K, Horváthy DB, Nardai P, Rácz GZ, Lacza Z, et al. Integration of neuronally predifferentiated human dental pulp stem cells into rat brain in vivo. *Neurochem Int*. sept 2011;59(3):371-81.

87. Mossaz J, Valerie G.A. Suter, Christos Katsaros, Michael M.Bornstein. Dents surnuméraires dans le maxillaire et la mandibule – un challenge interdisciplinaire. 2016;126:9.
88. Huang AH-C, Chen Y-K, Lin L-M, Shieh T-Y, Chan AW-S. Isolation and characterization of dental pulp stem cells from a supernumerary tooth. *J Oral Pathol Med Off Publ Int Assoc Oral Pathol Am Acad Oral Pathol*. oct 2008;37(9):571-4.
89. Lee S, An S, Kang TH, Kim KH, Chang NH, Kang S, et al. Comparison of mesenchymal-like stem/progenitor cells derived from supernumerary teeth with stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Regen Med*. nov 2011;6(6):689-99.
90. Piette E, Goldberg M. *La dent normale et pathologique*. 1^{re} éd. De Boeck; 2001.
91. Langman J. *Embryologie médicale*. 9^e éd. Pradel; 2015.
92. Seo B, Sonoyama W, Yamaza T, Coppe C, Kikui T, Akiyama K, et al. SHED repair critical-size calvarial defects in mice. *Oral Dis*. juill 2008;14(5):428-34.
93. Woelfel J-B, Scheid R-C. *Anatomie dentaire - Application à la pratique de la chirurgie dentaire*. 6^e éd. Maloine; 2007. 400 p.
94. Miura M, Gronthos S, Zhao M, Lu B, Fisher LW, Robey PG, et al. SHED: Stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 13 mai 2003;100(10):5807-12.
95. Martinez Saez D, Sasaki RT, Neves A da C, da Silva MCP. Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous Teeth: A Growing Literature. *Cells Tissues Organs*. 2016;202(5-6):269-80.
96. Wang J, Wang X, Sun Z, Wang X, Yang H, Shi S, et al. Stem cells from human-exfoliated deciduous teeth can differentiate into dopaminergic neuron-like cells. *Stem Cells Dev*. sept 2010;19(9):1375-83.
97. Yamaza T, Kentaro A, Chen C, Liu Y, Shi Y, Gronthos S, et al. Immunomodulatory properties of stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Stem Cell Res Ther*. 2010;1(1):5.
98. Pivoriūnas A, Surovas A, Borutinskaite V, Matuzevicius D, Treigyte G, Savickiene J, et al. Proteomic analysis of stromal cells derived from the dental pulp of human exfoliated deciduous teeth. *Stem Cells Dev*. juill 2010;19(7):1081-93.
99. Kerkis I, Caplan AI. Stem Cells in Dental Pulp of Deciduous Teeth. *Tissue Eng Part B Rev*. avr 2012;18(2):129-38.
100. Ibarretxe G, Crende O, Aurrekoetxea M, García-Murga V, Etxaniz J, Unda F. Neural Crest Stem Cells from Dental Tissues: A New Hope for Dental and Neural Regeneration. *Stem Cells Int*. 2012;2012:1-12.
101. Reznick JB. Stem Cells: Emerging Medical and Dental Therapies for the Dental Professional. 2008;7.
102. Arora V, Arora P, Munshi A. Banking Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous Teeth (SHED): Saving for the Future. *J Clin Pediatr Dent*. juill 2009;33(4):289-94.
103. Oh YH, Che ZM, Hong JC, Lee EJ, Lee SJ, Kim J. Cryopreservation of human teeth for future organization of a tooth bank--a preliminary study. *Cryobiology*. déc 2005;51(3):322-9.
104. Zhang W, Walboomers XF, Shi S, Fan M, Jansen JA. Multilineage differentiation potential of stem cells derived from human dental pulp after cryopreservation. *Tissue Eng*. oct 2006;12(10):2813-23.

105. Suchánek J, Soukup T, Ivancaková R, Karbanová J, Hubková V, Pytlík R, et al. Human dental pulp stem cells--isolation and long term cultivation. *Acta Medica (Hradec Kralove)*. 2007;50(3):195-201.
106. Gioventù S, Andriolo G, Bonino F, Frasca S, Lazzari L, Montelatici E, et al. A novel method for banking dental pulp stem cells. *Transfus Apher Sci Off J World Apher Assoc Off J Eur Soc Haemapheresis*. oct 2012;47(2):199-206.
107. Collège Français des Pathologistes. La réaction inflammatoire. Les inflammations. 2011.
108. Inanç B, Elçin YM. Stem cells in tooth tissue regeneration--challenges and limitations. *Stem Cell Rev*. sept 2011;7(3):683-92.
109. Shin L, Peterson DA. Human mesenchymal stem cell grafts enhance normal and impaired wound healing by recruiting existing endogenous tissue stem/progenitor cells. *Stem Cells Transl Med*. janv 2013;2(1):33-42.
110. Séminaire Ketty Schwartz Biothérapies : les thérapies cellulaires et géniques [Internet]. 2010. Disponible sur: <https://www.inserm.fr/information-en-sante/seminaires/sks-biotherapies-therapies-cellulaires-et-geniques>
111. Bluteau G, Luder HU, De Bari C, Mitsiadis TA. Stem cells for tooth engineering. *Eur Cell Mater*. 31 juill 2008;16:1-9.
112. Zippel N, Schulze M, Tobiasch E. Biomaterials and mesenchymal stem cells for regenerative medicine. *Recent Pat Biotechnol*. janv 2010;4(1):1-22.
113. Duailibi SE, Duailibi MT, Vacanti JP, Yelick PC. Prospects for tooth regeneration. *Periodontol 2000*. 2006;41:177-87.
114. Chai Y, Slavkin HC. Prospects for tooth regeneration in the 21st century: a perspective. *Microsc Res Tech*. 1 avr 2003;60(5):469-79.
115. Ohkoshi S, Hirono H, Nakahara T, Ishikawa H. Dental pulp cell bank as a possible future source of individual hepatocytes. *World J Hepatol*. 27 oct 2018;10(10):702-7.
116. <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/spinal-cord-injury>.
117. Sakai K, Yamamoto A, Matsubara K, Nakamura S, Naruse M, Yamagata M, et al. Human dental pulp-derived stem cells promote locomotor recovery after complete transection of the rat spinal cord by multiple neuro-regenerative mechanisms. *J Clin Invest*. janv 2012;122(1):80-90.
118. Nosrat IV, Smith CA, Mullally P, Olson L, Nosrat CA. Dental pulp cells provide neurotrophic support for dopaminergic neurons and differentiate into neurons in vitro; implications for tissue engineering and repair in the nervous system. *Eur J Neurosci*. mai 2004;19(9):2388-98.
119. Nosrat IV, Widenfalk J, Olson L, Nosrat CA. Dental pulp cells produce neurotrophic factors, interact with trigeminal neurons in vitro, and rescue motoneurons after spinal cord injury. *Dev Biol*. 1 oct 2001;238(1):120-32.
120. Arthur A, Shi S, Zannettino ACW, Fujii N, Gronthos S, Koblar SA. Implanted adult human dental pulp stem cells induce endogenous axon guidance. *Stem Cells Dayt Ohio*. sept 2009;27(9):2229-37.

121. Kolar MK, Itte VN, Kingham PJ, Novikov LN, Wiberg M, Kelk P. The neurotrophic effects of different human dental mesenchymal stem cells. *Sci Rep* [Internet]. déc 2017 [cité 16 août 2018];7(1). Disponible sur: <http://www.nature.com/articles/s41598-017-12969-1>
122. Stanko P, Altanerova U, Jakubecova J, Repiska V, Altaner C. Dental Mesenchymal Stem/Stromal Cells and Their Exosomes. *Stem Cells Int*. 2018;2018:8973613.
123. Sugimura-Wakayama Y, Katagiri W, Osugi M, Kawai T, Ogata K, Sakaguchi K, et al. Peripheral Nerve Regeneration by Secretomes of Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous Teeth. *Stem Cells Dev*. 15 nov 2015;24(22):2687-99.
124. Dauer W, Przedborski S. Parkinson's disease: mechanisms and models. *Neuron*. 11 sept 2003;39(6):889-909.
125. <https://beyondthedish.wordpress.com/tag/striatum/>.
126. Zhang N, Lu X, Wu S, Li X, Duan J, Chen C, et al. Intrastratial transplantation of stem cells from human exfoliated deciduous teeth reduces motor defects in Parkinsonian rats. *Cytotherapy*. mai 2018;20(5):670-86.
127. [https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)).
128. Gandia C, Armiñan A, García-Verdugo JM, Lledó E, Ruiz A, Miñana MD, et al. Human dental pulp stem cells improve left ventricular function, induce angiogenesis, and reduce infarct size in rats with acute myocardial infarction. *Stem Cells Dayt Ohio*. mars 2008;26(3):638-45.
129. Yamaguchi S, Shibata R, Yamamoto N, Nishikawa M, Hibi H, Tanigawa T, et al. Dental pulp-derived stem cell conditioned medium reduces cardiac injury following ischemia-reperfusion. *Sci Rep*. 6 nov 2015;5:16295.
130. Frangogiannis NG, Smith CW, Entman ML. The inflammatory response in myocardial infarction. *Cardiovasc Res*. janv 2002;53(1):31-47.
131. Wakayama H, Hashimoto N, Matsushita Y, Matsubara K, Yamamoto N, Hasegawa Y, et al. Factors secreted from dental pulp stem cells show multifaceted benefits for treating acute lung injury in mice. *Cytotherapy*. août 2015;17(8):1119-29.
132. Mege J-L, Capo C. La polarisation des macrophages, le noeud gordien des infections bactériennes ? *médecine/sciences*. janv 2010;26(1):83-8.
133. Ishkitiev N, Yaegaki K, Calenic B, Nakahara T, Ishikawa H, Mitiev V, et al. Deciduous and permanent dental pulp mesenchymal cells acquire hepatic morphologic and functional features in vitro. *J Endod*. mars 2010;36(3):469-74.
134. Ishkitiev N, Yaegaki K, Imai T, Tanaka T, Fushimi N, Mitev V, et al. Novel management of acute or secondary biliary liver conditions using hepatically differentiated human dental pulp cells. *Tissue Eng Part A*. févr 2015;21(3-4):586-93.
135. Ito T, Ishigami M, Matsushita Y, Hirata M, Matsubara K, Ishikawa T, et al. Secreted Ectodomain of SIGLEC-9 and MCP-1 Synergistically Improve Acute Liver Failure in Rats by Altering Macrophage Polarity. *Sci Rep*. 08 2017;7:44043.
136. http://www.chu-nimes.fr/federation_maladies_dysimmunitaires/patients-le-lupus-erythemateux-systemique.html.

137. Behnia A, Haghghat A, Talebi A, Nourbakhsh N, Heidari F. Transplantation of stem cells from human exfoliated deciduous teeth for bone regeneration in the dog mandibular defect. *World J Stem Cells*. 26 sept 2014;6(4):505-10.
138. Scheller EL, Krebsbach PH, Kohn DH. Tissue engineering: state of the art in oral rehabilitation. *J Oral Rehabil*. mai 2009;36(5):368-89.
139. Ikeda E, Morita R, Nakao K, Ishida K, Nakamura T, Takano-Yamamoto T, et al. Fully functional bioengineered tooth replacement as an organ replacement therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 11 août 2009;106(32):13475-80.
140. Conboy IM, Conboy MJ, Wagers AJ, Girma ER, Weissman IL, Rando TA. Rejuvenation of aged progenitor cells by exposure to a young systemic environment. *Nature*. 17 févr 2005;433(7027):760-4.
141. Sakai VT, Zhang Z, Dong Z, Neiva KG, Machado M a. a. M, Shi S, et al. SHED differentiate into functional odontoblasts and endothelium. *J Dent Res*. août 2010;89(8):791-6.
142. Nosrat A, Seifi A, Asgary S. Regenerative endodontic treatment (revascularization) for necrotic immature permanent molars: a review and report of two cases with a new biomaterial. *J Endod*. avr 2011;37(4):562-7.
143. Shah N, Logani A, Bhaskar U, Aggarwal V. Efficacy of revascularization to induce apexification/apexogenesis in infected, nonvital, immature teeth: a pilot clinical study. *J Endod*. août 2008;34(8):919-25; Discussion 1157.
144. Ding RY, Cheung GS, Chen J, Yin XZ, Wang QQ, Zhang CF. Pulp revascularization of immature teeth with apical periodontitis: a clinical study. *J Endod*. mai 2009;35(5):745-9.
145. Andreasen JO, Bakland LK. Pulp regeneration after non-infected and infected necrosis, what type of tissue do we want? A review. *Dent Traumatol Off Publ Int Assoc Dent Traumatol*. févr 2012;28(1):13-8.
146. Cordeiro MM, Dong Z, Kaneko T, Zhang Z, Miyazawa M, Shi S, et al. Dental pulp tissue engineering with stem cells from exfoliated deciduous teeth. *J Endod*. août 2008;34(8):962-9.
147. Zheng Y, Liu Y, Zhang CM, Zhang HY, Li WH, Shi S, et al. Stem cells from deciduous tooth repair mandibular defect in swine. *J Dent Res*. mars 2009;88(3):249-54.
148. Daltoé FP, Mendonça PP, Mantesso A, Deboni MCZ. Can SHED or DPSCs be used to repair/regenerate non-dental tissues? A systematic review of in vivo studies. *Braz Oral Res*. 2014;28(1):1-7.
149. Yamada Y, Ito K, Nakamura S, Ueda M, Nagasaka T. Promising Cell-Based Therapy for Bone Regeneration Using Stem Cells from Deciduous Teeth, Dental Pulp, and Bone Marrow. *Cell Transplant*. août 2011;20(7):1003-13.
150. Iohara K, Zheng L, Wake H, Ito M, Nabekura J, Wakita H, et al. A novel stem cell source for vasculogenesis in ischemia: subfraction of side population cells from dental pulp. *Stem Cells Dayt Ohio*. sept 2008;26(9):2408-18.
151. de Mendonça Costa A, Bueno DF, Martins MT, Kerkis I, Kerkis A, Fanganiello RD, et al. Reconstruction of large cranial defects in nonimmunosuppressed experimental design with human dental pulp stem cells. *J Craniofac Surg*. janv 2008;19(1):204-10.
152. Réponse du Ministère des affaires sociales et de la santé. *JO Sénat*. 2 déc 2012;2965.

153. Debrion J-M. Les cellules souches confrontées au principe de non-patrimonialité du corps humain. 2012;(45):71-7.
154. Lassalas C. Le refus d'autoriser des biobanques privées à finalité thérapeutique : une exception française ? Droit Santé RDS. 2018;(82):173-84.
155. Le Breton A, Herve C, Pirnay P. Information et consentement au cours de soins dentaires associés à la recherche biomédicale. Santé Publique. 2013;25:803-12.

Sites consultés

<https://www.eurostemcell.org>

<http://www.ipubli.inserm.fr/>

<https://www.inserm.fr/>

<https://books.openedition.org/cdf/3705>

<https://www.medecinesciences.org/>

[https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds))

<https://www.ladocumentationfrancaise.fr/dossiers/bioethique/historique-lois-bioethique.shtml>

<https://beyondthedish.wordpress.com/tag/striatum/>

<http://biobanques.eu/fr/nous-connaître/infrastructure>

<http://www.bbmri-eric.eu/>

<https://www.ccne-ethique.fr/>

<https://www.fai2r.org/les-pathologies-rares/lupus-systemique/generalites>

http://www.chu-nimes.fr/federation_maladies_dysimmunitaires/patients-le-lupus-erythemateux-systemique.html

<https://steemit.com/science/@digitalwriter/stem-cells-a-scientific-breakthrough>

<https://www.inserm.fr/information-en-sante/seminaires/sks-biotherapies-therapies-cellulaires-et-geniques>

<http://www.pac4.ch/Chapitre24/Mechanischemreperf.html>

<https://icm-institute.org/fr/traumatismes-de-la-moelle-epiniere/>

RESUME EN ANGLAIS :

Using stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED) in regenerative medicine could allow not only to repair but more to regenerate some damaged tissue structures. Deciduous teeth represent an easy to reach source of post natal multipotent cells whose properties are usable in cells therapy and tissue engineering. The scope of the investigation areas is increasing since the discovery of the SHED, especially for orofacial tissue regeneration, neurology, cardiology, pneumology, hepatology, immunology. They can be easily removed and cryopreserved for many years while keeping their viability. However, in France, the storage of SHED in private biobanks as a precaution for a potential autologous use is not allowed as of today.

**CELLULES STROMALES MESENCHYMATEUSES ISSUES DES
DENTS TEMPORAIRES EXFOLIEES : CARACTERISATION ET
INTERETS THERAPEUTIQUES**

RESUME EN FRANÇAIS :

L'utilisation des cellules stromales mésenchymateuses issues des dents temporaires exfoliées (SHED) en médecine régénérative pourrait permettre non plus de réparer mais de régénérer certaines structures tissulaires lésées. Les dents temporaires constituent une source accessible de cellules multipotentes post-natales dont les propriétés sont exploitables en thérapie cellulaire et ingénierie tissulaire. Les champs d'investigation s'élargissent depuis la découverte des SHED, notamment en régénération des tissus oro-faciaux, neurologie, cardiologie, pneumologie, hépatologie, immunologie. Elles peuvent être prélevées aisément et cryoconservées pendant plusieurs années en conservant leur viabilité. Cependant, en France, le stockage des SHED à titre préventif au sein de biobanques privées en vue de leur utilisation potentielle ultérieure autologue reste à ce jour interdit.

TITRE EN ANGLAIS : Stem cells from human exfoliated deciduous teeth : characterization and potential therapeutic benefits (résumé en anglais page 80)

DISCIPLINE ADMINISTRATIVE : Chirurgie dentaire

MOTS-CLES : cellules stromales mésenchymateuses, SHED, dent temporaire, régénération tissulaire, thérapie cellulaire, biobanques, bioéthique

INTITULE ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE :

Université Toulouse III-Paul Sabatier

Faculté de chirurgie dentaire 3 chemin des Maraîchers 31062 Toulouse Cedex

Directeur de thèse : Professeur Philippe KEMOUN