

**UNIVERSITE TOULOUSE III – PAUL SABATIER
FACULTE DE CHIRURGIE DENTAIRE**

Année 2013

2013 TOU3 3022

T H E S E

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE

Présentée et soutenue publiquement
par

Alicja LIPIEC

Le 3 Avril 2013

**CELLULE STROMALE MESENCHYMATEUSE
ET THERAPIE CELLULAIRE EN ODONTOLOGIE**

Directeur de thèse : Dr Philippe KEMOUN

JURY

Président :	Professeur Serge ARMAND
1 ^{er} assesseur :	Docteur Philippe KEMOUN
2 ^{ème} assesseur :	Docteur Franck DIEMER
3 ^{ème} assesseur :	Docteur Sara DALICIEUX-LAURENCIN



FACULTE DE CHIRURGIE DENTAIRE

➔ DIRECTION

DOYEN

Mr SIXOU Michel

ASSESSEURS DU DOYEN

• ENSEIGNANTS :

Mme GRÉGOIRE Geneviève

Mr CHAMPION Jean

Mr HAMEL Olivier

Mr POMAR Philippe

• PRÉSIDENTE DU COMITÉ SCIENTIFIQUE

Mme GRIMOUD Anne-Marie

• ÉTUDIANT :

Mr HAURET-CLOS Mathieu

CHARGÉS DE MISSION

Mr PALOUDIER Gérard

Mr AUTHER Alain

RESPONSABLE ADMINISTRATIF

Mme GRAPELOUP Claude

➔ HONORARIAT

DOYENS HONORAIRES

Mr LAGARRIGUE Jean +

Mr LODTER Jean-Philippe

Mr PALOUDIER Gérard

Mr SOULET Henri

➔ ÉMÉRITAT

Mr PALOUDIER Gérard

➔ PERSONNEL ENSEIGNANT

56.01 PÉDODONTIE

Chef de la sous-section :

Mr VAYSSE

Professeur d'Université :

Mme BAILLEUL-FORESTIER

Maîtres de Conférences :

Mme NOIRRIT-ESCLASSAN, Mr VAYSSE

Assistants :

Mr DOMINÉ, Mme GÖTTLE

Chargés d'Enseignement :

Mme BACQUÉ, Mme PRINCE-AGBODJAN, Mr TOULOUSE

56.02 ORTHOPÉDIE DENTO-FACIALE

Chef de la sous-section :

Mr BARON

Maîtres de Conférences :

Mr BARON, Mme LODTER, Mme MARCHAL-SIXOU, Mr ROTENBERG,

Assistants :

Mme ELICEGUI, Mme OBACH-DEJEAN, Mr PUJOL

Chargés d'Enseignement :

Mr GARNALT, Mme MECHRAOUI, Mr MIQUEL

56.03 PRÉVENTION, ÉPIDÉMIOLOGIE, ÉCONOMIE DE LA SANTÉ, ODONTOLOGIE LÉGALE

Chef de la sous-section :

Mr HAMEL

Professeur d'Université :

Mme NABET, Mr PALOUDIER, Mr SIXOU

Maître de Conférences :

Mr HAMEL

Assistant :

Mr MONSARRAT

Chargés d'Enseignement :

Mr DURAND, Mr PARAYRE, Mr VERGNES

57.01 PARODONTOLOGIE

Chef de la sous-section : Mr BARTHET
Maîtres de Conférences : Mr BARTHET
Assistants : Mr MOURGUES, Mme VINEL
Chargés d'Enseignement : Mr. CALVO, Mme DALICIEUX-LAURENCIN, Mr LAFFORGUE, Mr PIOTROWSKI, Mr SANCIER

57.02 CHIRURGIE BUCCALE, PATHOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE, ANESTHÉSIOLOGIE ET RÉANIMATION

Chef de la sous-section : Mr CAMPAN
Professeur d'Université : Mr DURAN
Maîtres de Conférences : Mr CAMPAN, Mr COURTOIS, Mme COUSTY
Assistants : Mme BOULANGER, Mr FAUXPOINT, Mme FERNET-MAGNAVAL
Chargés d'Enseignement : Mr GANTE, Mr L'HOMME, Mme LABADIE, Mr PLANCHAND, Mr SALEFRANQUE

57.03 SCIENCES BIOLOGIQUES (BIOCHIMIE, IMMUNOLOGIE, HISTOLOGIE, EMBRYOLOGIE, GÉNÉTIQUE, ANATOMIE PATHOLOGIQUE, BACTÉRIOLOGIE, PHARMACOLOGIE

Chef de la sous-section : Mr KÉMOUN
Professeurs d'Université : Mme DUFFAUT
Maîtres de Conférences : Mme GRIMOUD, Mr KEMOUN, Mr POULET
Assistants : Mr BLASCO-BAQUE, Mme GAROBY-SALOM, Mme SOUBIELLE, Mme VALERA
Chargés d'Enseignement : Mr BARRÉ, Mme DJOUADI-ARAMA, Mr SIGNAT

58.01 ODONTOLOGIE CONSERVATRICE, ENDODONTIE

Chef de la sous-section : Mr GUIGNES
Maîtres de Conférences : Mr DIEMER, Mr GUIGNES, Mme GURGEL-GEORGELIN, Mme MARET-COMTESSE
Assistants : Mr ARCAUTE, Mlle DARDÉ, Mme DEDIEU, Mme DUEYMES, Mme FOURQUET, Mr MICHETTI
Chargés d'Enseignement : Mr BALGUERIE, Mr BELAID, Mlle BORIES, Mr ELBEZE, Mr MALLET, Mlle PRATS, Mlle VALLAEYS

58.02 PROTHÈSES (PROTHÈSE CONJOINTE, PROTHÈSE ADJOINTE PARTIELLE, PROTHÈSE COMPLÈTE, PROTHÈSE MAXILLO-FACIALE)

Chef de la sous-section : Mr CHAMPION
Professeurs d'Université : Mr ARMAND, Mr POMAR
Maîtres de Conférences : Mr BLANDIN, Mr CHAMPION, Mr ESCLASSAN
Assistants : Mr CHABRERON, Mr DESTRUHAUT, Mr GALIBOURG, Mr HOBEILAH, Mme SOULES
Chargés d'Enseignement : Mr ABGRALL, Mr DEILHES, Mr FARRÉ, Mr FLORENTIN, Mr FOLCH, Mr GHRENASSIA, Mr KAHIL, Mme LACOSTE-FERRE, Mme LASMOLLES, Mr LUCAS, Mr MIR, Mr POGÉANT, Mr RAYNALDY

58.03 SCIENCES ANATOMIQUES ET PHYSIOLOGIQUES, OCCLUSODONTIQUES, BIOMATÉRIAUX, BIOPHYSIQUE, RADIOLOGIE

Chef de la sous-section : Mme GRÉGOIRE
Professeur d'Université : Mme GRÉGOIRE
Maîtres de Conférences : Mme JONOT, Mr NASR
Assistants : Mr AHMED, Mr CANIVET, Mr DELANNÉE
Chargés d'Enseignement : Mme BAYLE-DELANNÉE, Mme MAGNE, Mr TREIL, Mr VERGÉ

L'université Paul Sabatier déclare n'être pas responsable des opinions émises par les candidats.
 (Délibération en date du 12 Mai 1891).

Mise à jour au 4 février 2013

REMERCIEMENTS

Merci à toutes les personnes qui m'ont aidé à traverser mes études et qui ont contribué à la rédaction de ma thèse, et plus particulièrement à:

- Monsieur Kémoun, mon directeur de thèse, pour m'avoir inspiré, motivé et aidé tout au long de ce travail ;*
- Philippe et Sylvie, pour m'avoir écouté et conseillé dans absolument toutes les étapes de mes études et mon parcours professionnel ;*
- Mathieu, cher ami, binôme et « petit frère », pour ton aide précieuse lors de la rédaction, ta présence à mes côtés pendant ces 5 années, surtout en clinique – nous avons passés de très bons moments et j'espère qu'il reste autant voire plus devant nous ;*
- Sandy et Yves, pour votre amitié, aide, soutien et encouragements tout au long de mes études ; à vos yeux je suis toujours la meilleure !*
- Vincent, Sophie, Sarah, Cyrielle, Chloé, Anne – merci de m'avoir accueilli dans votre groupe ; je ne vous oublierai jamais ;*
- Agnès, Fabienne, Annick et Alain, pour votre patience, bienveillance et aide dans mes débuts professionnels.*

J'aimerais dédier ce travail à David, la personne la plus importante pour moi. Je ne sais pas si j'aurai assez de temps devant moi pour te rendre tout ce que tu m'as donné. C'est une chance et un privilège de vivre à tes côtés.

Une grande pensée à tous les chiens beagle, rats, cochons miniature et souris de laboratoire – les « petits héros » grâce à qui la science et nos connaissances évoluent.

A notre président du jury

Monsieur le Professeur Serge ARMAND

Professeur des Universités, Praticien Hospitalier d'Odontologie,
Docteur en Chirurgie Dentaire,
Docteur en Sciences Odontologiques,
Docteur d'Etat en Odontologie,
Responsable du Diplôme d'Université d'Implantologie,
Lauréat de l'Université Paul Sabatier.

Vous nous faites le grand honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse. Au cours de ces cinq années j'ai particulièrement apprécié la qualité et la clarté de vos enseignements, ainsi que vos conseils cliniques avisés. Par ailleurs, j'ai eu l'occasion de vous suivre dans des enseignements optionnels au cours desquels il m'a été permis d'envisager ce que pourrait être l'avenir de la prothèse en odontologie. Veuillez recevoir l'expression de ma grande considération.

A notre directeur de thèse

Monsieur le Docteur Philippe KEMOUN

Maître de Conférences des Universités, Praticien Hospitalier d'Odontologie,
Responsable de la sous-section des Sciences Biologiques,
Docteur en Chirurgie Dentaire,
Docteur de l'Université Paul Sabatier.

Nous vous remercions d'avoir accepté et honoré la direction de cette thèse. Ce fut un privilège de travailler avec vous. Personnellement je tiens à vous remercier particulièrement pour votre implication, votre gentillesse et la façon très investie avec laquelle vous m'avez accompagné tout au long de la rédaction. Je vous exprime ma haute reconnaissance et toute ma gratitude.

A notre jury de thèse

Monsieur le Docteur Franck DIEMER

Maître de Conférences des Universités, Praticien Hospitalier d'Odontologie,
Docteur en Chirurgie Dentaire,
Diplôme d'Etudes Approfondies en Education, Formation et Insertion
-Toulouse-Le Mirail-,
Docteur de l'Université Paul Sabatier,
Lauréat de l'Université Paul Sabatier

C'est un privilège et un grand plaisir de vous compter parmi les membres de notre jury. Avec tout mon respect, je vous remercie pour la qualité de vos enseignements tout au long de mes études. Je me souviendrai toujours de vos conseils, votre rigueur et votre bonne humeur en clinique. Vous m'avez transmis l'envie de me perfectionner en endodontie.

A notre jury de thèse

Madame le Docteur Sara DALICIEUX-LAURENCIN

Chargée d'Enseignement à la Faculté de Chirurgie Dentaire de Toulouse,
Ex Assistante hospitalo-universitaire d'Odontologie,
Docteur en Chirurgie Dentaire,
Docteur de l'Université Paul Sabatier,
Diplôme Universitaire de Parodontologie.

Nous vous remercions d'avoir accepté de siéger dans notre jury de thèse. J'ai particulièrement apprécié votre bienveillance, ainsi que vos conseils au commencement de ce travail. Vous êtes pour moi un exemple, car vous incarnez, à mes yeux, la réussite professionnelle au féminin.

INTRODUCTION	12
1. LA CELLULE STROMALE MESENCHYMATEUSE (CSM).....	13
1.1 Historique.....	13
1.2 Définition et types de cellules « souches ».....	14
1.2.1 Cellules souches embryonnaires.....	15
1.2.2 Cellules souches adultes.....	16
1.2.2.1 Cellules stromales mésenchymateuses adultes.....	17
1.2.2.2 Cellules souches non mésenchymateuses.....	19
1.3 Caractéristiques et propriétés des CSMs.....	20
1.3.1 Origines tissulaires.....	20
1.3.2 Caractéristiques in vitro.....	22
1.3.2.1 Clonogénicité.....	22
1.3.2.2 Phénotype de surface.....	23
1.3.2.3 Multipotence	23
1.3.3 Caractéristiques in vivo.....	24
1.3.3.1 Immuno-modulation.....	24
1.3.3.2 Migration et domiciliation (« homing »).....	25
1.3.3.3 Effet trophique et différenciation.....	26
1.4 Cellules stromales mésenchymateuses issues des tissus de la cavité orale. 27	
1.4.1 Rappels sur l'odontogenèse.....	27
1.4.2 CSMs d'origine orale	30
1.4.2.1 Progéniteurs mésenchymateux pulpaire.....	31
1.4.2.2 Cellules mésenchymateuses issues de la partie apicale de mésenchyme pulpaire	33
1.4.2.3 Progéniteurs mésenchymateux desmodontaux.....	34
1.4.2.4 Progéniteurs mésenchymateux folliculaires.....	35
1.4.2.5 Progéniteurs mésenchymateux issus des dents lactéales exfoliées.....	36
1.4.2.6 Progéniteurs d'origine alvéolaire et périostée.....	37
1.4.2.7 Progéniteurs mésenchymateux d'origine gingivale.....	38
1.4.2.8 Résumé des caractéristiques communes des CSMs orales.....	38
1.4.3 Comparaison des CSMs d'origines orales et extra-orales.....	39

2. LA THERAPIE CELLULAIRE – UTILISATION DES CSMs EN MEDECINE REGENERATIVE.....	41
2.1 Rappels sur la physiopathologie de la cicatrisation/régénération (exemples des parodontopathies et pulpopathies).....	41
2.2 Principes de la thérapie cellulaire.....	43
2.3 Thérapie cellulaire et ingénierie tissulaire.....	44
2.4 Utilisation des CSMs en médecine régénérative : applications non odontologiques.....	48
2.4.1 Cardiologie.....	49
2.4.2 Neurologie.....	50
2.4.3 Dermatologie.....	51
2.4.4 Hépatologie.....	51
2.4.5 Pneumologie.....	52
2.4.6 Immunologie.....	52
3. THERAPIE CELLULAIRE ET REGENERATION DES TISSUS DE LA CAVITE ORALE.....	53
3.1 Régénération pulpaire et péri-apicale.....	55
3.1.1 Techniques actuelles et leurs limites.....	55
3.1.2 Thérapie cellulaire et régénération pulpaire.....	58
3.2 Régénération des poches parodontales.....	59
3.2.1 Thérapies actuelles et leurs limites.....	60
3.2.2 Thérapie cellulaire et régénération parodontale	62
3.3 Régénération osseuse.....	65
3.3.1 Régénération osseuse pré-implantaire.....	65
3.3.1.1 Techniques actuelles et leurs limites.....	66
3.3.1.2 Thérapie cellulaire et régénération osseuse alvéolaire.....	67
3.3.2 Régénération osseuse du massif crânio-facial	69
3.4 Aspects légaux.....	71
4. RECONSTRUIRE UNE DENT GRACE AUX CSMs ?.....	74
CONCLUSION	76
ICONOGRAPHIE.....	77
BIBLIOGRAPHIE.....	79

INTRODUCTION

L'intérêt pour les cellules souches dans leur ensemble a connu ces dernières années un engouement rarement atteint dans le monde scientifique et médical. Leurs caractérisation, isolation et la mise en évidence de leurs potentialités a incité les scientifiques à proposer d'en faire usage dans le domaine de la médecine régénérative, dans le but de reconstruire et restaurer les fonctions des tissus ou organes pathologiques et/ou endommagés. De nouvelles stratégies thérapeutiques révolutionnaires sont maintenant développées, conjuguant ingénierie tissulaire et thérapie cellulaire.

Parmi toutes les cellules dites «souches», les cellules stromales mésenchymateuses (CSMs) représentent sans conteste les meilleures candidates dans le domaine de la médecine régénérative orale, grâce à leurs propriétés immuno-modulatrices ainsi qu'un fort potentiel de prolifération et différenciation notamment en odontoblastes, cémentoblastes et/ou ostéoblastes. Différentes sources de CSMs (dont les tissus oraux) et de multiples protocoles sont à l'étude, aussi bien *in vitro* que chez l'animal et même chez l'homme.

En médecine, les premiers résultats sur l'utilisation de CSMs adultes à visée régénérative sont porteurs d'espoir pour l'avenir des thérapeutiques odontologiques, là où les techniques actuelles donnent encore trop souvent des résultats limités ou décevants – en parodontologie ou chirurgie reconstructrice osseuse en particulier. D'ores et déjà les thérapies cellulaires ont bénéficié de telles avancées scientifiques qu'elles nourrissent chez des millions de patients l'espoir d'une médecine régénérative de qualité et prédictible. Il est toutefois impératif de comprendre la biologie de ces cellules ainsi que les éventuels risques inhérents à ces nouvelles stratégies.

Dans ce travail nous allons d'abord décrire les caractéristiques et les sources des cellules stromales mésenchymateuses. Nous exposerons ensuite les stratégies thérapeutiques qui s'appuient sur les propriétés de ces cellules dans différents domaines de la médecine mais surtout en « odontologie régénérative ».

1. LA CELLULE STROMALE MESENCHYMATEUSE (CSM)

1.1 Historique

Le concept des cellules souches mésenchymateuses est apparu à la fin du 19ème siècle, comme postulat théorique expliquant la capacité de certains tissus (sang, peau...) de s'auto-renouveler pendant toute la vie d'un organisme, même si celui-ci est composé de cellules elles-mêmes à durée de vie limitée.

La présence de cellules souches non hématopoïétiques dans la moelle osseuse a été suggérée par les observations de Cohnheim en 1867, un pathologiste allemand qui travaillait sur la réparation tissulaire et qui a montré que la plupart des cellules impliquées dans ce phénomène est issu du flux sanguin, et donc de la moelle osseuse ⁽⁵⁹⁾.

Dans les années 1960-1970, Friedenstein et ses collaborateurs ont conduit un nombre important de travaux qui ont démontré que le potentiel ostéogénique d'une transplantation de la moelle osseuse était associé à une population mineure de cellules médullaires, d'allure fibroblastique (d'où l'hypothèse de l'origine stromale de ces cellules médullaires) ⁽¹¹⁶⁾ qui forment des « *colony forming unit fibroblastic* ou CFU-Fs » en culture. De plus, des expériences de transplantation *in vivo* ont permis de poser l'hypothèse que les tissus conjonctifs (l'os, le cartilage, le tissu adipeux, le conjonctif lâche...) sont susceptibles d'être régénérés par une sous-population de cellules progénitrices médullaires ⁽¹¹⁴⁾, appelées également les cellules souches stromales de la moelle osseuse ⁽¹¹⁵⁾. Ces travaux pionniers de Friedenstein et Owen ont donc mis en évidence, jouxtant les compartiments hématopoïétiques et hémangioblastiques contenant les populations majoritaires médullaires à l'origine des cellules du sang et des endothélia, l'existence d'un second type de cellules souches présentes dans la moelle osseuse, et plus précisément dans le compartiment stromal.

Malgré la confirmation robuste de l'hypothèse de Friedenstein, le concept de cellules souches médullaires non-hématopoïétiques n'a pas eu de répercussion retentissante dans le mode scientifique, jusqu'en 1999 où des travaux similaires ont été publiés par Pittenger et coll. ⁽²⁷³⁾.

Le terme de « cellule souche mésenchymateuse » (CSM) – la traduction de « mesenchymal stem cell » (MSC), qui est utilisé actuellement dans la communauté scientifique internationale - a été proposé par Caplan ⁽⁴⁰⁾. Le vocable « souche » pour désigner les progéniteurs est moins accepté par les scientifiques français, qui préfèrent parler des « cellules mésenchymateuses de l'adulte », « cellules stromales mésenchymateuses » ou encore des « progéniteurs mésenchymateux » ⁽²⁸¹⁾, ⁽⁸⁴⁾. En effet, littéralement il n'est possible d'utiliser l'adjectif « souche » que s'il désigne des cellules embryonnaires totipotentes – les seules possédant la capacité théorique d'être à l'origine de toutes les cellules d'un organisme.

1.2 Définition et types de cellules « souches »

Une cellule « souche » est définie comme «ayant la capacité de se diviser indéfiniment en culture avec le potentiel de donner naissance à des types de cellules matures spécialisées » ⁽⁵⁾. Une cellule souche se divise en deux cellules filles dont une entre dans une voie de différenciation (elle possédera des propriétés plus restreintes, mais plus spécialisées) et l'autre reste une cellule souche en assurant ainsi un auto-renouvellement (Figure 1). Ce mode de division asymétrique, caractéristique des cellules souches, est un mécanisme physiologique qui permet le maintien du contingent cellulaire dans les tissus et les organes ⁽²⁸⁾.

On peut donc distinguer 2 propriétés primitives des cellules souches :

- la capacité d'auto-renouvellement,
- le potentiel de différenciation ⁽²⁴⁾.

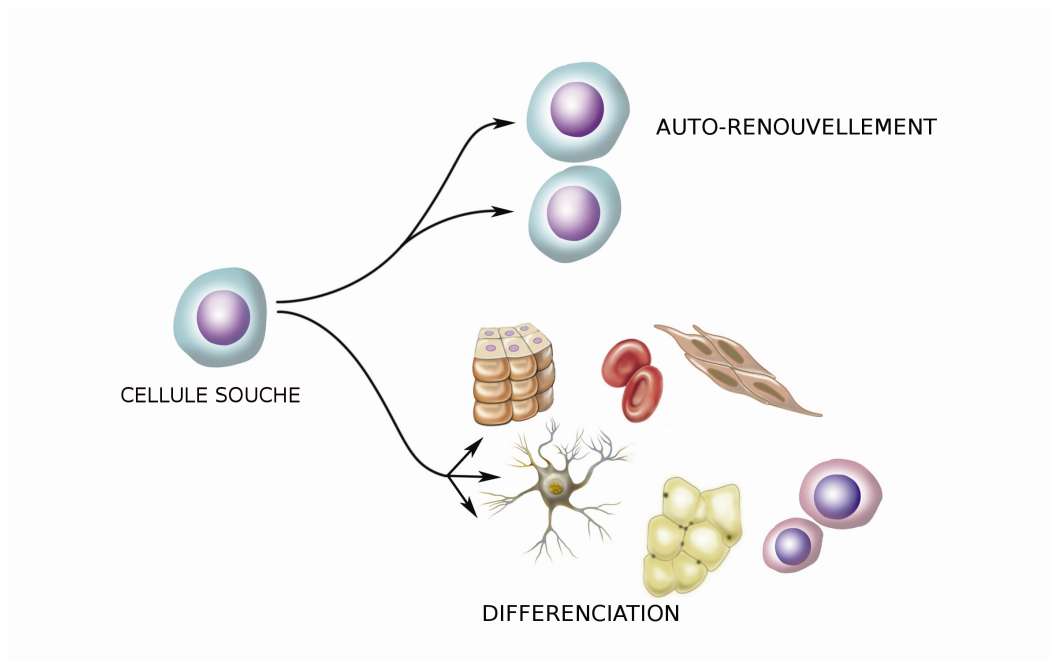


Figure 1 : Propriétés d'une cellule souche (413)

Selon Hiyama et Hiyama ⁽¹⁴⁸⁾ cette remarquable propriété d'auto-renouvellement serait due à l'expression constante et à un niveau bas d'une télomérase, qui a pour rôle de maintenir la longueur de l'ADN télomérique. Dans une cellule somatique, chaque division cellulaire provoque un raccourcissement de cet ADN et limite les possibilités de réplication (pas d'activité de télomérase) ce qui entraîne son « vieillissement ».

On peut distinguer les cellules souches embryonnaires (CSEs) des cellules souches adultes (CSAs).

1.2.1 Cellules souches embryonnaires

Les **cellules souches embryonnaires (CSEs)** ont été pour la première fois isolées *in vitro* en 1998 par une équipe des chercheurs américains ⁽³⁴²⁾. Elles proviennent de la masse cellulaire interne du blastocyste (embryon au quatrième jour chez l'homme). Elles sont théoriquement à ce stade **totipotentes** et peuvent donner tous les tissus et annexes embryonnaires. Toutefois, les cellules qui peuvent être récupérées à ce stade de développement sont le plus souvent **pluripotentes** et ont perdu la compétence de former les annexes embryonnaires. Ces cellules pluripotentes ont la capacité de se différencier pour donner naissance aux cellules issues de n'importe lequel des trois feuillets embryonnaires – endoderme, mésoderme et ectoderme (y compris les cellules germinales) et sont à l'origine de tous les tissus d'un organisme adulte ⁽²³⁸⁾, ⁽¹⁴²⁾ (Figure 2). Leur propriété de pluripotence *in vivo* est très rapidement perdue au cours du développement embryonnaire et les progéniteurs qui sont alors restreints à un groupe d'organes ou tissus, sont dits **multipotents**, ou même **unipotents** lorsqu'ils restent uniquement dédiés à un compartiment tissulaire.

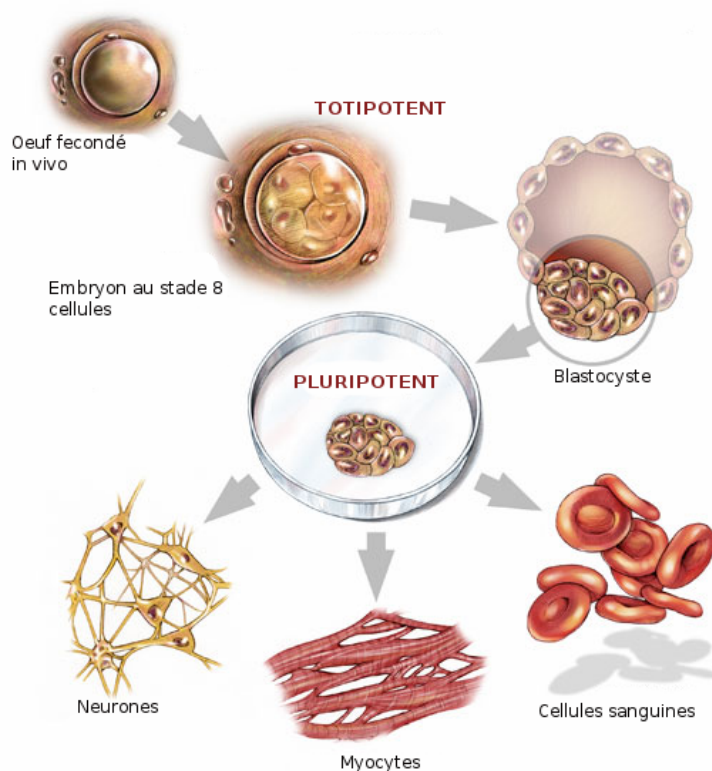


Figure 2 : Cellules souches embryonnaires (412)

Les progéniteurs embryonnaires semblent constituer une population homogène ⁽¹⁴⁾. Le micro-environnement joue un grand rôle dans le maintien du statut pluri/multipotent des cellules – il régule l'équilibre entre l'auto-renouvellement et la différenciation ⁽²⁰⁵⁾. Cet aspect biologique primordial est crucial lorsque ces cellules sont utilisées dans un contexte de médecine régénérative, où il faut conceptualiser la recréation d'une matrice extra-cellulaire appropriée.

Les cellules souches embryonnaires ne peuvent cependant pas à elles seules aboutir à la création d'un individu complet – seules les cellules totipotentes au stade « morula » en sont capables ⁽²²⁸⁾.

L'utilisation des cellules embryonnaires est controversée à cause des problèmes légaux et éthiques ^{(70), (188)}. En effet, leur prélèvement nécessite la destruction de l'embryon dont elles proviennent. Techniquement, ces cellules sont difficiles à contrôler et à mettre en culture. Elles peuvent engendrer des formations tumorales (tératomes) après leur injection *in vivo* ^{(105), (156)}.

Actuellement il n'existe pas de thérapeutique éprouvée ni d'essai clinique sur l'homme basée sur l'utilisation des cellules embryonnaires, mais elles restent néanmoins une source théorique potentielle pour la médecine régénérative en plus d'un modèle d'étude biologique inégalé ⁽²⁰²⁾.

1.2.2 Cellules souches adultes

Les **cellules souches adultes (CSAs)** sont théoriquement présentes dans tous les tissus d'un organisme après la naissance ⁽²⁷³⁾. Elles sont multipotentes et peuvent donc se différencier en différents phénotypes au sein d'un seul feuillet embryonnaire ⁽¹¹²⁾, bien que ce concept ait été récemment remis en question puisqu'il a été possible d'induire expérimentalement une différenciation neuronale ou pancréatique à partir des cellules adultes du feuillet mésodermique ⁽²²⁵⁾ (voir chapitre 1.3.2.3). De ce fait, l'initiale « homogénéité » de la population cellulaire a été rediscutée ⁽³⁹⁾. En effet, dans un contingent primordial de progéniteurs tissulaires, il pourrait exister différentes sous-populations possédant des potentialités spécifiques. Une lignée cellulaire deviendrait prédominante grâce à une réponse à des signaux inductifs environnementaux ^{(302), (149)}.

Les progéniteurs adultes peuvent être cryoconservés après la naissance dans un but thérapeutique afin d'être utilisés plus tard dans la vie de l'individu (bien que l'innocuité de ces techniques n'ait pas été formellement établie) ⁽¹²⁾. Cela permet d'éviter les problèmes de compatibilité immunologique et le risque de transmission des pathogènes liés aux allogreffes. L'utilisation des cellules souches adultes en clinique est plus réaliste et peu controversée sur le plan éthique comparée aux cellules embryonnaires, qui supposent la non-conservation de l'organisme dont elles dérivent. Cependant les CSAs possèdent des potentialités plus réduites que les CSEs ⁽⁴¹¹⁾.

Une équipe des scientifiques polonais a publié en 2011 ⁽³⁹⁴⁾ une revue de la littérature concernant une population très rare des cellules souches adultes pluripotentes, caractérisées par leur très petite taille – les cellules souches similaires aux cellules souches embryonnaires (**VSEs** pour « **very small embryonic-like stem cells** »). Elles ont été décrites initialement dans la moelle osseuse chez la souris, et ressemblent aux cellules embryonnaires, sans toutefois avoir d'activité tumorigénétique ⁽¹⁸⁶⁾. Elles peuvent donc se différencier en cellules des trois feuillets embryonnaires, et sont recrutées dans le flux sanguin en cas d'un dommage tissulaire, par exemple d'infarctus du myocarde.

Une stratégie de génération de cellules souches pluripotentes à partir de cellules adultes a été proposée d'abord chez la souris par Takahashi et Yamanaka ⁽³³⁵⁾ (prix Nobel de médecine en 2012), puis chez l'homme par Takahashi et coll. ⁽³³⁴⁾, et Yu et coll. ⁽³⁸²⁾ – il

s'agit des **iPSc** (pour « **induced pluripotent stem cells** ») (Figure 3). Ces cellules dérivent de cellules humaines somatiques et sont manipulées génétiquement afin de leur faire acquérir des propriétés de progéniteurs embryonnaires ^{(334), (359), (8)}. L'originalité de cette technique est que les cellules somatiques sont « converties » directement en cellules pluripotentes par l'adjonction de 4 gènes seulement dans leur génome : Oct-4, Sox2, c-Myc et Klf4 ⁽³³³⁾. Les iPSc présentent des propriétés similaires aux cellules souches embryonnaires en ce qui concerne leur morphologie, prolifération et capacité de différenciation. Elles pourraient constituer une source d'autogreffes particulièrement intéressante de progéniteurs très précoces et ouvriraient un nouvel espace de médecine personnalisée. Il est toutefois impératif de s'assurer de l'innocuité de la manipulation génétique nécessaire à la genèse des iPSc. Actuellement en France, les autorités de santé refusent l'utilisation chez l'homme de cellules manipulées génétiquement.

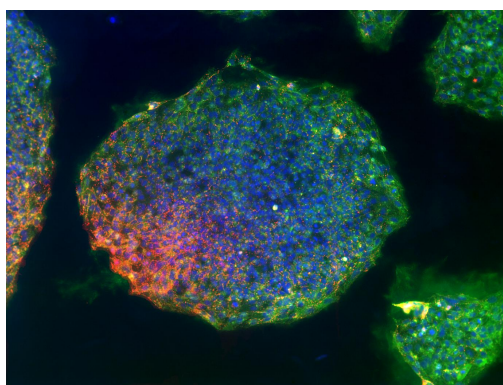


Figure 3 : iPSc humaine créée à partir d'une cellule de la peau (410)

1.2.2.1 Cellules stromales mésenchymateuses adultes

Les **cellules stromales mésenchymateuses (CSMs)** (Figure 4 et 5) dérivent du mésenchyme ou conjonctif embryonnaire, faisant partie du mésoblaste ou troisième feuillet. Chez l'adulte elles sont présentes dans tous les tissus conjonctifs post-nataux ^{(18), (182), (276)}, en quantités et potentialités variables selon le tissu source, l'âge et l'état de santé général du sujet. En effet, il a été démontré la possibilité d'isoler ces cellules à partir de différents tissus conjonctifs ; on les retrouve en quantité plus importante notamment dans la moelle osseuse ^{(273), (145)} le cordon ombilical ⁽¹⁹⁹⁾ et le tissu adipeux ⁽²³²⁾.

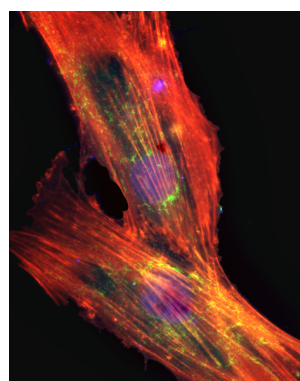
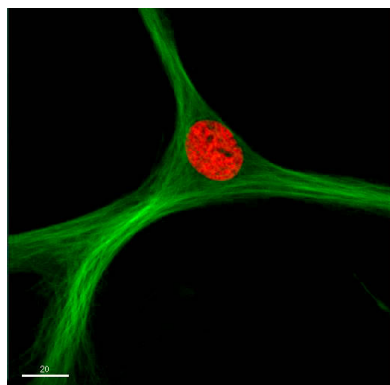


Figure 4 et 5 : CSMs humaines en microscopie à fluorescence(409)

Les CSMs adultes constituent une population hétérogène parmi les cellules stromales et se caractérisent par leur multipotence - la possibilité de se différencier en fonction de leur environnement en cellules d'origine mésodermique (adipocytes, myoblastes, ostéoblastes, chondroblastes...) ^{(273), (38), (119)} (Figure 6). Cependant, il a été démontré *in vitro* qu'elles pourraient aussi « sauter de feuillet » et s'orienter vers des phénotypes endodermiques (hépatocytes, cellules pancréatiques) et/ou ectodermiques (astrocytes et cellules épithéliales) ^{(165), (330), (45), (301), (268), (366)}. Cette « plasticité » reste néanmoins extrêmement contestée ⁽²⁷⁰⁾. Les CSMs possèdent également un potentiel d'immuno-modulation ^{(247), (256)} et des effets positifs sur la trophicité tissulaire ⁽¹⁰⁾ (voir chapitre 1.3.3.). Ces caractéristiques font des CSMs adultes des candidates idéales pour une utilisation en thérapie cellulaire, mais aussi dans des stratégies à visée immuno-modulatrices, et en particulier dans le cadre de maladies systémiques ou locales à résonance inflammatoire.

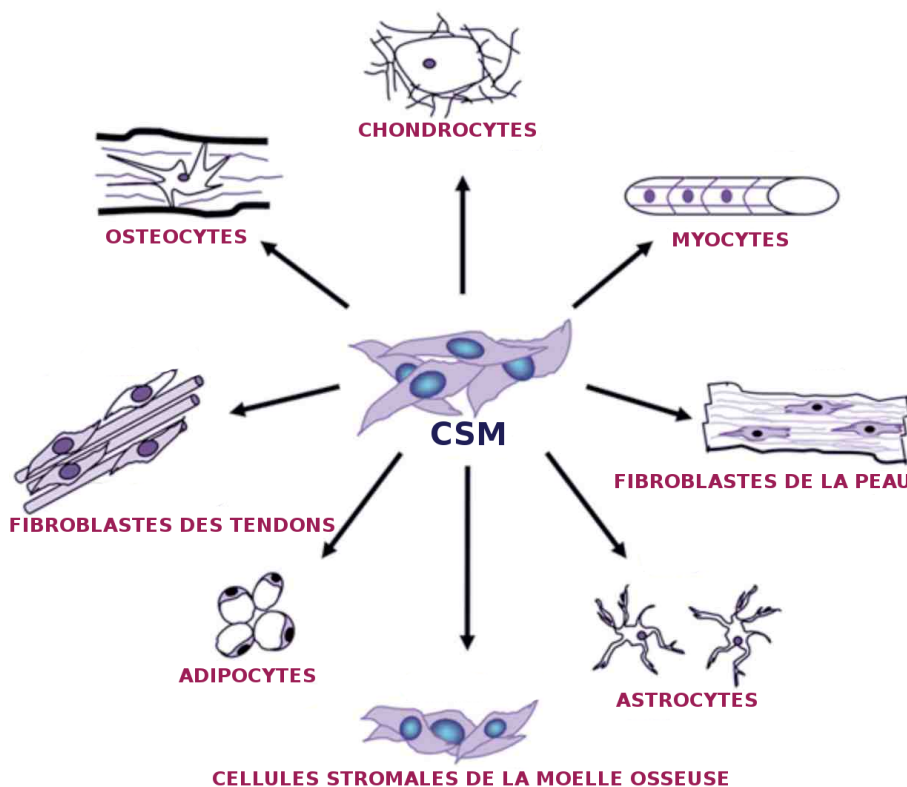


Figure 6 : Différenciation des CSMs (408)

Il a été également démontré l'existence, dans certains cancers (sein, leucémie...) de populations de cellules mésenchymateuses qui pourraient faciliter les métastases, promouvoir la néo-angiogenèse et contribuer à la résistance aux traitements (radiations et chimiothérapies) et aux récives ⁽²¹²⁾. L'élucidation des voies qui régulent ces mécanismes pourrait permettre d'identifier des cibles thérapeutiques potentielles et ainsi prévenir les métastases et surtout de limiter la croissance tumorale ⁽⁴⁰⁷⁾. Nous ne nous appesantirons ici cependant pas sur ces aspects, car ils sont éloignés du sujet principal de ce travail.

1.2.2.2 Cellules souches non mésenchymateuses

La plupart des tissus chez l'adulte peuvent se régénérer, mais ce processus varie selon leur type: la peau et le sang se régénèrent vite, le foie ou le tissu nerveux beaucoup plus lentement. Cela atteste de l'existence des cellules souches dans tous les tissus d'un organisme adulte quelque soit leur origine embryonnaire. Nous allons ici en donner quelques exemples.

Cellules souches épidermiques

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. Ces activités de renouvellement et de réparation de l'épiderme impliquent l'existence des cellules souches. La capacité de prolifération et de régénération tissulaire des CS épidermiques a été démontré par leur culture *in vitro* suivi par leur transplantation chez les patients atteints de brûlures étendues ⁽¹³³⁾.

Cellules souches nerveuses

Les cellules constituant le système nerveux se différencient au cours de la vie fœtale et chez l'adulte dans certaines régions du cerveau (au niveau du bulbe olfactif, de la région du gyrus dentatus de l'hippocampe et au niveau de certains noyaux dans la moelle épinière). Ces cellules peuvent alors se différencier en neurones, astrocytes ou oligodendrocytes ^{(289), (338)}.

Cellules souches hépatiques

Le parenchyme hépatique contient deux lignées de cellules épithéliales : les hépatocytes et les cellules biliaires intrahépatiques, qui dérivent d'un précurseur embryonnaire commun – l'hépatoblaste. Des données expérimentales et cliniques récentes ont permis de démontrer la persistance d'un compartiment de cellules souches hépatiques dans le foie adulte, chez les rongeurs comme chez l'homme. Le renouvellement de ces cellules souches pourrait impliquer, au moins en partie, des précurseurs d'origine médullaire. Les cellules souches hépatiques jouent probablement un rôle dans le renouvellement physiologique des cellules hépatiques parvenues au terme de leur durée de vie normale. En cas d'agression, l'implication des cellules souches dans la régénération hépatique varie en fonction de la sévérité des lésions. Si l'agression est minime, les capacités de prolifération des hépatocytes suffisent à assurer la régénération du parenchyme hépatique. Si l'agression est sévère, les cellules souches hépatiques sont mises en jeu et prolifèrent, pour donner naissance à des populations nouvelles capables de se différencier en hépatocytes ou en cellules biliaires ⁽¹¹¹⁾.

Cellules souches hématopoïétiques

Les cellules souches sanguines (hématopoïétiques) sont les premières cellules souches à avoir été identifiées. Leur découverte dans les années 1960 a marqué le début de la recherche sur les cellules souches et la thérapie cellulaire.

Après la naissance, les cellules souches sanguines se retrouvent dans la moelle osseuse et en particulier dans l'os sternal, les os iliaques et la tête du fémur. Elles peuvent également être obtenues à partir d'un prélèvement sanguin. Ces cellules sont le plus

couramment utilisées de nos jours pour traiter les hémopathies malignes telles que leucémies, lymphomes, myélomes ou l'anémie ⁽⁴⁰⁶⁾.

Cellules souches non-mésenchymateuses orales

Dans une étude de 2008, les auteurs ont obtenu de l'émail à partir d'îlots épithéliaux de Malassez d'origine porcine ⁽³¹⁷⁾, suggérant ainsi la présence des cellules progénitrices de l'émail dans ces vestiges.

Nous allons à présent détailler les propriétés des cellules mésenchymateuses adultes, objet principal de notre travail.

1.3 Caractéristiques et propriétés des CSMs

1.3.1 Origines tissulaires

Les CSMs ont été initialement isolées dans le compartiment stromal de la moelle osseuse ⁽¹¹⁶⁾, puis dans presque tous les tissus conjonctifs post-nataux ⁽²²⁶⁾, en particulier le cordon ombilical ⁽²⁸⁸⁾, le tissu adipeux ⁽²⁸⁸⁾, le sang du cordon ombilical ⁽¹⁰⁰⁾, le tissu placentaire ⁽³²³⁾ et le conjonctif cutané ⁽³⁸¹⁾. Elles présentent toutes les mêmes caractéristiques biologiques basale, mais du fait de leur origine variée, elles peuvent différer en ce qui concerne leur potentiel d'expansion et de différenciation ⁽¹⁷³⁾. Il est donc logique d'essayer de déterminer la source de CSM la plus appropriée pour les applications cliniques, notamment en odontologie (voir chapitre 1.4.3).

Moelle osseuse (Figure 7)

Le micro-environnement de la moelle osseuse constitue la niche la plus importante des CSMs du corps humain ⁽¹⁵⁵⁾. Les études suggèrent que les cellules mésenchymateuses de la moelle, les **BMMSCs** (pour « bone marrow mesenchymal stem cells »), se trouvent préférentiellement au niveau des compartiments péri-vasculaires ⁽³¹⁶⁾.

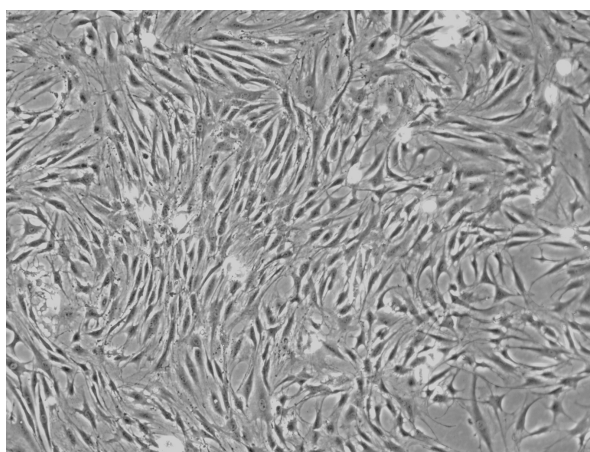


Figure 7 : CSMs de la moelle osseuse de rat (405)

Morphologiquement, ces cellules constituent une population hétérogène limitée en ce qui concerne leur potentiel de prolifération ⁽⁶⁰⁾; lors d'une expansion *ex vivo*, elles ne peuvent donner que 30 à 50 doublements de population ^{(33), (23)}. Cette population contient différentes sous-populations en terme de potentialités ^{(132), (329)}. Elles possèdent des capacités de différenciation en multiples phénotypes dans des conditions définies *in vitro*, incluant les ostéoblastes, chondroblastes, adipocytes et myoblastes ⁽¹⁵⁵⁾.

De point de vue biologique, les cellules provenant de la moelle osseuse semblent être particulièrement indiquées en thérapie cellulaire ^{(169), (318)}, mais la technique de prélèvement est hautement invasive (aspiration de la moelle osseuse sous anesthésie générale) et permet de ne récupérer qu'un nombre très réduit de CSMs (1-2 % des cellules totales de la moelle) ⁽¹³¹⁾, nécessitant une expansion cellulaire à long terme – une procédure qui peut engendrer des aberrations chromosomiques. En effet, plus les cellules se divisent, plus elles perdent leur potentialités et deviennent moins efficaces, voire déviantes. De ce fait, l'utilisation de la moelle osseuse dans une application odontologique est fréquemment discutée.

Tissu adipeux

A ce jour, le tissu adipeux (blanc et sous-cutané) constitue une bonne alternative à l'utilisation de BMMSCs et fournit une quantité abondante de CSMs (10^6 cellules dans 10g de tissu), car il est ubiquitaire et de prélèvement facile (liposuccions et dermoplasties) ^{(232), (395), (294), (396)}. Les caractéristiques morphologiques et immuno-phénotypiques des CSMs issues du tissu adipeux, les **AMSCs** (pour « adipose-derived mesenchymal stem cells ») (Figure 8), sont très similaires aux CSMs médullaires, à quelques différences près ⁽²³²⁾ : les cellules de la moelle osseuse présentent des capacités de prolifération plus réduites que les **AMSCs** ⁽¹⁷³⁾.

Le tissu adipeux apparaît comme une source de plus en plus prometteuse en thérapie cellulaire, compte tenu de la faible morbidité liée à son prélèvement et du nombre conséquent de CSMs qui en dérivent.

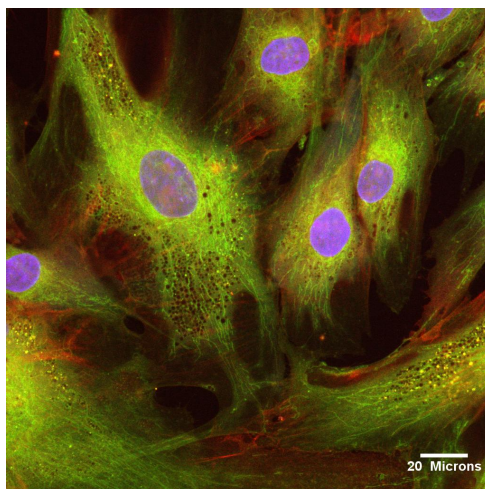


Figure 8 : CSMs du tissu adipeux (404)

Cordon ombilical

Le sang du cordon ombilical a été considéré comme une source alternative à la moelle osseuse de CSMs grâce à sa facilité de prélèvement ^{(219), (311), (160)}. Les cellules sont jeunes et présentent donc un fort potentiel de prolifération et de différenciation ⁽²⁵⁾. Cependant, ici encore on se heurte au problème du nombre de cellules récupérées (environ 4×10^9 de cellules nucléées) et au rendement, inférieur à 30 % ⁽³⁵⁵⁾. De plus, l'étape de cryoconservation est incontournable, ce qui pose des problèmes éthiques et fonctionnels, les cellules perdant une partie de leur potentialités après stockage dans l'azote et re-ensemencement.

Membrane amniotique

La membrane amniotique comme source de CSMs semble retenir l'attention des chercheurs ⁽⁷⁾. Les CSMs peuvent en être prélevées sans procédure invasive ni conflit éthique. Elles présentent peu d'immunogénicité, une multipotence et des propriétés anti-inflammatoires similaires aux cellules dérivées de la moelle osseuse ^{(45), (175)}.

Autres tissus conjonctifs

Les progéniteurs mésenchymateux sont également présents dans les conjonctifs de la cavité orale comme le tissu pulpaire, le follicule, le tissu osseux, la gencive ou le desmodonte (voir chapitre 1.4.2).

Les sources des CSMs sont variées et présentent chacune des avantages et des inconvénients (procédure de prélèvement, nombre de cellules récupérées, morbidité, greffe autologue ou allogreffe...). Il est évident que certaines sources seront plus adaptées aux traitements de maladies à pronostic vital engagé (pathologies cardiaques ou maladies dégénératives) et inenvisageables, tant d'un point de vue biologique qu'éthique, pour les thérapeutiques odontologiques ; d'autres sources de CSMs – comme le tissu adipeux ou certains tissus dentaires ou périodontaires, étant plus à-même que les sources à prélèvement invasif, d'être exploitées dans le traitement des affections orales.

1.3.2 Caractéristiques *in vitro*

Les cellules stromales mésenchymateuses sont caractérisées par leur capacité à former des clones (CFU-F), par un ensemble de marqueurs de surface (phénotype de surface) et par leur multipotence, c'est-à-dire leur capacité à donner différents tissus en fonction de leur micro-environnement. Dans des conditions de culture standards, une population des CSMs doit être capable de se différencier *in vitro* au moins en ostéoblastes, chondroblastes et adipocytes ⁽⁸⁴⁾.

1.3.2.1 Clonogénicité

Les CSMs sont caractérisées par leur capacité de former les colonies de type CFU-F ⁽⁸⁴⁾. On considère *a posteriori*, qu'à chaque clone correspondait une cellule mésenchymateuse initiale.

1.3.2.2 Phénotype de surface

Il n'existe pas de marqueurs spécifiques des progéniteurs mésenchymateux ⁽⁸⁴⁾. Cependant certains marqueurs de surface aident à identifier, caractériser et isoler ces cellules.

La Société Internationale sur la Thérapie Cellulaire (ISCT) a établi un consensus en fixant les critères d'identification des CSMs *in vitro* ⁽⁸⁴⁾ (Tableau 1), selon lesquels une population des CSMs doit :

- être adhérente au plastique dans des conditions de culture standardisées ;
- exprimer plus de 95 % des marqueurs de surface des cellules conjonctives CD73, CD90 et CD105 ;
- être négative (moins de 2 %) aux marqueurs CD14, CD19, CD31, CD45 et aux molécules de surface HLA-DR (marqueurs hématopoïétiques).

MARQUEURS POSITIFS (+)	MARQUEURS NEGATIFS (-)
CD 73 CD 90 CD 105	CD 14 CD 19 CD 31 CD 45 HLA-DR

Tableau 1 : Critères minimaux des CSMs selon ISCT (155)

Certains auteurs ont également suggéré l'utilisation d'autres marqueurs, susceptibles de sélectionner des sous-populations multipotentes. STRO-1 (pour « antigène de surface résistant à la trypsine »), est un marqueur utilisé pour isoler des progéniteurs mésenchymateux au sein d'une population cellulaire ^{(376), (377), (370)}. Il est exprimé précocement à leur surface et son expression diminue au fur et à mesure en culture.

Des marqueurs de cellules souches embryonnaires, comme Oct-4, Nanog, SSEA-3, SSEA-4, TRA-1-60 et TRA-1-81 ont été décrits à la surface de certaines CSMs adultes, comme les cellules pulpaire ⁽¹⁷²⁾.

L'expression de nestine – marqueur neural présent sur les CSMs du premier arc, rappelle l'origine ectomésenchymateuse des tissus conjonctifs oraux ⁽²¹⁷⁾.

Il n'existe pas de méthode standardisée permettant l'identification des CSMs et chaque équipe possède sa propre approche ce qui complique la comparabilité des résultats expérimentaux. Plus encore, certains protocoles peuvent introduire des changements génétiques et épi-génétiques dans des populations de CSMs en culture, altérant ainsi leurs plasticités et potentialités.

1.3.2.3 Multipotence

Comme nous l'avons déjà mentionné plus haut, les CSMs sont destinées à s'orienter en différenciation vers des phénotypes de cellules des conjonctifs. Toutefois, dans les années 2000 ^{(165), (45), (330), (347)} il a été suggéré que les CSMs pouvaient également se différencier en cellules nerveuses, épithéliales, hépatocytes ou cellules pancréatiques. Les conditions expérimentales permettant d'envisager les aspects de plasticité cellulaire *in vitro*

sont toutefois assez éloignées de la réalité intra-vitale. La différenciation des CSMs *in vivo* est régulée par un micro-environnement tissulaire et est, de ce fait, beaucoup plus complexe.

Même si les CSMs d'origines orales et extra-orales partagent de nombreuses caractéristiques (voir chapitre 1.4.3), il semble qu'il soit difficile d'orienter la différenciation des progéniteurs mésenchymateux extra-oraux vers un phénotype très spécialisé comme celui des cellules des tissus dentaires et péri-dentaires, du fait de leur origine ecto-mésenchymateuse probablement. Certaines données préliminaires (non publiées) ont suggéré que des BMMSCs pouvaient se différencier en ostéoblastes et cémentoblastes, mais beaucoup de questions restent posées.

1.3.3 Caractéristiques *in vivo*

Certaines propriétés des CSMs, particulièrement porteuses en thérapeutique, ne sont identifiables qu' *in vivo*. Elles concernent surtout les relations qu'elles entretiennent avec le système immunitaire.

Il n'y a pas de consensus concernant les marqueurs qui pourraient identifier de manière fiable les CSMs *in vivo*. On ne peut, faute de mieux, qu'utiliser les marqueurs évoqués ci-dessus (chapitre 1.3.2.2).

Il est particulièrement intéressant de pouvoir « suivre » des CSMs introduites dans un organisme afin d'avoir une idée précise sur leur distribution.

Lo Celso et coll. ⁽²¹⁴⁾ ont réussi à observer de façon dynamique les CSMs au niveau de la moelle osseuse de la calvaria chez des souris vivantes, grâce à l'utilisation de la microscopie confocale de très haute résolution et l'imagerie bi-photonique. Ils ont étudié en temps réel les relations entre les progéniteurs et les vaisseaux sanguins, les ostéoblastes et la surface endostéale.

Toma et coll. ⁽³⁴⁵⁾ ont utilisé la microscopie « intra-vitale » pour observer des phénomènes de capture des CSMs dans les micro-vaisseaux dans le but d'identifier leur distribution après un infarctus du myocarde.

1.3.3.1 Immuno-modulation

Les propriétés immuno-suppressives et anti-inflammatoires font partie des caractéristiques les plus extra-ordinaires des CSMs ^{(247), (353), (99)}. En effet, les progéniteurs mésenchymateux moduleraient la réaction immunitaire et donc l'inflammation. Ici encore, ce mécanisme n'est pas entièrement élucidé.

Les CSMs expriment à leur surface peu de molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de type 1 (CMH-1) et n'expriment pas du tout de CMH-2 ⁽¹⁹⁷⁾ ; par conséquent elles n'activent pas de lymphocytes allogéniques ni xénogéniques, et donc ne sont pas immunogènes ⁽³⁸⁾. Cette caractéristique autorise les greffes allogéniques de CSMs (par exemple dérivés du cordon ombilical ou du tissu adipeux).

De plus, il a été démontré la capacité des CSMs de supprimer l'activation et la prolifération des lymphocytes T et B en bloquant ces cellules dans la phase G0/G1 de leur cycle cellulaire ^{(62), (167), (76), (185)}. Certains auteurs ⁽⁸¹⁾ proposent d'exploiter cette propriété

dans le traitement du lichen plan – affection auto-immune de la muqueuse buccale médiée principalement par les lymphocytes T CD8+. Une telle thérapeutique, basée sur l'apport systémique ou local de CSMs médullaires, pourrait remplacer les traitements actuels à base d'immuno-suppresseurs ayant des effets secondaires cytotoxiques importants.

Outre les effets sur les lymphocytes, les CSMs peuvent également interférer dans :

- la différenciation, la maturation et la fonction des cellules dendritiques par la synthèse des médiateurs tels que IL-6 et M-CSF ⁽⁸³⁾ ;
- la maturation des monocytes ⁽²⁴⁷⁾ ;
- la sécrétion de l'interféron- γ et le TNF- α ⁽²⁴⁷⁾.

Les CSMs pourraient, par la synthèse des molécules anti-inflammatoires, modifier le micro-environnement du tissu endommagé pour ainsi le protéger ^{(197), (224)}.

Du fait de leurs propriétés immuno-modulatrices, la transplantation des CSMs est proposée dans le traitement de la maladie du greffon contre l'hôte (GVH) ^{(181), (195)} et pressenties pour traiter plusieurs maladies auto-immunes, comme le diabète de type 1 ⁽¹⁰⁹⁾, le polyarthrite rhumatoïde ⁽²⁹⁾, le lupus érythémateux ⁽³⁸⁴⁾ et la sclérose en plaques ⁽²²⁰⁾.

1.3.3.2 Migration et domiciliation (« homing »)

Les CSMs résidant dans les tissus restent à un stade quiescent jusqu'à ce qu'elles soient stimulées ⁽²³⁷⁾. Elles peuvent alors migrer vers les tissus endommagés pour y exercer leurs effets thérapeutiques – c'est ce qu'on appelle le « homing » ^{(46), (47), (168)}. Elles effectueraient un passage passif dans les micro-vaisseaux pour y interagir directement avec des cellules *in situ* et relarguer une large gamme des facteurs de croissance solubles et des cytokines ^{(66), (197)}. L'efficacité de ce mécanisme dépendrait de l'action :

- des récepteurs et ligands spécifiques exprimés par les tissus endommagés, qui non seulement faciliteraient l'adhésion et l'infiltration des CSMs, mais aussi assureraient un micro-environnement permettant l'auto-renouvellement cellulaire et le maintien de la multipotence ⁽⁴⁶⁾ ;
- des récepteurs aux intégrines, sélécines et chimiokines exprimés par les CSMs et impliqués dans la traversée de l'endothélium ⁽³¹⁾.

Il est important de noter que les CSMs sont très rares dans la circulation sanguine – Kuznetsov et coll. ⁽¹⁸⁹⁾ en ont trouvé uniquement chez 3 individus sur 66.

Barbash et coll. ⁽¹⁹⁾ ont étudié la distribution systémique des CSMs après leur injection intra-veineuse. Les cellules se logeaient préférentiellement au niveau des poumons, alors que les organes comme le cœur, le foie et la rate étaient colonisés par un très petit nombre de ces cellules.

Dans une étude de Li et coll. ⁽²⁰⁴⁾ les CSMs de la moelle osseuse injectées dans la circulation sanguine chez le rat ont significativement amélioré les fonctions neurologiques – elles ont montré une capacité à migrer dans les tissus cérébraux endommagés lorsqu'elles avaient été administrées rapidement après l'installation d'une ischémie cérébrale.

Jusqu'à présent, aucune étude n'a démontré la migration oro-faciale ou dentaire des CSMs administrées par voie intra-veineuse.

1.3.3.3 Effet trophique et différenciation

Récemment, il a été observé que les CSMs, par l'intermédiaire d'un effet sur la trophicité tissulaire, pourraient jouer un rôle significatif dans la régénération ^{(10), (318)}. En effet, après leur transplantation, les CSMs contribueraient à la réparation tissulaire par la sécrétion de molécules impliquées dans l'homéostasie : des glycoprotéines solubles de la matrice extra-cellulaire, les cytokines et les facteurs de croissance, qui sont responsables de la réduction de l'inflammation ainsi que de la stimulation de la régénération tissulaire ^{(344), (37)}.

Plotnikov et coll. ⁽²⁷⁴⁾ ont démontré *in vitro* la constitution des micro-connexions sous forme des nanotubes entre les membranes cellulaires des CSMs et des cardiomyocytes qui permettent à ces cellules d'échanger leurs organelles (mitochondria ou d'autres composants cytoplasmiques). Le rôle de ces connexions dans la régénération tissulaire n'est pas encore clarifié.

Les connaissances actuelles laissent apparaître que les CSMs greffées, induites par une série des signaux locaux, pourraient se différencier en au moins 3 types cellulaires :

- des cellules spécifiques du tissu endommagé ; par exemple les CSMs peuvent donner des cardiomyocytes, des cellules musculaires lisses ou des cellules endothéliales vasculaires, dans le cas d'une maladie touchant le muscle cardiaque ^{(19), (124), (282)} ;
- des cellules fonctionnelles du tissu local qui participeraient au micro-environnement du tissu endommagé ⁽²⁶⁹⁾ ;
- des cellules régulatrices, qui contribueraient à la régénération tissulaire par la sécrétion des cytokines possédant des fonctions trophiques et immuno-modulatrices ⁽¹⁰⁾.

Les mécanismes moléculaires et environnementaux qui contrôlent la différenciation des CSMs ne sont encore pas bien connus. Plusieurs hypothèses ont été proposées. Dennis et coll. ⁽⁷³⁾ suggèrent que les CSMs posséderaient des gènes de réserve qui, en s'exprimant différemment en fonction de l'environnement, pourraient orienter la différenciation vers une lignée cellulaire spécifique. Phinney et Prockop ⁽²⁷⁰⁾ proposent l'hypothèse selon laquelle les CSMs seraient équipées de protéines motrices et d'un arsenal protéolytique qui favoriserait leur interaction et leur réponse à des signaux provenant de la matrice extra-cellulaire, et ainsi leur différenciation. Selon Moore et Lemischka ⁽²³⁶⁾ c'est l'interaction entre les CSMs et leur niche qui maintient leurs propriétés. Cette niche est constituée des cellules stromales, de molécules-sigaux, de la matrice extra-cellulaire et de molécules d'adhésion. Une fois que la cellule quitte sa niche, elle s'engagerait dans la différenciation ⁽³⁰⁸⁾.

1.4 Cellules stromales mésenchymateuses issues des tissus de la cavité orale

A l'exception des progéniteurs améloblastiques, toutes les cellules progénitrices impliquées dans l'odontogenèse sont d'origine mésenchymateuse, ou plus précisément ecto-mésenchymateuse. D'ailleurs, les tissus dentaires et périodontaires sont considérés comme une source riche en cellules mésenchymateuses ⁽¹⁰⁴⁾. En odontologie, la recherche orientée sur la biologie des CSMs représente un grand espoir en terme de régénération des tissus oraux-faciaux.

1.4.1 Rappels sur l'odontogenèse

Chez l'adulte, les mécanismes impliqués dans la cicatrisation sont une reproduction plus ou moins fidèle des événements liés au développement. Optimiser les phénomènes de régénération des tissus conjonctifs sous entend donc de maîtriser les processus biologiques inhérents à leur formation. L'émail est la seule structure dentaire ayant une origine ectodermique, alors que les autres composants de la dent et le parodonte sont formés par les cellules ecto-mésenchymateuses ⁽¹³⁷⁾.

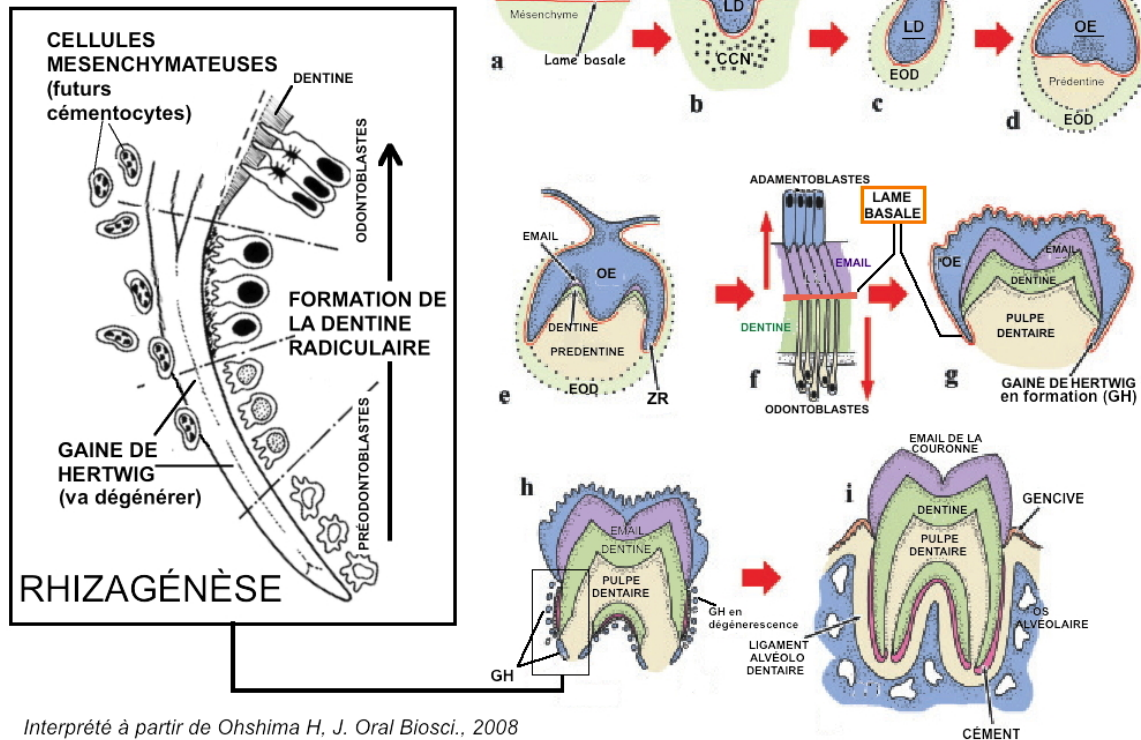
Le développement des dents lactéales et permanentes résulte d'une série d'interactions réciproques de l'épithélium oral avec l'ecto-mésenchyme sous-jacent ^{(272), (163), (56), (340)}.

Au cours de la cinquième semaine de la vie intra-utérine, l'odontogenèse débute grâce à l'**induction primaire** - interaction entre les cellules des crêtes neurales ayant migrées dans le mésenchyme du premier arc et l'épithélium oral ou épiblaste stomodéal ⁽²⁹⁸⁾. Alors que l'épithélium fournit les informations de position, le mésenchyme sous-jacent est responsable de la régulation et de la différenciation cellulaires ⁽²⁶⁾. Cette induction provoque une modification de la couverture épiblastique où on observe l'apparition d'un épaissement en forme de fer à cheval, qui court tout le long de la future arcade et en regard de laquelle l'ecto-mésenchyme se concentre : c'est la crête épithéliale primitive. Une **lame dentaire**, puis un renflement épithélial coiffé d'ectomésenchyme, le bourgeon, se forme. La lame dentaire va ensuite involuer assez vite, mais elle sera encore capable de donner naissance à de nouvelles lames, de remplacement, à l'origine des bourgeons des dents définitives ⁽³⁸⁹⁾.

C'est à partir des stades ultérieurs, de « cupule » puis de « cloche », que l'on peut distinguer 3 entités anatomo-fonctionnelles au niveau du germe (Figure 9) :

- **l'organe de l'émail** (structure épithéliale) ;
- **la papille primitive** (structure ectomésenchymateuse), qui sera à l'origine des odontoblastes, de la dentine et de la pulpe ;
- **le follicule fibreux** (structure ectomésenchymateuse), qui sera à l'origine de l'ancrage alvéolo-dentaire c'est à dire le ciment, l'os alvéolaire et le desmodonte.

ODONTOGÉNÈSE



Interprété à partir de Ohshima H, J. Oral Biosci., 2008

Figure 9 : Schéma simplifié de l'odontogénèse (259). (LD) lame dentaire, (CCN) cellules des crêtes neurales, (EOD) papille primitive, (OE) organe de l'émail, (ZR) zone de réflexion.

L'organe de l'émail comprend 4 grands ensembles cellulaires :

- **l'épithélium adamantin externe** (EAE) limité à l'extérieur par la lame basale (LB), correspond à une couche de cellules cuboïdes qui constituent la cape externe de l'organe de l'émail ;
- l'EAE à son pôle apical se réfléchit et devient **l'épithélium adamantin interne** (EAI) qui décrit une courbe concave vers le mésenchyme papillaire dont il est séparé par la lame basale (LB) ;
- l'E.A.I. est surmonté par le **stratum intermédiaire**, formé de plusieurs couches de cellules presque contiguës et orientées parallèlement à la LB ; il forme avec l'EAI un complexe fonctionnel tout au long de l'amélogénèse ;
- le **réticulum étoilé** se compose de cellules dont l'aspect est proche de celui du SI et constitue la masse cellulaire la plus importante.

Les **odontoblastes**, formés à partir des progéniteurs mésenchymateux papillaires, sécrètent la matrice dentinaire et migrent de façon centripète. Il existe une induction de l'odontoblaste vers l'épithélium, qui permet sa différenciation en améloblastes. L'améloblaste sécrèteur de la matrice de l'émail migre de façon centrifuge, puis les cristaux se déposent et forment l'émail. C'est lorsqu'une grande partie des tissus durs coronaires sont déposés qu'on assiste à l'accolement de l'EAE et de l'EAI au niveau de la zone de réflexion pour former la **gaine épithéliale de Hertwig von Brunn** ⁽³⁰⁶⁾. Le déroulement de la gaine aboutit à la formation de la plus grande partie de la racine (2/3 à 3/4). Elle va sécréter des facteurs protéiques (dont des amélogénines et des BMPs) destinée des CSMs de la papille primitive et du follicule fibreux, afin d'induire la différenciation des odontoblastes radiculaires d'une part, et des cellules du parodonte profond, d'autre part.

La **cémentogenèse** débute avec la fragmentation de la gaine qui s'écarte de la dentine radiculaire, s'étire et se fragmente en **îlots épithéliaux de Malassez** circonscrits par la LB et qu'on retrouve chez l'adulte dans le ligament ⁽⁷⁷⁾. Dès que la gaine se fragmente, la surface dentinaire est colonisée par les progéniteurs mésenchymateux folliculaires – les futurs cémentoblastes, qui vont assurer la synthèse de la matrice du ciment. Cette matrice va se minéraliser en servant de support au dépôt des sels minéraux. La cémentogenèse est un processus constant tout au long de la vie.

L'os alvéolaire est défini comme le prolongement de l'os basal. Ses limites sont impossibles à tracer, le seul repère reste la dent. C'est une formation à type d'ossification membranaire, indissociable de la racine et de la dent par l'intermédiaire de l'ancrage.

Le ligament parodontal ou desmodonte est l'espace conjonctif délimité d'un côté par la paroi osseuse alvéolaire et de l'autre par la paroi cémentaire. C'est l'« investing layer » – la couche interne du follicule dentaire qui serait à l'origine du ciment et du ligament. Les jeunes fibroblastes du follicule fibreux vont prendre un aspect sécréteur et assurer la synthèse, le remodelage et le renouvellement des structures fibrillaires collagéniques du ligament parodontal. De plus, au niveau du diaphragme épithélial de la racine en formation, les populations cellulaires du ligament nouvellement formé sont enrichies de cellules progénitrices mésenchymateuses. Les cellules filles de ces progéniteurs migrent en direction coronaire et donnent les fibroblastes à l'origine du collagène desmodontal ⁽⁵²⁾.

Le follicule fibreux joue un rôle primordial dans la formation du ciment, du ligament parodontal et de l'os alvéolaire car il contient des précurseurs mésenchymateux multipotents, dont les descendants sont retrouvés chez l'adulte, dans le desmodonte ^{(52), (339)}.

En conclusion de ce rappel, notons que l'émail est la seule structure qui ne contient pas de cellules progénitrices, car les améloblastes disparaissent après l'éruption dentaire, ne laissant donc aucune possibilité de thérapie cellulaire concernant les tissus ectodermiques. Le complexe pulpo-dentinaire et le parodonte profond par contre, se forment grâce à l'implication des CSMs, dont le rôle est omniprésent, aussi bien en tant qu'éléments inducteurs que compétents. Nous verrons ci-après qu'il existe au niveau des structures orales chez l'adulte, des CSMs qui dérivent directement des progéniteurs des odontoblastes, cémentoblastes, fibroblastes du ligament et ostéoblastes alvéolaires et qui sont susceptibles de répondre, en régénération, comme avaient pu le faire leurs antécédents pendant le développement.

1.4.2 CSMs d'origine orale

Les cellules stromales mésenchymateuses ont été mises en évidence au cours des dix dernières années, au niveau des tissus dentaires et péri-dentaires dont (Figure 10):

- la pulpe dentaire ⁽¹³⁰⁾, les **DPSCs** (pour « **Dental pulp stem cells** ») ;
- la partie apicale du mésenchyme pulpaire (la papille) ⁽³²⁶⁾, les **SCAPs** (pour « **Stem cells from apical papilla** ») ;
- le desmodonte ⁽³¹²⁾, les **PDLSCs** (pour « **Periodontal ligament stem cells** ») ;
- le follicule entourant le bourgeon dentaire ⁽²³⁹⁾, les **DFSCs** (pour « **Dental follicle stem cells** ») ;
- les dents lactéales exfoliées ⁽²²⁹⁾, les **SHEDs** (pour « **Stem cells from human extracted deciduous teeth** ») ;
- l'os alvéolaire et le périoste ⁽⁵⁷⁾, les **BMSCs** ou **BMMSCs** (pour « **Bone marrow stem cells** ») ;
- la gencive attachée ⁽²²¹⁾, les **OMSCs** (pour « **Oral mucosa stem cells** »).

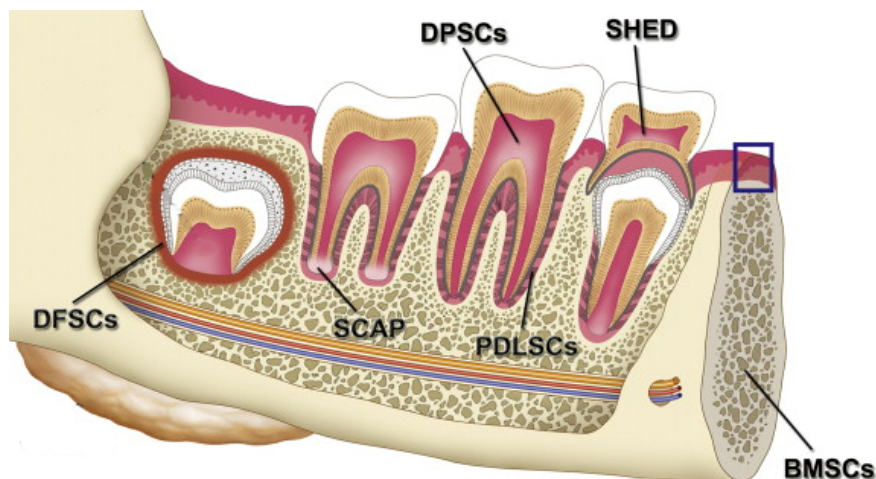


Figure 10 : Cellules stromales mésenchymateuses orales (94)

Les CSMs d'origine orale ont été isolées et cultivées selon des conditions bien définies, et ont un potentiel d'utilisation dans l'ingénierie tissulaire incluant la régénération des tissus dentaires et de l'os ^{(72), (253), (94)}. Ces cellules sont morphologiquement identiques aux CSMs archétypales issues de la moelle osseuse hématopoïétique ⁽¹³⁰⁾.

Elles présentent des caractéristiques communes à toutes les CSMs ^{(271), (375), (354), (80), (2), (130), (229), (326), (210)}.

- l'auto-renouvellement,
- la différenciation en lignées mésodermiques,
- la clonogénicité,
- un phénotype de surface déterminé,
- l'immuno-modulation,
- les effets trophiques,
- la cryo-préservation.

Pour chaque type de CSMs d'origine orale vont être décrites la source, puis les caractéristiques de ces cellules *in vitro* et leur potentiel *in vivo*.

1.4.2.1 Progéniteurs mésenchymateux pulpaire

Les cellules progénitrices pulpaire (« **DPSCs** » pour « dental pulp stem cells ») peuvent être isolées à partir du tissu pulpaire (Figure 11). Elles ont été mise en évidence en 2000 par Gronthos et coll.⁽¹³⁰⁾ et font partie du contingent cellulaire du tissu pulpaire, avec les odontoblastes, fibroblastes, macrophages et lymphocytes⁽²²⁾. Shi et Gronthos⁽³¹⁶⁾ ont montré qu'elles résidaient dans les régions péri-vasculaires et péri-nerveuses.

Les sources possibles de DPSCs peuvent être les dents incluses ou les pulpes saines extirpées après une pulpectomie indiquée dans une stratégie thérapeutique⁽⁶⁸⁾.

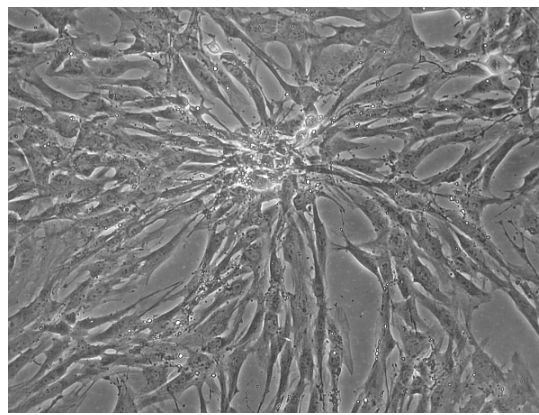


Figure 11 : Progéniteurs mésenchymateux pulpaire (11ème jour de culture)(409)

Dans la pulpe dentaire il existe des sous-populations de cellules progénitrices, qui sont différentes en ce qui concerne leur capacité d'auto-renouvellement, la vitesse de prolifération et le potentiel de différenciation^{(129), (150), (331)}. Elles ne perdent pas leur capacité de différenciation, même après un stockage dans l'azote liquide^{(261), (367)}.

Les colonies cellulaires formées par les DPSCs sont hétérogènes en densité, ce qui suggère que chaque clone cellulaire possède un rythme de croissance différent et que la population initiale est elle-même hétérogène⁽¹³⁰⁾. On observe également différentes morphologies et tailles des cellules.

Bakopoulou et coll.⁽¹⁷⁾ ont prélevé les CSMs à partir de la pulpe de troisièmes molaires incluses et ont démontré leur différenciation en cellules assimilées à des odontoblastes, possédant un fort potentiel de minéralisation et donnant *in vitro* une structure de dentine organisée tri-dimensionnelle.

En plus de leur potentiel dentinogénique, des sous-populations de DPSCs possèdent les capacités de différenciation en adipocytes ou cellules nerveuses, en exprimant à leur surface les marqueurs respectifs de ces lignées et en adoptant leur morphologie⁽¹²⁹⁾. Les études de Laino et coll.^{(192), (191)}, Zhang et coll.⁽³⁸⁸⁾ et d'Aquino et coll.⁽⁶⁷⁾ ont démontré les capacités ostéogéniques, chondrogéniques et myogéniques des DPSCs.

In vivo, les DPSCs mélangées avec de l'hydroxyapatite/phosphate tricalcique et transplantées chez la souris immunodéficiente, forment des complexes pulpo-dentaires, dans lesquels un tissu pulpaire est entouré par une rangée d'odontoblastes producteurs de dentine dont la structure ressemble à celle de la dentine naturelle et s'épaissit avec le temps^{(130), (21)} (Figure 12). Des expériences chez le lapin confirment ces résultats⁽⁹⁶⁾.

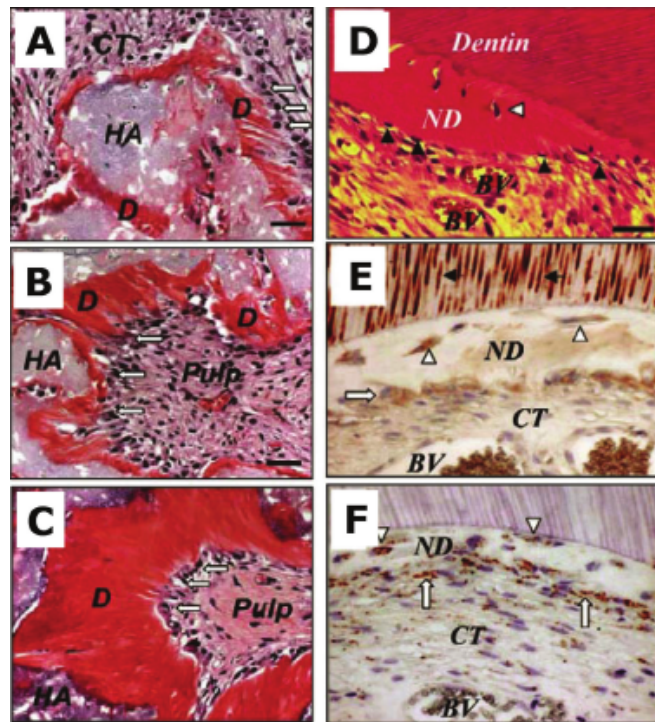


Figure 12 : Formation du complexe pulpo-dentinaire par les DPSCs transplantées chez la souris (21): (A) A J+4 semaines différenciation des DPSCs en odontoblastes (flèches blanches) producteurs de dentine à la surface du biomatériau (HA). (B) J+8 semaines. (C) J+16 semaines. (D) DPSCs forment une nouvelle dentine réparatrice (ND), BV=vaisseaux sanguins. (E,F) Preuve de l'origine humaine de la nouvelle dentine réparatrice (ND) expression de DSPP, grâce à la technique d'immuno-histochimie ; CT=tissu conjonctif.

Almushayt et coll.⁽⁶⁾ ont démontré que la DMP1 (protéine matricielle non-collagénique dentinaire) favorise significativement la différenciation des DPSCs en odontoblastes et la formation de la dentine tertiaire réparatrice sur le tissu pulpaire exposé. L'induction des DPSCs en odontoblastes peut être également obtenue grâce au facteur de croissance TGF β 1 seul ou en combinaison avec le FGF2⁽¹⁴¹⁾.

Les DPSCs peuvent se différencier *in vitro* en ostéoblastes à l'origine d'os autologue vivant (désigné dans la littérature internationale comme « LAB » pour « living autologous fibrous bone tissue »)⁽¹⁹²⁾, alors qu'*in vivo*, une sous-population ayant un potentiel ostéogénique a été identifiée^{(187), (377)}.

Carinci et coll.⁽⁴²⁾ ont étudié *in vitro* les profils génétiques des ostéoblastes normaux avec ceux formés à partir des DPSCs. Même si les deux phénotypes sont considérés comme « normaux », les différences ont été trouvées au niveau de l'expression de certains gènes, comme ceux responsables de la différenciation, la maturation, l'adhésion et la production du cytosquelette cellulaire.

D'Aquino et coll.⁽⁶⁸⁾ ont démontré l'influence des DPSCs sur l'angiogenèse et Pierdomenico et coll.⁽²⁷¹⁾ leurs effets immuno-suppressifs.

Les DPSCs peuvent exprimer les marqueurs neuronaux et même se différencier en neurones, ce qui suggère leur utilisation possible en thérapie cellulaire des maladies cérébrales⁽²⁵³⁾. Ceci peut s'expliquer par leur origine ectomésenchymateuse. Dans une étude récente⁽¹⁷⁸⁾, les DPSCs étaient transplantées dans le liquide cérébro-spinal du rat, chez lequel une lésion avait été induite. Ces cellules ont migré dans de différentes régions du cortex et ont exprimé les marqueurs neuronaux spécifiques. Les DPSCs s'intègrent donc dans le cerveau de l'hôte et peuvent servir de source très utile neuro et glio-génique *in vivo*.

En odontologie, on connaît depuis longtemps le potentiel de régénération à long terme des cellules progénitrices pulpaire adultes, qui peuvent produire de la dentine tertiaire, souvent recherchée en thérapeutique. L'application d'hydroxyde de calcium, parmi d'autres produits, peut induire la différenciation des progéniteurs pulpaire en odontoblastes. Prescott et coll. ⁽²⁷⁷⁾ ont donc proposé l'utilisation de DPSCs en fond de cavité dans le but de traiter les perforations du plancher pulpaire.

Le potentiel de différenciation spontanée des progéniteurs pulpaire suggère fortement leurs possibles applications en médecine régénérative. Cependant il est important d'ajouter qu'au niveau des tissus dentaires, le nombre de cellules progénitrices diminue avec l'âge de l'individu. La pulpe se rétracte avec les années et présente parfois les signes de dégénérescence – cette source serait donc inutilisable chez une personne adulte à un âge avancé. En effet, des études récentes ont prouvé que les CSMs « âgées » perdent leur potentiel de différenciation odontogénique et de prolifération ⁽²²³⁾.

1.4.2.2 Cellules mésenchymateuses issues de la partie apicale de mésenchyme pulpaire

Il a été décrit récemment la présence de cellules mésenchymateuses immatures dans la partie apicale de la papille primitive d'une dent en développement (« SCAPs » pour « stem cells from apical papilla ») (Figure 13) ⁽³²⁶⁾. Ici encore les troisièmes molaires incluses peuvent en être la source.

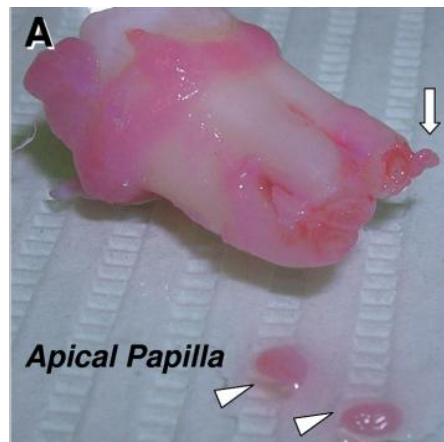


Figure 13 : Localisation de la partie apicale de la papille primitive d'une dent extraite immature ⁽¹⁵³⁾

In vitro, elles peuvent se différencier en odontoblastes et adipocytes, et expriment les marqueurs neuronaux ^{(325), (1)}.

In vivo, transplantées chez la souris immuno-déficiente, elles génèrent un complexe pulpo-dentinaire typique, comme les progéniteurs pulpaire. On pourrait donc s'interroger sur la différence entre SCAPs et DPSCs. Les SCAPs sont les précurseurs de la pulpe radiculaire. Quand la papille primitive coronaire devient pulpe camérale, les SCAPs deviennent DPSCs de la racine. *In vitro* il existe quelques différences entre ces deux populations ⁽¹⁵⁵⁾. Du fait de leur immaturité, les SCAPs sont supposés constituer une meilleure source pour la régénération tissulaire. En effet, elles se différencient en odontoblastes responsables de la formation de la dentine radiculaire, alors que les DPSCs sont à l'origine des odontoblastes producteurs de la dentine réactionnelle ⁽¹⁵³⁾.

1.4.2.3 Progéniteurs mésenchymateux desmodontaux

Le ligament parodontal, qui fait la connexion entre l'os alvéolaire et le ciment, contient également les cellules progénitrices répondant aux critères des CSMs (« **PDLSCs** » pour « periodontal ligament stem cells »), qui possèdent le potentiel de former les structures parodontales, comme le ciment, l'os alvéolaire et le desmodonte^{(312), (222), (159)}. Elles peuvent être récupérées à la surface des racines des dents avulsées.

In vitro, selon les conditions de culture, les PDLSCs peuvent se différencier en ostéoblastes, chondroblastes, cémentoblastes et adipocytes^{(120), (210), (370), (312)}.

Dans une étude *in vivo* de Trubiani et coll.⁽³⁵⁰⁾, les progéniteurs desmodontaux ont été transplantés chez la souris immuno-déficiente et ont permis la formation d'une structure ayant les caractéristiques du ciment et du desmodonte. Ils ont aussi formé de l'os après adjonction d'une matrice tri-dimensionnelle.

Les fibres collagéniques de type I générées *in vivo* par les PDLSCs transplantées, sont capables de créer des connexions avec le tissu cémentaire néo-formé qui miment la façon dont s'attachent physiologiquement les fibres de Sharpey. De plus, l'implication de ces cellules en régénération osseuse alvéolaire a été évoquée⁽³¹²⁾ (Figure 14).

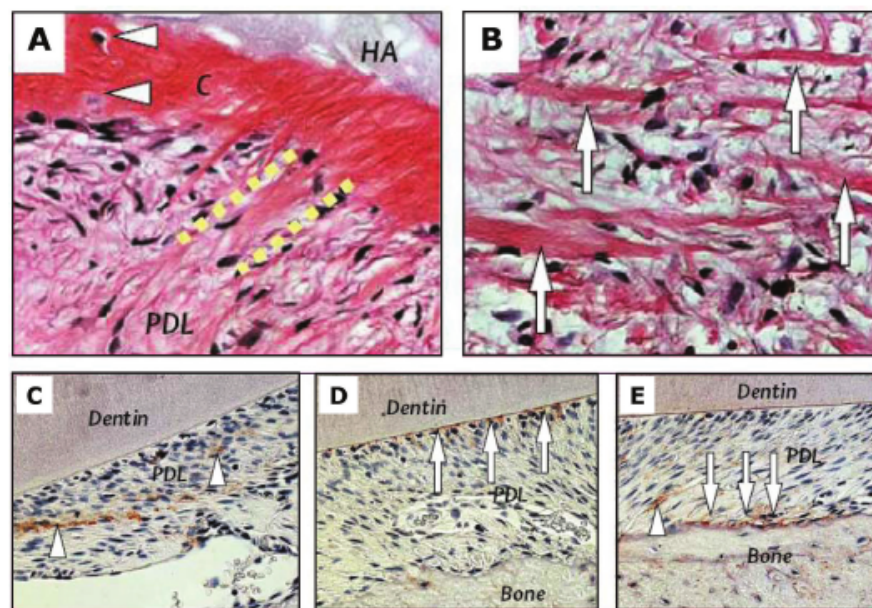


Figure 14 : Formation d'un tissu assimilé au ciment et des fibres collagéniques chez la souris immuno-déficiente par les PDLSCs (A,B) et du parodonte chez le rat immuno-déficient (C,D,E). c=cément avec les fibres de Sharpey en pointillé jaune; (B) les flèches montrent les fibres collagéniques; (C,D,E) localisation des PDLSCs grâce à l'immuno-histochimie (STRO-1) dans le ligament parodontal (PDL) (312).

Liu et coll.⁽²¹³⁾ ont utilisé les progéniteurs desmodontaux autologues pour traiter les lésions parodontales induites chez le cochon miniature. Les PDLSCs transplantées se sont avérées capables de régénérer les tissus parodontaux.

Combinées avec les cellules progénitrices de la papille (SCAPs) provenant des troisièmes molaires incluses et mélangées à un support d'hydroxyapatite/phosphate tricalcique (HA /TCP), les PDLSCs ont été transplantées chez les jeunes cochons miniatures, dans une étude de Sonoyama et coll. ⁽³²⁵⁾. Une ébauche de racine et du parodonte a été formée, capable de supporter une couronne céramique – une « dent hybride » fonctionnelle a été créée (Figure 15).

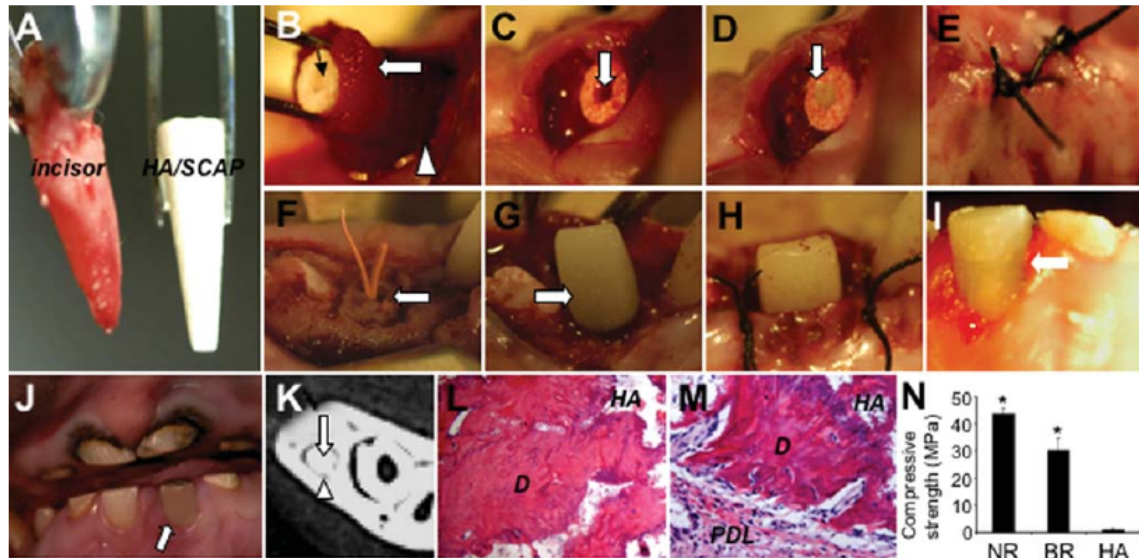


Figure 15 : La « dent hybride » de Sonoyama et coll.⁽³²⁵⁾ :A) Incisive inférieure porcine extraite et le « scaffold » de HA/TCP en forme de racine, chargé en cellules SCAPs. (B) Implantation dans l'alvéole vide de la racine artificielle HA/SCAP recouverte de gel contenant des cellules PDLSCs.(C,D) Forage à l'intérieur de la racine et mise en place d'un matériau pour la fixation future de la couronne en céramique. (E) Suture hermétique et mise en nourrice pendant 3 mois. (F) Réouverture du site. (G,H) Scellement d'une couronne céramique sur la racine artificielle. (I,J) A J+4 semaines, la couronne reste fonctionnelle et en place. (K) A J+3 mois, le scanner montre au niveau de l'implant une formation de tissu dur et un espace autour. (L) Analyse histologique montre une formation dentinaire à l'intérieur de l'implant (D=dentine) et un ligament parodontal (PDL) à l'extérieur de l'implant. (N) Mesure de la résistance à la compression : la nouvelle racine (BR) montre une meilleure réponse aux forces que le « scaffold » au début de l'expérience (HA), mais possède toujours une plus faible résistance que la racine porcine naturelle (NR).

1.4.2.4 Progéniteurs mésenchymateux folliculaires

Il s'agit des cellules d'origine ectomésenchymateuse contenue dans le follicule entourant le bourgeon dentaire en développement (« DFSCs » pour « dental follicle stem cells »).

Les DFSCs peuvent être récupérées à partir des dents incluses (souvent les troisièmes molaires) ⁽³⁷²⁾. Cette source apparaît comme assez réaliste en terme d'accessibilité, car l'avulsion des dents de sagesse pour des raisons orthodontiques est fréquente. Les progéniteurs folliculaires possèdent les caractéristiques primordiales des CSMs avec des propriétés d'immuno-modulation et une capacité de former des colonies qui peuvent être maintenues en culture pendant 15 passages ⁽²³⁹⁾.

In vitro elles peuvent acquérir les caractéristiques des odontoblastes, cémentoblastes, ostéoblastes, chondrocytes, myoblastes et neurones ^{(209), (151)}.

Il a été montré une grande hétérogénéité dans la population des DFSCs ^{(215), (151)}. Les auteurs ont cloné différentes lignées cellulaires afin de les analyser. Chaque population clonée s'est avérée posséder des caractéristiques uniques : une avait une activité proliférative importante, alors qu'une autre se caractérisait par une minéralisation accrue à un stade indifférencié ce qui suggère l'existence de sous populations déjà déterminées dans le follicule.

Les DFSCs humaines expriment à leur surface les récepteurs aux BMPs et le marqueur des cellules multipotentes STRO-1 ⁽¹⁷¹⁾. Ces cellules possèdent les propriétés similaires aux progéniteurs desmodontaux, qui en dérivent.

Selon Handa et coll. ⁽¹³⁸⁾ les DFSCs sont clairement précurseurs de cémentoblastes. Après transplantation, des DFSCs bovines ont généré du ciment et du ligament.

Les cellules progénitrices folliculaires, tout comme les SCAPs, constituent une population issue des tissus en développement, qui pourraient, de part une très grande plasticité, représenter une alternative à l'utilisation des progéniteurs mésenchymateux pulpaire et desmodontaux.

1.4.2.5 Progéniteurs mésenchymateux issus des dents lactéales exfoliées

Les dents lactéales exfoliées sont une source relativement accessible de CSMs adultes ⁽²²⁹⁾ (« **SHEDs** » pour « stem cells from human extracted deciduous teeth »). Ces cellules peuvent être récupérées à partir du tissu pulpaire caméral des dents lactéales. Elles prolifèrent beaucoup plus vite que les progéniteurs pulpaire et possèdent la plus grande capacité de doublement de population (supérieure à 140) parmi les CSMs recensées ⁽¹⁵⁵⁾.

In vitro, dans différentes conditions, elles peuvent se différencier en ostéoblastes, odontoblastes, adipocytes, chondroblastes, myoblastes ou neurocytes ^{(229), (172)}.

In vivo, ces progéniteurs multipotents forment les odontoblastes, directement associés avec un tissu possédant une structure dentinaire, mais contrairement aux progéniteurs pulpaire, elles sont incapables de régénérer complètement les complexes pulpo-dentaires ⁽²²⁹⁾. Sakai et coll. ⁽²⁹⁹⁾ ont également démontré la différenciation des SHEDs en cellules endothéliales fonctionnelles.

Une des caractéristiques frappantes des SHEDs est leur très fort potentiel d'ostéo-induction *in vivo*, dans les expériences chez la souris. En effet, ces cellules peuvent réparer les lésions osseuses de la calvaria, avec une néo-formation osseuse considérable ^{(313) (313)} (Figure 16).

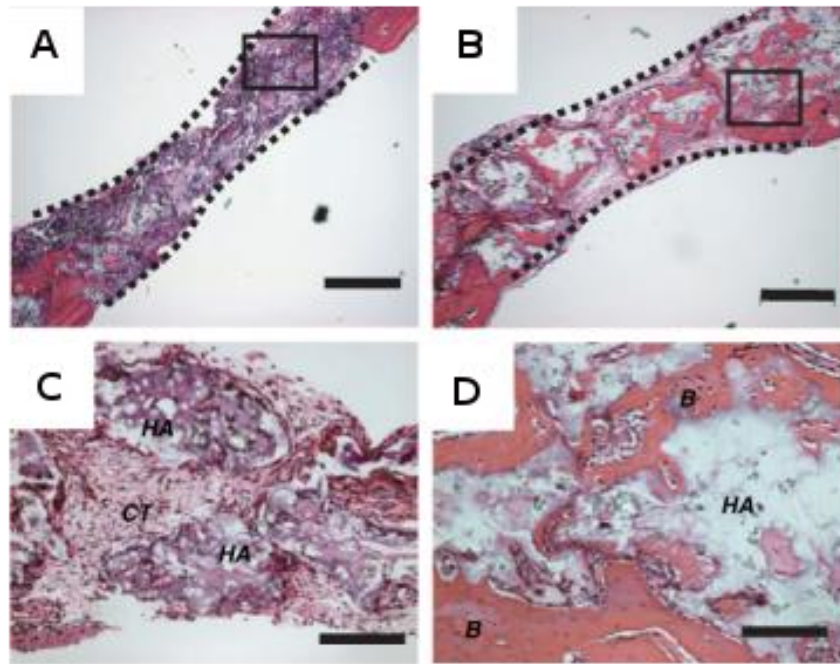


Figure 16 : Analyse histologique de la transplantation des SHEDs sur un support d'hydroxyapatite/phosphate tricalcique (HA) au niveau des lésions osseuses de la calvaria chez la souris immuno-déficiente (313) : (AC) Coupes contrôles négatives avec uniquement du tissu conjonctif (CT). (BD) Coupes avec le transplant des SHEDs montrant une néo-formation osseuse (B).

Govindasamy et coll. ⁽¹²⁶⁾ ont induit les SHEDs à exprimer la nestine – un marqueur du tissu nerveux, ce qui laisse penser qu'elles pourraient être utilisées dans le cadre de traitement des maladies neuro-dégénératives (comme la maladie de Parkinson).

1.4.2.6 Progéniteurs d'origine alvéolaire et périostée

Le périoste présente de remarquables capacités de régénération. Les propriétés des progéniteurs périostés ont été comparées avec celles des progéniteurs de la moelle osseuse dans une étude de Cicconetti et coll. ⁽⁵⁷⁾ qui ont travaillé sur des échantillons de tubérosité maxillaire et du périoste mandibulaire humain. Les deux échantillons contenaient des cellules à fort potentiel ostéogénique *in vitro* et présentaient des profils phénotypiques similaires. Après une transplantation *in vivo*, elles ont été capables de former de l'os.

Mizuno et coll. ⁽²³³⁾ ont utilisé le périoste autologue prélevé à la mandibule chez le chien. Il a été mis en culture afin d'obtenir des « membranes » qui ont été ensuite implantées dans des lésions parodontales créées artificiellement. Après 3 mois et une analyse radiologique et histologique, de l'os néoformé a été mis en évidence. Ces études montrent que les progéniteurs périostés pourraient constituer une source intéressante de CSMs orales, en particulier en régénération osseuse.

A la recherche d'une méthode de prélèvement des CSMs la moins invasive possible, les chercheurs ont imaginé l'utilisation de l'os alvéolaire en récupérant ce tissu lors d'un forage implantaire ⁽⁹⁷⁾. Park et coll. ⁽²⁶³⁾ y voient un grand avantage par rapport aux autres techniques plus invasives (Figure 17).

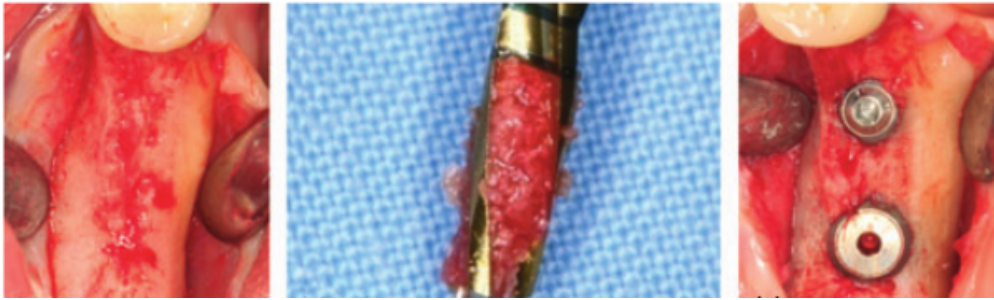


Figure 17 : Photographies cliniques de la technique de récupération d'os alvéolaire lors d'une ostéotomie implantaire avec un foret récupérateur d'os (263).

1.4.2.7 Progéniteurs mésenchymateux d'origine gingivale

Une population de CSMs a été identifiée au niveau de la *lamina propria* de la gencive attachée ⁽³⁸⁶⁾ (« **OMSCs** » pour « oral mucosa-derived stem cells »). Ces cellules prolifèrent plus vite que les progéniteurs de la moelle osseuse tout en possédant des capacités de différenciation similaires ⁽³⁴⁶⁾.

Marynka-Kalmani et coll. ⁽²²¹⁾ ont démontré le potentiel de différenciation très ubiquitaire des cellules progénitrices gingivales humaines. Leur injection systémique est suivie d'une migration de ces cellules vers la lésion (le « homing ») où elles contribuent à sa réparation ⁽³⁸⁷⁾.

La multipotence, la facilité d'isolation, l'expansion rapide ainsi que l'abondance constituent un grand avantage des CSMs gingivales par rapport aux autres sources de CSMs orales, néanmoins les études actuellement disponibles n'ont pas fait état de leur utilisation en thérapie cellulaire.

1.4.2.8 Résumé des caractéristiques communes des CSMs orales

Globalement les CSMs d'origine orale peuvent se différencier *in vitro* en : ostéoblastes, chondrocytes, adipocytes, myoblastes et neurones. Les progéniteurs pulpaire, papillaires et issus des dents lactéales peuvent en plus synthétiser une matrice dentinaire, alors que les progéniteurs desmodontaux et folliculaires sont susceptibles quand à eux, de se différencier préférentiellement en cémentoblastes.

Le tableau suivant synthétise les propriétés des cellules stromales mésenchymateuses d'origine orale (Tableau 2).

CSMs ORALES	FORMATION TISSULAIRE <i>IN VIVO</i>
Pulpaire (DPSCs)	- complexe pulpo-dentinaire ; - tissu osseux ; - tissu adipeux
Papillaires (SCAPs)	- complexe pulpo-dentinaire ;
Desmodontales (PDLSCs)	- tissu assimilé au desmodonte et au ciment ; - tissu osseux
Folliculaires (DFSCs)	- tissu assimilé au desmodonte et au ciment ; - tissu osseux
Dents lactéales (SHEDs)	- odontoblastes associés à une structure dentinaire ; - tissu osseux
Alvéolaires et périostées (BMMSCs)	- tissu osseux - tissu cartilagineux - tissu musculaire
Gingivales (OMSCs)	- tissu osseux - tissu cartilagineux - tissu adipeux

Tableau 2 : Caractéristiques *in vivo* des CSMs orales (94).

1.4.3 Comparaison des CSMs d'origines orales et extra-orales

Différentes sources de cellules progénitrices mésenchymateuses, orales ou extra-orales, seraient théoriquement disponibles pour la thérapie cellulaire. Chacune possède des avantages et des inconvénients. Les CSMs d'origine orale sembleraient être les plus adaptées à une régénération des tissus dentaires et parodontaux grâce à leur origine ecto-mésenchymateuse ⁽⁹⁴⁾. Pourtant il a été montré que des tissus dentaires pourraient être régénérés également à partir de progéniteurs multipotents adultes non-dentaires ^{(234), (379)} (Tableau 3), même s'il semble qu'ils aient moins d'affinité naturelle pour les tissus de la cavité orale que les CSMs céphaliques, probablement à cause de leur origine embryogénétique très éloignée. Pourtant, un prélèvement extra-oral de cellules pourraient pallier le faible contingent disponible au niveau des tissus dentaires chez l'adulte, et ainsi éviter une expansion en culture prolongée.

LES SOURCES DES CSMs PROPOSEES POUR L'UTILISATION EN ODONTOLOGIE

SOURCES ORALES	SOURCES EXTRA-ORALES
pulpe et mésenchyme pulpaire	moelle osseuse
parodonte et follicule	tissu adipeux
dents lactéales	cordon ombilical
os et périoste alvéolaire	
gencive	

Tableau 3 : Sources orales et extra-orales des CSMs proposées pour l'utilisation en odontologie (94).

Les cellules progénitrices mésenchymateuses de la moelle osseuse issues de la crête iliaque ont déjà fait l'objet d'essais préliminaires thérapeutiques lors des élévations de sinus ^{(314), (304)} et en régénération des lésions parodontales.

Les BMMSCs provenant de la crête iliaque (origine enchondrale) se caractérisent par un potentiel ostéogénique qui diminue avec l'âge, contrairement aux BMMSCs issues de l'os alvéolaire (origine membranaire) ⁽⁹⁴⁾. Ces données suggèrent que l'origine embryonnaire est susceptible de conditionner le potentiel des CSMs. De ce fait, il semble judicieux, afin de régénérer des structures orales, de prélever des CSMs dans la moelle osseuse mandibulaire, même si elles sont moins nombreuses que dans la crête iliaque ⁽¹⁶⁶⁾. Toutefois en pratique, ces procédures invasives restent délicates à envisager du fait des co-morbidités liées au prélèvement.

Les CSMs issues du tissu adipeux (les AMSCs) ont été étudiées, surtout dans le domaine de la régénération osseuse ⁽²¹⁸⁾, mais aussi en régénération parodontale ⁽³⁴³⁾ et pulpaire ⁽¹⁶¹⁾. Cette source de CSMs est intéressante non seulement pour la facilité de prélèvement (qui se fait sous anesthésie locale) et la quantité des cellules récupérées, mais aussi car elle constitue une réserve des CSMs lorsque la moelle osseuse est appauvrie (cas d'ostéonécrose, d'irradiation ou chez la personne âgée).

Les CSMs issues du sang du cordon sont susceptibles d'être utilisées théoriquement en régénération des structures orales ; néanmoins, comme elles nécessitent d'être cryoconservées afin d'être utilisées peu d'auteurs envisagent leur utilisation dans ce contexte.

D'autres sources, plus anecdotiques ont été étudiées :

- les odontomes ⁽³²⁴⁾ ;
- le follicule pileux chez la souris ⁽³⁶⁸⁾.

Depuis la découverte des iPSc, certains imaginent déjà leur utilisation pour régénérer une dent ⁽⁹²⁾. La gencive, très souvent réséquée lors d'une chirurgie, constitue une source potentielle intéressante des iPSc ⁽⁹³⁾ (Figure 18).

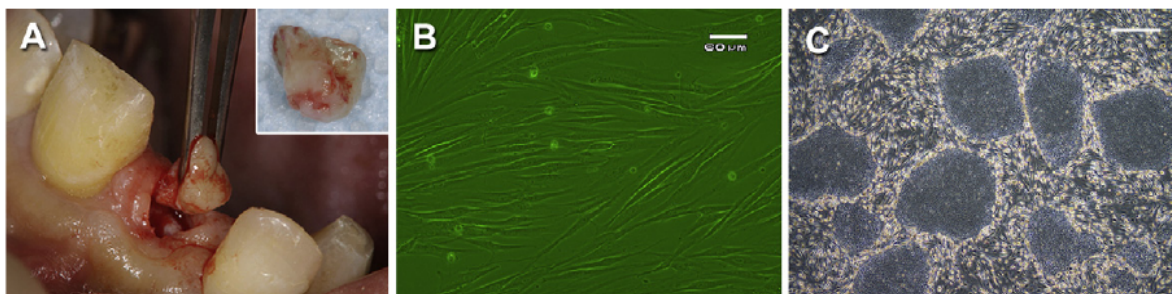


Figure 18: Genèse des iPSc à partir du tissu gingival. (A) Résection gingivale pré-implantaire. (B) Isolation des fibroblastes gingivaux adhérents au plastique. (C) iPSc formées à partir des fibroblastes manipulés génétiquement ⁽⁹³⁾.

2. LA THERAPIE CELLULAIRE – UTILISATION DES CSMs EN MEDECINE REGENERATIVE

2.1 Rappels sur la physiopathologie de la cicatrisation/régénération (exemples des parodontopathies et pulpopathies)

La régénération est un processus physiologique remarquable dans lequel un tissu endommagé résiduel se reconstitue. Certains invertébrés peuvent régénérer rapidement et efficacement leurs tissus, alors que la majorité des vertébrés sont incapables de régénérer un organe en entier, même s'ils ont toutes les informations nécessaires pour générer un tissu, acquises lors du développement embryonnaire ⁽³³⁷⁾. L'exemple le plus frappant de la régénération d'un organe chez les mammifères reste celle des bois d'un élan, et chez les humains, la régénération du foie après une hépatectomie partielle ⁽²²⁷⁾.

Le régénération des conjonctifs est indissociable et dépendante de la réaction inflammatoire qui la précède.

La **réaction inflammatoire** constitue une réponse normale de l'organisme face à une agression. Elle tend à éradiquer l'agresseur et rétablir l'homéostasie. Elle passe toujours par les étapes suivantes ⁽⁵⁸⁾:

- phase vasculo-sanguine avec une congestion, œdème, formation du clou plaquettaire et surtout avec un passage (essentiellement) des polynucléaires neutrophiles vers la zone lésée ;
- phase cellulaire avec une prolifération macrophagique et néovascularisation sur le site – cet ensemble correspondant au granulome inflammatoire ;
- phase de détersion (évacuation du foyer inflammatoire) par la phagocytose, cytolysse et résorption de l'œdème par la voie lymphatique ;
- phase de réparation : la coaptation épithéliale, la formation d'un bourgeon charnu (réparation conjonctive) puis maturation qui représente lorsqu'elle se déroule normalement, la phase de reconstruction de tissus fonctionnels.

Les dernières phases sont accompagnées d'un recrutement des progéniteurs ⁽³⁶⁹⁾.

La **cicatrisation** est l'étape qui clôture la réaction inflammatoire (elle en fait partie) et correspond à une réparation des tissus endommagés (réparation conjonctive et épithéliale dans le cas d'une plaie muqueuse ou cutanée). Cette **réparation** est souvent incomplète et laisse une cicatrice fibreuse – la fonction est restaurée, mais pas l'architecture initiale du tissu.

On parle d'une **régénération** lorsque l'architecture normale et fonctionnelle des tissus est rétablie *ad integrum* – un processus beaucoup plus complexe et difficile d'obtenir en thérapeutique ⁽²⁰⁸⁾. Certains estiment que la régénération complète des lésions dans les tissus post-nataux est impossible sans cicatrice ⁽³⁶⁾.

Les tissus dentaires à l'exception de l'émail, possèdent des capacités de régénération qui dépendent strictement de la compétence de leurs CSMs endogènes (prolifération, migration, différenciation et synthèse de la matrice extra-cellulaire) ⁽³⁵⁾.

Dans l'exemple d'une lésion parodontale traitée selon les thérapeutiques proposées actuellement, la réparation correspond à la formation d'une ré-attache (avec risques d'ankylose, fibrose...), alors que la régénération s'accompagne de l'obtention d'une nouvelle attache (avec récupération de tous les composants du parodonte profond). La formation initiale du caillot sanguin provoque une cascade d'événements qui ont, dès les premières minutes après l'agression, pour but le recrutement des cellules de l'immunité, mais aussi des progéniteurs mésenchymateux. L'anatomie de la lésion parodontale joue un rôle dans le maintien du caillot ⁽²⁷⁸⁾. Le schéma ci-dessous (Figure 19) illustre la dynamique des événements impliqués dans la cicatrisation des lésions infra-osseuses parodontales.

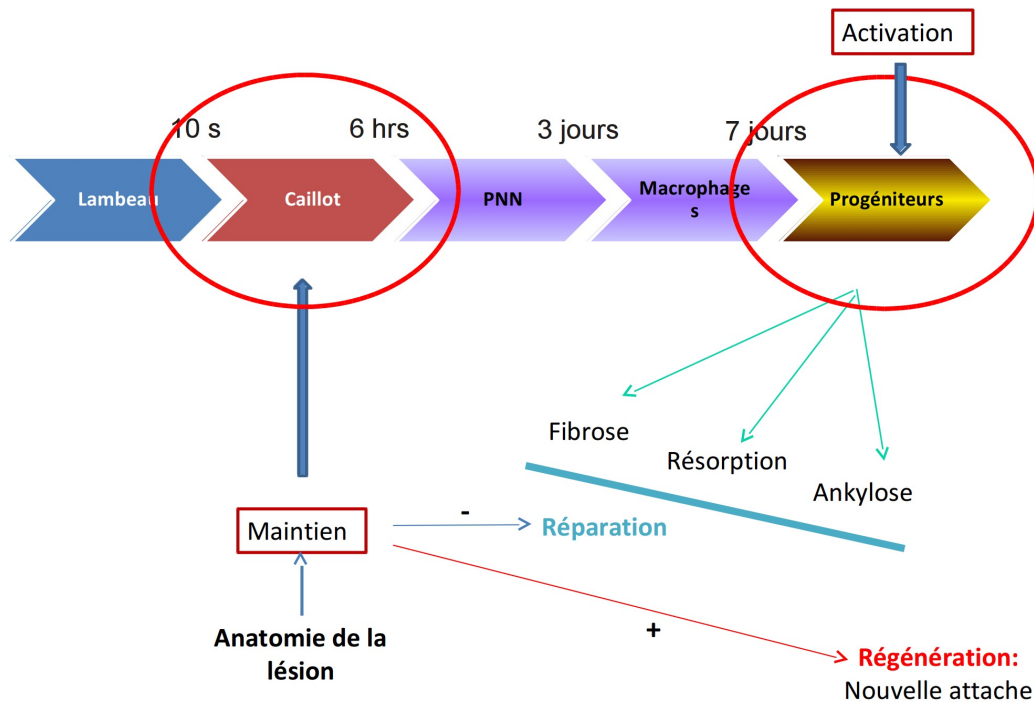


Figure 19 : Dynamique de la cicatrisation dans l'exemple d'une lésion infra-osseuse parodontale (362).

Dans le cas d'une pulpopathie, le conjonctif pulpaire a peu de potentiel de régénération du fait de sa situation anatomique vis à vis des apports vasculaires ⁽¹¹⁾. De plus, les cellules contenues dans la pulpe possèdent une durée de vie très limitée ainsi qu'une capacité de se diviser restreinte (« limite de Hayflick ») ⁽¹⁴⁰⁾.

Lorsque les phénomènes vasculaires inhérents à la réaction inflammatoire (dilatation des vaisseaux pulpaire, margination des polynucléaires neutrophiles, stimulation des terminaison nerveuses par un passage des fluides dans les tubuli...) se limitent uniquement à la région en relation avec l'agression, la pathologie pulpaire peut être réversible après un traitement étiologique. Dans ce cas on observe souvent la formation de dentine réactionnelle - le reflet d'une réponse réparatrice de pré-odontoblastes, à partir des CSMs pulpaire ⁽³²²⁾. Par contre si les polynucléaires neutrophiles effectuent un passage massif à travers les vaisseaux pulpaire et détruisent le conjonctif, la pathologie est irréversible et nos thérapeutiques actuelles consistent à extirper la pulpe et effectuer un traitement endocanalair.

Les exemples de la cicatrisation pulpaire ou parodontale nous éclairent sur les limites des thérapeutiques actuelles. Compte tenu du rôle crucial des CSMs dans ces processus, il semble rationnel d'imaginer de nouvelles thérapeutiques qui exploiteraient leurs potentialités.

2.2 Principes de la thérapie cellulaire

La thérapie cellulaire désigne la greffe de cellules visant à restaurer les fonctions d'un tissu ou d'un organe lorsqu'ils sont altérés par un accident, une pathologie ou le vieillissement.

Les greffes cellulaires ont déjà une histoire ancienne. Pratiquées couramment depuis plusieurs dizaines d'années, les greffes de cellules hématopoïétiques sont ainsi destinées au traitement des maladies du sang comme par exemple les leucémies et les anémies – les cellules progénitrices adultes de la moelle osseuse donnent ainsi naissance à tous les types de cellules sanguines. Avant un prélèvement de sang périphérique, on administre au donneur des facteurs de croissance qui induisent la prolifération des cellules souches et leur passage de la moelle osseuse dans la circulation générale. Le sang du donneur est alors « enrichi » en cellules progénitrices⁽⁴¹¹⁾.

Grâce à leurs nombreuses propriétés il est maintenant possible d'élaborer différentes stratégies d'utilisation des CSMs en médecine régénérative des conjonctifs :

- réparation/régénération tissulaire : par remplacement cellulaire direct;
- recrutement des cellules progénitrices endogènes locales ;
- stimulation de l'angiogenèse ;
- immuno-modulation, et en particulier, effet anti-inflammatoire local ;
- « homing ».

Les greffes cellulaires peuvent être de 3 types :

NOM	DEFINITION	AVANTAGES	INCONVÉNIENTS
AUTOGREFFES (greffes autologues)	Cellules proviennent de l'individu lui-même	- pas de problème d'immunotolérance	- 2 sites opératoires - compétence des cellules en fonction des caractéristiques du sujet
ALLOGREFFES	Cellules proviennent d'un autre individu de la même espèce.	- prélèvement sur les cadavres ou donneurs vivants - 1 site opératoire chez le receveur	- risque potentiel de transmission des pathologies entre le donneur et le receveur - compatibilité
XENOGREFFES	Cellules proviennent d'un individu d'une espèce différente.	- disponibilité et quantité - coût	- risque théorique de transmission des maladies de l'animal à l'homme (minime voire inexistant de nos jours grâce aux procédés de purification) - compatibilité

Tableau 4 : Types de greffes cellulaires

La mise en œuvre d'une thérapie cellulaire doit s'assurer de la qualité, la sécurité et l'efficacité des procédés et des produits administrés aux patients. Les autorités de santé sont particulièrement vigilantes, et leur impératifs obligent le chercheur et le clinicien à peser le pour et le contre avant de proposer une telle procédure thérapeutique en utilisation routinière.

2.3 Thérapie cellulaire et ingénierie tissulaire

La thérapie utilisant les cellules progénitrices consiste généralement en une injection de ces cellules dans les organes atteints. Toutefois, il est devenu rapidement évident que les progéniteurs ne joueraient pleinement leur rôle que si on leur associait un micro-environnement adéquat ⁽¹⁹⁴⁾. Une autre approche thérapeutique a donc été proposée et consiste en une incorporation des cellules progénitrices dans les biomatériaux de support associés ou non à des facteurs moléculaires, afin de guider leur expansion et différenciation et permettre la formation artificielle d'un tissu ou un organe : c'est l'ingénierie tissulaire ^{(26), (393)}.

L'ingénierie tissulaire représente un champ multidisciplinaire qui combine la biologie, l'ingénierie et la clinique, dans le but de générer de nouveaux tissus et organes. Le terme d'« ingénierie tissulaire » fut proposé pour la première fois en 1993 par Langer et Vacanti ⁽¹⁹⁴⁾. Ce concept est entré dans l'arsenal thérapeutique de nos jours dans le cadre de la médecine régénérative.

Nous pouvons schématiser l'ingénierie tissulaire comme une combinaison de cellules, biomatériaux et facteurs biologiques (Figure 20).

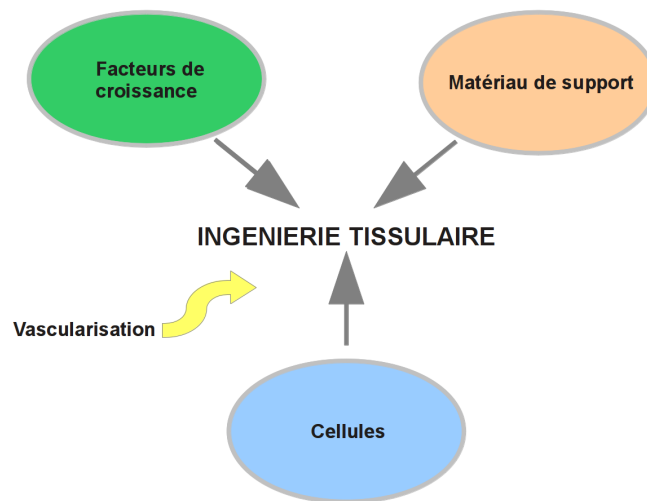


Figure 20 : Schéma simplifié de l'ingénierie tissulaire

Il y a des grandes similitudes dans les processus de régénération avec la embryogenèse d'un tissu. Mimer les mécanismes du développement dans des conditions « artificielles » serait la meilleure approche pour une ingénierie tissulaire de qualité ⁽¹³⁶⁾.

Il existe différentes approches de l'ingénierie tissulaire utilisables individuellement ou en combinaison :

- **approche conductive** : un biomatériau est utilisé de façon passive afin de faciliter la régénération d'un tissu existant (par exemple la membrane utilisée en régénération tissulaire guidée) ;
- **approche inductive** : recrutement et activation des cellules compétentes à proximité d'un déficit tissulaire par l'utilisation de signaux biologiques spécifiques (facteurs de croissance et autres molécules bioactives) ;
- **transplantation cellulaire** : implantation des cellules compétentes préalablement prélevées et mises en culture, puisensemencées sur un support.

Actuellement nous savons que c'est la combinaison de ces outils de l'ingénierie tissulaire qui permettra l'obtention d'une régénération tissulaire optimale (Figure 21).

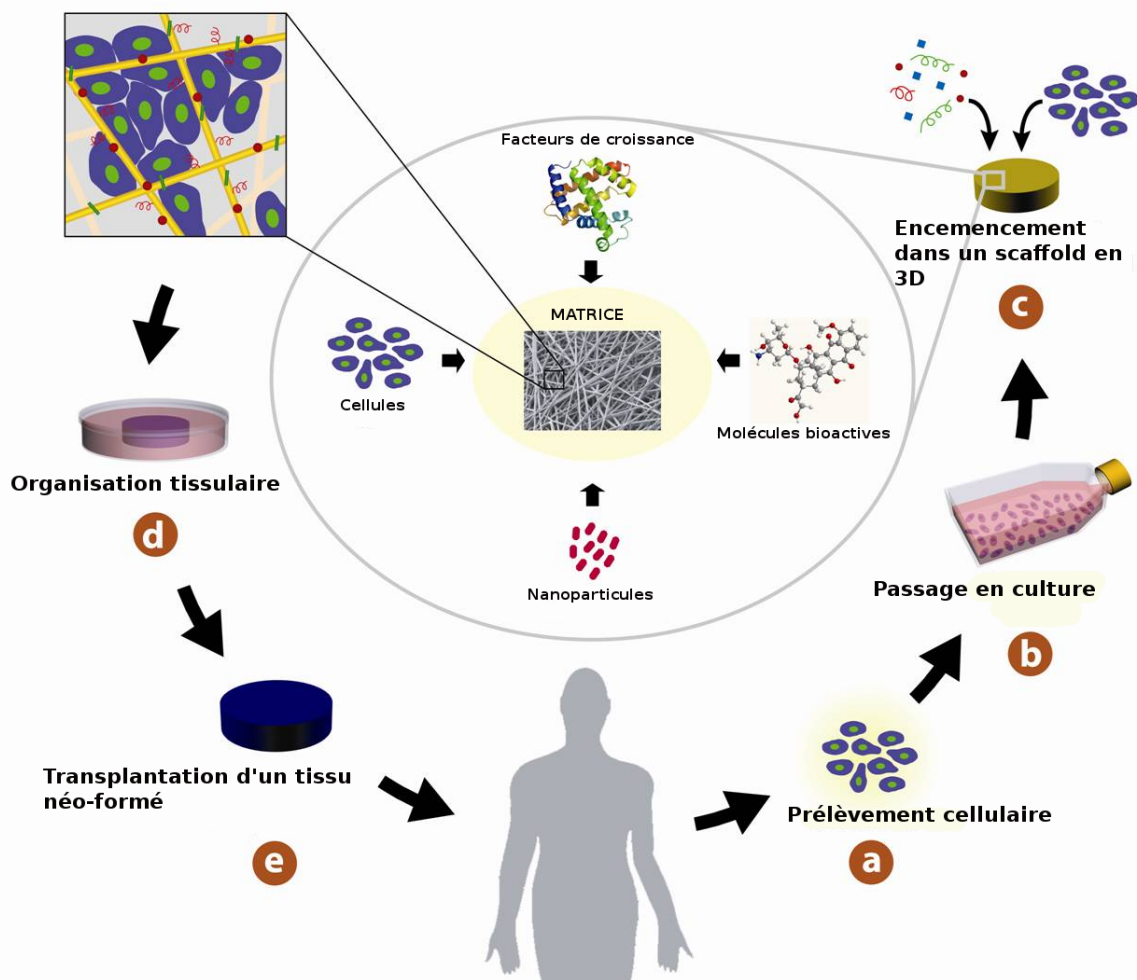


Figure 21 : Stratégie actuelle dans l'ingénierie tissulaire (91)

Il est bien établi que les tissus sont composés de multiples types cellulaires, organisés très précisément au sein d'un réseau fonctionnel, avec les composants de la matrice extra-cellulaire ^{(179), (297)}. Cette organisation cellulaire est régulée par les facteurs génétiques et épi-génétiques ⁽²⁵⁰⁾. Les interactions inter-cellulaires, les cycles cellulaires, les apoptoses, la synthèse et la sécrétion des composants de la matrice extra-cellulaire, les

signaux moléculaires et les facteurs de croissance font partie d'un micro-environnement en constante évolution ⁽¹⁸⁰⁾. Il faut tenir compte de tous ces éléments lors de l'élaboration d'une stratégie d'ingénierie tissulaire.

Cellules

Les cellules stromales mésenchymateuses sont les candidates parfaites pour l'ingénierie tissulaire grâce aux différentes propriétés biologiques décrites précédemment .

Les cellules sont récupérées par :

- aspiration (moelle osseuse),
- récupération des fluides (sang, liquide articulaire),
- prélèvement tissulaire (tissu adipeux, dentaire etc).

Les prélèvements sont ensuite digérés mécaniquement ou enzymatiquement pour dissocier la matrice extra-cellulaire, puis les cellules sontensemencées dans les boîtes de culture ou injectées directement.

Dans le but de mettre au point des protocoles utilisables en clinique, une source de CSMs doit présenter plusieurs caractéristiques pour être validée ⁽¹⁵⁵⁾ :

- possibilité d'utilisation en auto ou allogreffe,
- cryoconservation,
- activité angiogénique,
- relation connue CSMs/agents infectieux,
- système de délivrance approuvé,
- utilisation en respectant la législation.

Facteurs de croissance

Les facteurs de croissance et les signaux moléculaires stimulent la prolifération et différenciation cellulaires ⁽¹⁸²⁾. Dans les conditions physiologiques ils jouent un rôle central dans le recrutement des cellules indifférenciées ainsi que dans la stimulation de la synthèse des protéines matricielles. De ce fait, les scientifiques ont imaginé leur implication dans l'ingénierie tissulaire.

Parmi les grandes familles des facteurs de croissance on distingue:

- les Transforming Growth Factors Beta (TGF- β) ^{(90), (141)} ;
- les Bone Morphogenic Proteins (BMP) ^{(378), (377), (129), (158)} ;
- les Fibroblast Growth Factors (FGF) ^{(21), (141)} ;
- les Insulin-like Growth Factors (IGF) ⁽³⁶³⁾ ;
- les Platelet Derived Growth Factors (PDGF) ⁽⁷¹⁾.

Ce sont des protéines, des peptides ou des stéroïdes, qui sont pour la plupart impliquées dans le développement et la cicatrisation des conjonctifs, y compris au niveau oral et dentaire ^{(309), (26), (292), (332), (17)}.

Dans le choix du facteur de croissance le plus approprié pour une utilisation donnée, il est important d'étudier au préalable la dose nécessaire, le mode d'application et le système de libération. En effet, les facteurs de croissance étant rapidement éliminés par l'organisme, ils nécessitent la mise en œuvre d'un système de délivrance qui permettrait de potentialiser leur activité biologique de façon locale, contrôlée et durable au niveau du site⁽²⁸⁷⁾. De plus, il est important de tenir compte des aspects réglementaires, qui limitent l'emploi de facteurs de croissance chez l'homme. Les protocoles se doivent de justifier pleinement leur utilisation.

Biomatériaux de support

Le processus de régénération, tout comme celui d'un développement physiologique est influencé par la matrice extra-cellulaire⁽⁶⁹⁾. Un biomatériau de soutien (appelé aussi « échafaudage » ou « scaffold »), doit servir de guide aux cellules. Différents matériaux ont été proposés – d'origine naturelle ou synthétique. Ils constituent une sorte de matrice extra-cellulaire artificielle (un réseau tri-dimensionnel) et facilitent la transplantation et la différenciation cellulaire, en servant de réservoir de nutriments et de facteurs de croissance⁽¹³⁴⁾. On peut citer :

- les éponges collagéniques⁽¹²¹⁾ ;
- le HA/TCP (l'hydroxyapatite et le phosphate tricalcique)^{(129), (325)} ;
- le phosphate de calcium^{(336), (121)} ;
- l'alginate⁽¹⁸⁷⁾ ;
- les polymères synthétiques^{(86), (121)} ...

Les propriétés à considérer dans le choix d'un matériau sont^{(88), (293)} :

- la biocompatibilité : non carcinogène, non immunogène ;
- la porosité : une structure interne compatible avec l'attachement, colonisation et conductivité des cellules ;
- la capacité de transport des molécules sans les dénaturer ;
- la structure permettant la néo-vascularisation ;
- la prévisibilité et la reproductibilité du taux de dégradation : la vitesse de résorption et l'influence des substances libérées sur le milieu .

Il est très difficile de réunir toutes ces caractéristiques en un unique matériau universel. En plus, beaucoup de ces supports sont très instables *in vivo*.

Les biomatériaux d'origine « naturelle » tels que les collagènes, l'élastine, la fibrine et l'alginate offrent une structure solide et résistante, sont compatibles avec les cellules et les tissus, sont biodégradables, mais peuvent présenter un risque de transmission des pathogènes animaux ou d'une réponse immunitaire de l'hôte. Les polymères synthétiques assurent d'excellentes propriétés chimiques et mécaniques, et permettent un contrôle en ce qui concerne le poids moléculaire, la configuration des chaînes ou la présence d'un groupe moléculaire fonctionnel, mais ils entraînent une réaction inflammatoire importante due à leur résorption. Récemment les hydrogels ont été étudiés plus en détails et semblent présenter des propriétés très intéressantes, telles qu'une grande biocompatibilité, hydrophilie et des caractéristiques mécaniques similaires aux tissus conjonctifs⁽¹¹⁸⁾.

Le rôle des matériaux de support ne se limite pas uniquement au transport des cellules dans le site à régénérer. Ils sont également utiles dans la création de liens entre les cellules, le maintien de l'espace, la détermination des caractéristiques morphologiques et le recrutement de l'oxygène et des nutriments ^{(244), (245)}. Certains peuvent même avoir un rôle actif en modifiant le micro-environnement ou les caractéristiques cellulaires ⁽²⁸⁷⁾. Les molécules bioactives peuvent être incorporées dans les « scaffolds » durant ⁽³⁶¹⁾ ou après ⁽¹¹³⁾ leur fabrication.

2.4 Utilisation des CSMs en médecine régénérative : applications non odontologiques

L'utilisation de différents modèles animaux expérimentaux a permis d'étudier les niches de cellules progénitrices dans l'organisme grâce auxquelles les scientifiques tentent de proposer de nouvelles thérapeutiques pour traiter les maladies du myocarde, du système nerveux central et périphérique, du foie, des poumons et des reins. Ils envisagent l'application de la thérapie cellulaire aux pathologies les plus répandues dans nos sociétés: greffes des cellules pancréatiques pour délivrer de l'insuline à des patients diabétiques, greffes neuronales visant à traiter les maladies neurodégénératives, greffes de la peau pour les grands brûlés etc... Il y a aussi de l'espoir pour des patients souffrants des maladies « orphelines » comme la progeria ^{(211), (252)}. Selon le site www.clinicaltrials.gov, environ 40 maladies sont concernées par les essais cliniques impliquant les CSMs.

Les applications cliniques au potentiel immense demandent en amont une recherche fondamentale soutenue pour comprendre en détail les mécanismes d'auto-renouvellement, de différenciation et de prolifération des cellules progénitrices mésenchymateuses et surtout mettre en évidence d'éventuels effets indésirables.

Il faut reconnaître que plusieurs problèmes émergent des études et essais qui ont été réalisés :

- l'association indéterminée entre les caractéristiques phénotypiques des CSMs et leurs fonctions biologiques,
- le manque d'une base de données clinique prouvant la sécurité de la thérapie à long terme,
- le besoin de clarification de multiples mécanismes liés à la transplantation *in vivo* et sur la possibilité de comparabilité entre la transplantation et les autres techniques ne faisant pas appel aux CSMs ⁽³¹⁸⁾.

Actuellement, les thérapies basées sur l'utilisation des cellules mésenchymateuses de l'adulte ne font pas encore partie de la routine et sont encore au stade d'essais cliniques et sont proposées aux patients dans des situations bien particulières, notamment en cas d'échec des thérapeutiques conventionnelles là où le pronostic vital est engagé.

2.4.1 Cardiologie

L'organisation Mondiale de la Santé (OMS) chiffre à environ 1/3 des décès dans le monde ceux causés par les maladies cardio-vasculaires dans leur globalité ^{(403), (402)}. Deuxième cause de mortalité chez l'homme (juste après le cancer) et première cause chez la femme, les maladies cardio-vasculaires touchent également tous les âges, du fait de l'augmentation des risques que sont le tabagisme, l'obésité, la sédentarité et le stress. Elles représentent un enjeu en santé publique.

Des dispositifs médicaux ont été mis au point pour traiter ces maladies: stimulateurs cardiaques, prothèses valvaires et « patches » pour obturer les perforations cardiaques. Les opérations pratiquées pour les traiter comprennent le pontage coronarien, l'angioplastie par ballonnet, la réparation et le remplacement des valves cardiaques, la transplantation cardiaque et les opérations faisant appel à un cœur artificiel ⁽⁴⁰²⁾.

L'utilisation de CSMs en cardiologie suscite de nombreux espoirs ^{(190), (310), (139)}.

Dans le cadre des cardiomyopathies ischémiques, elles ont été montrées comme capables de ^{(282), (258), (50)}:

- diminuer les cicatrices du myocarde et l'étendu des dégâts ischémiques causés par l'infarctus ;
- restaurer la fonction mécano-énergétique du myocarde ;
- améliorer la fonction ventriculaire ;
- améliorer le débit myocardique .

Leur contribution thérapeutique pourrait s'effectuer par de multiples façons :

- différenciation directe en cellules cardiaques incluant les cardiomyocytes, les cellules musculaire lisses et les cellules endothéliales ^{(124), (19)} ;
- sécrétion d'une variété des facteurs de croissance et cytokines ayant un effet trophique ^{(41), (177)} ;
- atténuation de la réaction inflammatoire dans le tissu myocardique endommagé par la fonction immuno-suppressive locale ^{(85), (135)} ;
- stimulation des la réparation endogène ^{(243), (266)} .

Le schéma si-dessous (Figure 22) illustre les étapes de transplantation des CSMs médullaires dans le muscle cardiaque après un épisode ischémique (infarctus du myocarde).

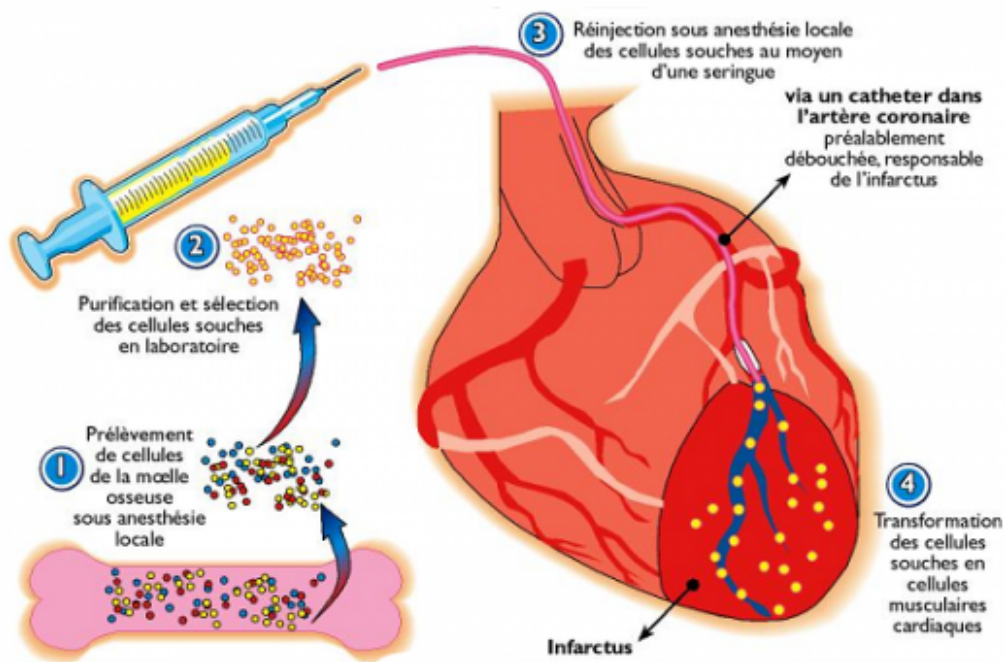


Figure 22 : Schéma de la transplantation des CSMs médullaires dans le muscle cardiaque (401)

Néanmoins plusieurs questions nécessitent des clarifications approfondies, comme la taux de différenciation de CSMs en cardiomyocytes *in vivo*, le mécanisme responsable de la migration des cellules, le moment optimal de la transplantation, les éventuelles modifications génétiques et le pré-conditionnement cellulaire *in vitro*, ainsi que la sécurité de la transplantation à long terme.

2.4.2 Neurologie

Les CSMs sont considérées comme une stratégie thérapeutique prometteuse dans des lésions de la moelle épinière ⁽¹⁴⁷⁾, ainsi que dans les maladies dégénératives du système nerveux central, telles que les accidents vasculaires cérébraux, la maladie de Parkinson ⁽²⁶²⁾, l'encéphalomyélite auto-immune ⁽³⁸⁵⁾, la sclérose latérale amyotrophique ⁽⁵³⁾ et l'atrophie multisystematisée ⁽²⁰⁰⁾, pour lesquelles la médecine d'aujourd'hui n'a pas de véritable traitement menant à la guérison.

L'effet neuroprotecteur des CSMs s'exercerait par :

- la production des facteurs trophiques comme le BDNF (pour « brain-derived neurotrophic factor ») ⁽³⁶⁴⁾, le NGF (pour « nerve growth factor ») ⁽⁵¹⁾ et l'IGF-1 (pour « insulin-like growth factor-1 ») ⁽³⁵⁶⁾ qui stimulent la régénération endogène ;
- la migration dans des tissus cérébraux endommagés et les effets immuno-modulateurs qui améliorent la survie cellulaire et réduisent l'apoptose.

Dans les cas de la sclérose en plaque, on a décrit la présence des cellules progénitrices d'oligodendrocytes résidentes, qui ne sont pour autant pas remyélinisantes. Einstein et coll. ⁽⁹⁵⁾ ont conduit une étude chez la souris sur les effets de la transplantation des cellules souches neurales dans le cerveau en état de démyélinisation. Une augmentation significative de remyélinisation a été démontrée chez le groupe transplanté.

Malgré ces résultats très prometteurs, on ne sait pas vraiment si les CSMs pourraient se différencier en cellules nerveuses *in vivo*. Il est toutefois certain qu'elles exercent des effets neuroprotecteurs et de ce fait constituent un axe de recherche attractif en neurobiologie.

2.4.3 Dermatologie

La thérapie cellulaire a radicalement changé la vie des grands brûlés. Depuis plus de deux décennies, les médecins utilisent des techniques de culture cellulaire de kératinocytes afin d'obtenir, à partir d'un petit échantillon prélevé chez le patient lui-même, une surface de peau suffisante à la reconstruction d'un épiderme détruit. Bien que ce type de greffe soit utilisé avec succès, l'une de ses limites est le temps nécessaire (trois semaines) à la production d'une surface suffisante d'épiderme pour recouvrir les zones affectées, ce qui laisse, dans l'intervalle, le patient sans protection. Depuis quelques années, des recherches ont abouti à la mise au point de substituts pour essayer de protéger les malades dans la période qui précède la greffe. Cependant, ces moyens technologiques ne permettent pas de s'affranchir du risque de rejet immunitaire et de transmission de maladies.

Des progrès significatifs ont été faits dans la régénération du derme par la transplantation des CSMs. Wu et coll. ⁽³⁶⁹⁾ ont démontré une accélération de la cicatrisation, de la ré-épithélialisation et de l'angiogenèse au niveau d'une plaie.

L'équipe de Sheng ⁽³¹⁵⁾ a présenté le premier rapport sur la transplantation des CSMs dans la régénération fonctionnelle des glandes sudoripares. Les CSMs issues de la moelle osseuse ont été d'abord induites *in vitro* pour exprimer le phénotype des cellules glandulaires, puis transplantées au niveau des plaies chez 5 patients (grands brûlés). Après 12 mois, les auteurs ont remarqué la récupération de la perspiration fonctionnelle chez tous les patients, ce qui montre l'implication des cellules induites transplantées.

Ces résultats sont encourageants, toutefois beaucoup de questions se posent et nécessitent des réponses précises, notamment en ce qui concerne l'environnement approprié pour la différenciation et le nombre optimal de cellules pour la greffe.

2.4.4 Hépatologie

Le foie est la plus grande glande de l'organisme; il a également une fonction métabolique. La cirrhose hépatique est la conséquence tardive d'une lésion hépatique chronique (hépatite virale, hépatite alcoolique, hépatite auto-immune). Des inflammations récurrentes du tissu hépatique (par exemple provoquées par un abus d'alcool pendant de nombreuses années) détruisent les cellules du foie. Le tissu hépatique normal est remplacé par des nodosités, du tissu cicatriciel et du tissu conjonctif.

En France, l'alcoolisme est responsable d'environ 50 % des cirrhoses. Il n'existe aucun traitement curatif de la cirrhose (à part une greffe du foie). Le traitement se limite au sevrage absolu en boissons alcoolisées, à la prise des médicaments diurétiques et au traitement symptomatique des complications.

Deux études pré-cliniques : chez le mouton ⁽⁴⁴⁾ et chez le rat ⁽³⁰³⁾, ont démontré la différenciation *in vivo* des CSMs en cellules hépatiques.

Wang et coll. ⁽³⁵⁸⁾ ont remarqué que les CSM greffées étaient également capables d'atténuer la progression de la fibrose par la sécrétion des molécules ayant des propriétés anti-fibrogéniques.

Tsai et coll. ⁽³⁵¹⁾ ont confirmé ces données dans une étude de 2009 où ils ont transplanté des cellules progénitrices du cordon ombilical (provenant de la gelée de Wharton) dans un foie en état de fibrose chez le rat . Après quelques semaines, une réduction de fibrose a été constatée dans le groupe transplanté. Plus encore, ils ont remarqué une ré-équilibration du niveau des facteurs de croissance hépatiques.

Une petite étude clinique a été réalisée par Mohamednejad et coll. ⁽²³⁵⁾ dans laquelle 4 patients souffrants d'une cirrhose hépatique décompensée ont reçu une greffe des CSMs. Après 12 mois, une amélioration significative de la fonction hépatique a été constatée.

Actuellement le mécanisme sous-jacent responsable des effets thérapeutiques des CSMs au niveau du foie n'est pas encore clairement identifié.

2.4.5 Pneumologie

De nombreuses études évoquent les propriétés angiogéniques des CSMs ^{(3), (371)}, accompagnées par une augmentation de la densité capillaire dans des tissus pulmonaires ischémiques. 3 hypothèses sont proposées afin d'expliquer ce mécanisme :

- différenciation des CSMs en cellules musculaires lisses et en cellules endothéliales, contribuant ainsi à un remodelage des vaisseaux ;
- synthèse des facteurs angiogéniques et des chimiokines, incluant le VEGF (facteur de croissance vasculaire endothélial) et le bFGF (facteur de croissance fibroblastique basique), qui stimuleraient rétablissement fonctionnel des cellules résidentes ;
- effet paracrine sur les cellules vasculaires locales et le recrutement des progéniteurs circulants.

L'efficacité de cette thérapeutique a été démontrée chez l'animal ^{(3), (371)} et des études pré-cliniques sont en cours chez l'homme.

Amann et coll. ⁽⁹⁾ et Prochazka et coll. ^{(279), (280)} ont effectué une greffe autologue des cellules souches de la moelle osseuse (contenant des CSMs) chez les patients atteints d'une ischémie pulmonaire grave (une des complications du diabète). Cette transplantation a significativement amélioré la circulation sanguine au niveau des membres inférieurs chez plus de 80 % des malades, évitant ainsi une amputation.

2.4.6 Immunologie

La maladie du greffon contre l'hôte appelée la GVHD (pour «graft versus host disease») est une complication majeure fréquemment observée au décours des allogreffes de cellules hématopoïétiques de moelle osseuse et résulte de l'agression du receveur, profondément immunodéprimé, par les lymphocytes du donneur.

L'exploitation des propriétés immuno-suppressives des CSM dans le traitement de cette réaction immunitaire gravissime suscite beaucoup d'intérêt depuis les premiers travaux de Le Blanc et coll. en 2004 ⁽¹⁹⁶⁾.

En 2008 Le Blanc et coll. ⁽¹⁹⁵⁾ ont effectué une étude clinique en phase II. Ils ont traité 55 patients souffrants de la GVHD aiguë et non répondant au traitement par stéroïdes, par une greffe des CSMs issues de la moelle osseuse. Plus de la moitié des patients ont répondu positivement au traitement et il n'y a pas eu d'effets secondaires. Ce traitement a en moyenne prolongé la vie de ces malades de 2 ans.

Une autre pathologie auto-immune, la polyarthrite rhumatoïde, intéresse les chercheurs. C'est une maladie dégénérative inflammatoire chronique, caractérisée par une atteinte articulaire évoluant par poussées vers la déformation et la destruction des articulations atteintes.

Il a été démontré que les CSMs ou les chondrocytes dérivés des CSMs étaient capables d'inhiber l'activation et la prolifération des lymphocytes T, responsables de la destruction articulaire ⁽³⁹²⁾. Elles freinaient également la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires ⁽⁴⁸⁾.

Il semble évident que grâce aux propriétés anti-inflammatoires et immuno-modulatrices, les CSMs présentent un fort potentiel thérapeutique dans la polyarthrite rhumatoïde.

On constate donc que l'efficacité de l'implantation des populations cellulaires dérivées des cellules progénitrices pour la régénération des tissus et organes n'est pas encore avérée pour tous les champs d'investigations. Il est probable que les mécanismes biologiques impliqués dans la régénération tissulaire dans le cadre d'une greffe de progéniteurs soient beaucoup plus complexes qu'ils ne semblait initialement. En effet, l'idée actuelle est que les cellules implantées se comporteraient plus comme des médiateurs de stimulation pour la prolifération et la différenciation des progéniteurs endogènes, que comme des éléments participant à eux seuls, à la reconstruction du nouveau tissu ⁽⁹⁵⁾.

3. THERAPIE CELLULAIRE ET REGENERATION DES TISSUS DE LA CAVITE ORALE

L'utilisation de cellules souches dans le but de régénérer une dent ou un tissu dentaire ou péri-dentaire répond aux mêmes impératifs primordiaux que ceux inhérents à la thérapie cellulaire en général : il faut tenir compte de la source de prélèvement et du tissu à régénérer.

Deux approches principales émergent dans le domaine odontologique :

- la régénération d'une structure tissulaire orale ^{(20), (242), (260)} ;
- la génération d'un germe dentaire entier ^{(26), (309)}.

En ce qui concerne les sources de CSMs pour les thérapies régénératrices orales, de nombreuses pistes sont à l'étude. Nous les avons analysées plus haut (voir chapitre 1.4.2). Voici un tableau récapitulatif des sources (orales et extra-orales), avec leurs avantages et inconvénients, ainsi que les applications cliniques régénératrices potentielles qui en découlent (Tableau 5).

Source	Avantages	Inconvénients	Applications
Pulpe (DPSCs)	Cellules d'origine ectomésenchymateuse	-technique spécifique d'extirpation du tissu pulpaire ; -rétraction pulpaire chez l'adulte ; -nécessitent l'existence de dents incluses	- régénération pulpaire ; - traitement des perforations du plancher ;
Mésenchyme pulpaire (SCAPs)	- cellules issues des tissus immatures	-nécessitent l'existence de dents incluses	- régénération pulpaire ;
Ligament parodontal (DPLSCs)	Cellules d'origine ectomésenchymateuse	-petit nombre de cellules prélevées ;	- régénération parodontale ; - régénération osseuse alvéolaire
Follicule (DFPCs)	-cellules issues des tissus immatures	-petit nombre de cellules prélevées ; - nécessitent l'existence de germes	- régénération parodontale
Dents lactéales (SHEDs)	-doublement de population cellulaire>140 ; -prolifération rapide ; -grande capacité d'ostéo-induction <i>in vivo</i> ;	-pas de formation de complexe pulpo-dentinaire <i>in vivo</i> ; -nécessiteraient la confection d'une banque des cellules (pas de dents lactéales chez l'adulte)	- régénération osseuse
Os alvéolaire et périoste (BMMSCs)	- grande capacité d'ostéo-induction <i>in vivo</i> ;		-régénération osseuse
Gencive (OMSCs)	- facilité de prélèvement ; - prolifération rapide ;	- peu d'études <i>in vivo</i>	
Moelle osseuse de la crête iliaque (BMMSCs)	-grande capacité d'ostéo-induction ;	-procédure de prélèvement très invasive ; -nombre réduit des cellules prélevées nécessitant une mise en culture prolongée ; -différenciation <i>in vivo</i> en odontoblastes non démontrée ; - potentiel ostéogénique âge-dépendant ; - origine enchondrale	- régénération osseuse
Tissu adipeux (AMSCs)	-prolifération rapide ; -nombre important des cellules récupérées ; -procédure de prélèvement peu invasive; - faible morbidité du site-donneur	- origine embryonnaire éloignée des tissus à matrice calcifiée.	- régénération osseuse ; - régénération parodontale ; - régénération pulpaire

Tableau 5 : Avantages, inconvénients et applications cliniques potentielles des CSMs (155), (94).

3.1 Régénération pulpaire et péri-apicale

Une pathologie pulpaire ou péri-apicale peut être causée par un agent traumatique, physique et chimique, mais l'étiologie principale reste l'infection bactérienne ⁽²⁴¹⁾. L'objectif du traitement de pathologies comme la pulpite et la lésion péri-apicale serait d'obtenir une restitution *ad integrum* des tissus lésés ⁽²⁶⁴⁾. Les cellules progénitrices résidentes jouent un rôle crucial dans la régénération. Toutefois en conditions physiologiques, leur action seule n'est pas toujours suffisante à cause de leur trop petit nombre et de leur potentiel limité ⁽²⁰⁸⁾. Il est important d'ajouter qu'avec l'âge, ce potentiel diminue encore, ce qui expliquerait les résultats inconstants et quelques fois décevants des thérapeutiques conservatrices de la pulpe vivante, ou de régénération du périapex, chez l'adulte ⁽⁶¹⁾.

3.1.1 Techniques actuelles et leurs limites

Actuellement en France la pratique quotidienne en odontologie restauratrice et endodontie comprend 2 volets :

- les thérapeutiques de la pulpe vitale : coiffage pulpaire direct et indirect, pulpotomie et apexogénèse ;
- les thérapeutiques de la pulpe non vitale : bio ou nécro-pulpectomie, apexification et revascularisation.

En règle générale, les thérapeutiques maintenant la vitalité pulpaire sont indiquées au niveau des dents immatures ou lorsque la pulpe est supposée avoir un fort potentiel de régénération (patient jeune, développement radiculaire inachevé) ⁽¹⁵²⁾. De plus en plus, grâce aux nouveaux biomatériaux faisant leur apparition dans notre arsenal thérapeutique (notamment les ciments à base de silicate tricalcique ⁽¹²⁸⁾), les thérapeutiques de la pulpe vitale peuvent être proposées chez l'adulte. Nous allons voir que dans beaucoup de ces techniques, l'implication des CSMs endogènes est patente.

Coiffage pulpaire indirect

C'est une procédure qui consiste à placer un biomatériau sur une fine couche de dentine cariée séparant la cavité de carie de la chambre pulpaire afin d'éviter l'exposition pulpaire et provoquer la fabrication de la dentine tertiaire ⁽²⁰⁸⁾. C'est une thérapeutique très utilisée mais il y a un manque d'essais cliniques randomisés à ce sujet ^{(290), (231)}.

Coiffage pulpaire direct

Dans cette technique le biomatériau (l'hydroxyde de calcium ou le MTA - « mineral trioxide aggregate ») est placé directement sur la pulpe exposée dans le but de provoquer la formation d'un pont dentinaire ^{(27), (106)} (Figure 23).

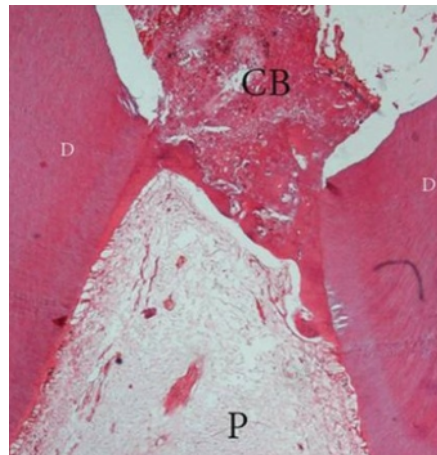


Figure 23 : Image histologique du résultat d'un coiffage pulpaire direct avec du MTA : CB=pont dentinaire au dessus de l'exposition pulpaire ; P=pulpe ; D=dentine (101).

Des observations relativement récentes recommandent plutôt l'utilisation du MTA (27), (107), (16). En réponse à la synthèse de différents facteurs de croissance (TGF-1, TGF-3, BMP-2 et IGF-1), les progéniteurs pulpaire sont recrutés et se différencient en odontoblastes sécréteurs de la dentine tertiaire (208).

Apexogenèse

L'apexogenèse est une thérapie de la pulpe vitale visant à stimuler la formation physiologique de l'extrémité apicale radiculaire au niveau des dents permanentes immatures (248). Une formation d'un pont dentinaire est observée au niveau du tissu pulpaire ce qui reflète un processus de réparation. Toutefois le développement radiculaire reste physiologique.

Pulpotomie

La pulpotomie consiste en l'extirpation du tissu pulpaire coronaire d'une dent vitale dans le but de préserver la vitalité de la pulpe radiculaire restante par la formation d'un pont dentinaire. Les matériaux utilisés sont : l'hydroxyde de calcium, le MTA ou le ciment à base de silicate tricalcique (128), (110).

Le pont dentinaire ainsi formé n'est pas strictement imperméable et ne permet pas la protection parfaite de la pulpe radiculaire sous-jacente – des lésions y ont été relevées dans 89 % des cas (65). La réaction inflammatoire qui suit une pulpotomie est plus sévère que dans le cas d'un coiffage pulpaire direct. Cependant elle provoque un plus fort recrutement des cellules progénitrices – le mécanisme moléculaire et cellulaire étant similaire à celui de la formation de la dentine tertiaire (321). Cette thérapeutique reste toutefois majoritairement reinteinte aux dents lactéales ou immatures.

Pulpectomie

La pulpectomie signifie l'extirpation totale de la pulpe : vitale (biopulpectomie) ou nécrosée (nécropulpectomie), avec ou sans atteinte du parodonte apical. Elle fait partie d'un traitement endocanalair qui se termine par une obturation radiculaire et coronaire (296).

Le processus biologique de guérison d'une lésion péri-apicale est très complexe. La restauration des tissus péri-apicaux lésés requiert un recrutement des cellules progénitrices provenant du desmodonte ou de la moelle osseuse environnante ⁽²⁰⁷⁾. Radiologiquement, après un traitement endocanalair, la restauration architecturale est quasi parfaite. Néanmoins un processus de fibrose apparaît presque toujours ⁽²⁹¹⁾.

Apexification

L'apexification est une méthode ayant pour but d'induire une barrière calcifiée à l'extrémité d'une racine avec un apex ouvert, ou de stimuler le développement apical d'une dent dont la pulpe est nécrosée. Traditionnellement on utilisait de l'hydroxyde de calcium, mais actuellement c'est le MTA qui devient l'outil le plus indiqué ⁽²⁸⁴⁾ (Figure 24).

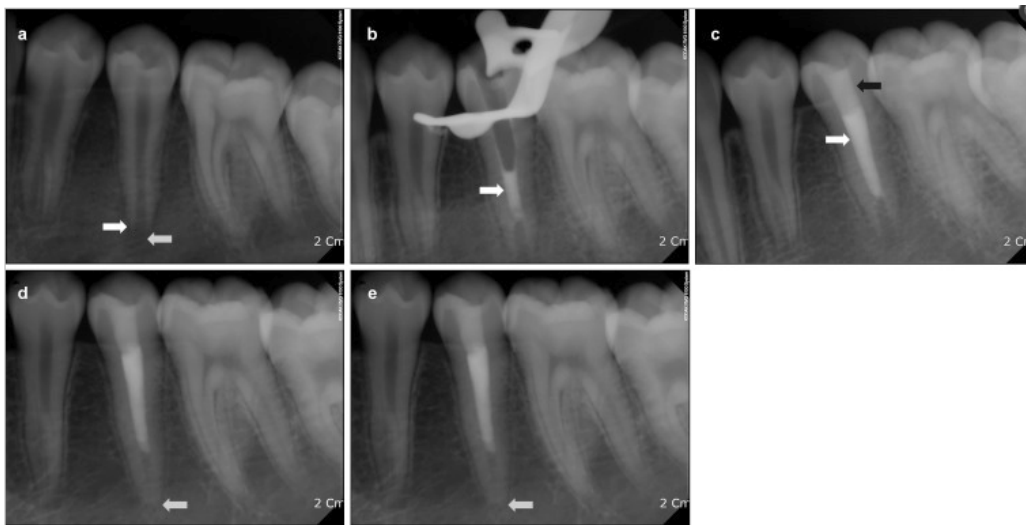


Figure 24 : Cas clinique de l'apexification d'une 35 immature et nécrosée chez un garçon de 12 ans: (a) Dent immature avec apex ouvert. (b) Mise en place d'un bouchon de MTA. (c) Obturation canalair classique au dessus du MTA au gutta percha et coronaire avec du composite. (d) Radiographie à J+6 semaines. (e) Fermeture apicale à J+24 mois (174) .

La découverte des SCAPs pourrait expliquer la fermeture apicale d'une dent permanente infectée immature, avec une lésion péri-apicale ⁽⁵⁵⁾. Il est probable que les SCAPs survivent à l'infection dans le péri-apex grâce à la vascularisation collatérale dans cette région. Après une désinfection endodontique, ces cellules peuvent donner naissance à des odontoblastes qui complètent la formation radiculaire. Selon Sonoyama et coll. ⁽³²⁷⁾, c'est la persistance des cellules de la gaine épithéliale de Hertwig qui serait responsable d'un recrutement des progéniteurs mésenchymateux.

Revascularisation

La revascularisation est une procédure relativement nouvelle qui tente à remplacer l'apexification et qui consiste, comme son nom indique, à une revascularisation (par l'induction d'un saignement apical) du réseau canalair radiculaire d'une dent immature nécrosée, avec ou sans la lésion péri-apicale. Cette thérapeutique se caractérise par une préparation mécanique minime voire inexistante et une irrigation chimique antiseptique abondante, avec l'utilisation d'une mixture des 3 antibiotiques : la ciprofloxacine, le métronidazole et la minocycline ^{(162), (54), (82)}. Cette technique est également indiquée dans les traumatismes dentaires ⁽⁴³⁾.

Les études animales actuelles n'apportent pas de preuve histologique pouvant affirmer qu'un vrai processus de régénération ait lieu dans le réseau canalaire radiculaire après une revascularisation ^{(341), (374)}. Beaucoup de travaux sont contradictoires. Néanmoins, comme dans le cas d'une apexification, le recrutement des progéniteurs responsables d'une formation tissulaire similaire à la pulpe serait possible grâce à la persistance des cellules de la gaine de Hertwig et des SCAPs ^{(383), (327)}.

Encore beaucoup de questions restent posées au sujet de la revascularisation, notamment concernant les signaux moléculaires impliqués dans la prolifération, la différenciation et la migration des cellules du périapex et la nature des relation entre les tissus durs néo-formés et les parois canalaire.

En conclusion, il faut souligner que les techniques de conservation pulpaire ou de revascularisation présentent des résultats encore incertains. En découle l'indication d'un traitement canalaire endodontique traditionnel dans la plupart des cas avec tous ses inconvénients et risques bien connus.

3.1.2 Thérapie cellulaire et régénération pulpaire

C'est à partir de 1970 et les études de Ost ⁽²⁵⁵⁾ qu'est né le concept de l'endodontie régénérative, comme nouvelle modalité de traitement ayant pour but le rétablissement de la vitalité pulpaire et le développement radiculaire. Actuellement, les travaux réalisés récemment nous laissent concevoir les thérapies régénératives de la pulpe comme des techniques visant à stimuler le tissu pulpaire sain restant (par exemple suite à une pulpotomie) à l'aide d'injection d'une solution contenant les cellules progénitrices, les molécules bioactives et les supports. Dans l'idéal on pourrait imaginer la recréation d'un tissu pulpaire *in vitro*, en utilisant les cellules progénitrices de l'individu pour ensuite le transplanter dans une dent.

Le choix d'un matériau de support adapté est crucial en régénération pulpaire, car il devrait être capable de stimuler le recrutement des progéniteurs à travers le foramen apical ⁽⁷²⁾. Tous les matériaux en polymères durs sont à exclure. Une solution injectable, par exemple à base d'hydrogels semble être plus appropriée et pratique ⁽¹¹⁷⁾. Concernant les molécules-sigaux impliquées dans la régénération pulpaire, la famille des BMPs semble jouer un rôle crucial ⁽⁷²⁾. La transplantation d'un assemblage cellulaire et moléculaire à potentiel régénératif devra immédiatement être suivie par une néo-vascularisation afin que les cellules puissent survivre à l'intérieur d'un réseau canalaire. Compte tenu de l'anatomie canalaire, le développement d'une stratégie favorisant cette néo-vascularisation sera un enjeu essentiel en régénération pulpaire (adjonction des facteurs angiogéniques, prévascularisation des matrices etc...) ⁽²⁶⁷⁾.

Logiquement, ce sont les progéniteurs pulpaire (DPSCs) ayant un fort potentiel dentinogénétique qui sauraient être utilisés dans les thérapies de la pulpe vitale. L'auto-transplantation de ces cellules avec ou sans BMP2 dans la chambre pulpaire chez le chien engendre la régénération du complexe dentino-pulpaire ⁽¹⁵⁸⁾. Prescott et coll. ⁽²⁷⁷⁾ ont montré l'efficacité de la triade DPSCs/support en collagène/DMP1 dans le traitement des perforations chez la souris. Un tissu pulpaire bien organisé a été mis en évidence au niveau des sites de perforation dans le groupe des souris traitées.

Cordeiro et coll. ⁽⁶³⁾ ont réalisé des tests en utilisant les cellules progénitrices issues des dents lactéales exfoliées (SHEDs) chez la souris immuno-déficiente. Le but de l'étude était d'évaluer les caractéristiques morphologiques des tissus générés par ces cellules transplantées dans un « scaffold » biodégradable élaboré à partir des tranches des dents humaines. Ils ont observé la formation d'un tissu présentant les caractéristiques de la pulpe, avec néo-différenciation odontoblastique.

Huang et coll. ⁽¹⁵⁴⁾ ont démontré que le complexe pulpo-dentinaire vascularisé peut être généré *de novo* dans un réseau canalaire radiculaire vide grâce aux cellules progénitrices pulpaire (DPSCs et SCAPs) chez la souris. Cette étude constitue une nouvelle avancée pour la préservation du tissu pulpaire et pourrait présenter une alternative future aux traitements endodontiques conventionnels.

L'auto-transplantation de CSMs d'origine adipeuse dans les canaux radiculaires vides a eu les mêmes effets positifs qu'avec des progéniteurs pulpaire. La formation matricielle était plus importante avec les cellules adipeuses, qui ont en plus produit de nombreux facteurs trophiques. Cette étude montre que le tissu adipeux pourrait présenter une bonne alternative aux progéniteurs pulpaire en thérapie cellulaire endodontique, surtout lorsque cette source n'est pas disponible ⁽¹⁶¹⁾.

Les connaissances générées par la recherche en biologie cellulaire, biomatériaux et biologie du développement, couplées avec les dernières avancées en recherche clinique endodontique, permettent actuellement d'imaginer et étudier de nouvelles stratégies thérapeutiques basées sur l'utilisation des CSMs. La genèse de tissus complexes tels que la pulpe n'est plus un rêve irréalisable. Des résultats scientifiques de plus en plus encourageants suggèrent qu'il sera bientôt possible de restaurer la vitalité pulpaire.

3.2 Régénération des poches parodontales

Les parodontopathies sont la cause la plus fréquente de perte des dents chez l'adulte et leurs conséquences esthétiques et fonctionnelles posent aujourd'hui encore de véritables problèmes en matière de santé publique. La maladie parodontale est le résultat d'une perte d'attache entre le desmodonte, le ciment et l'os alvéolaire. La récupération de ces tissus de soutien de la dent constitue l'enjeu majeur de la prise en charge. A l'heure actuelle, le clinicien dispose de techniques basées sur l'utilisation de membranes et/ou de comblements par des substituts osseux, mais aussi de facteurs biologiques comme les dérivés de la matrice de l'émail qui donnent encore des résultats peu prédictibles et aléatoires ⁽⁷⁴⁾. C'est la raison pour laquelle la recherche s'oriente à présent vers de nouvelles approches de régénération parodontale, notamment basées sur la thérapie cellulaire et

l'utilisation des cellules multipotentes du conjonctif. Le but de ces nouvelles thérapeutiques serait de régénérer tous les composants formant un parodonte fonctionnel et ainsi obtenir une nouvelle attache (Figure 25) – un challenge très compliqué étant donné l'organisation complexe de ces tissus ^{(365), (246)}.

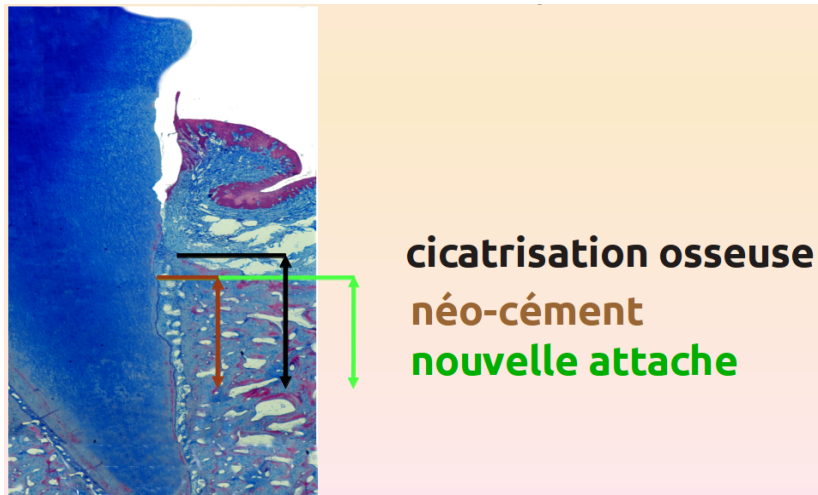


Figure 25 : Coupe histologique d'une nouvelle attache parodontale (98).

3.2.1 Thérapies actuelles et leurs limites

Il est possible d'obtenir une régénération du parodonte grâce aux thérapeutiques les plus simples, comme le débridement non chirurgical. Toutefois, dans la plupart des cas, la régénération des poches parodontales, en particulier des lésions infra-osseuses, passe par la chirurgie.

Complements osseux et régénération tissulaire guidée

Le comblement osseux et la régénération tissulaire guidée (RTG) sont utilisés depuis une vingtaine d'année en chirurgie régénératrice du parodonte, bien que de moins en moins usités au profit de l'utilisation des dérivés de la matrice de l'émail. La RTG implique l'utilisation d'une membrane souvent combinée avec des biomatériaux ⁽⁴⁾. Cette membrane aurait théoriquement pour but de favoriser la prolifération et la migration des cellules provenant du ligament parodontal ^{(350), (156)}. Actuellement on considère que la membrane sert à maintenir le caillot sanguin en place ⁽³⁶²⁾. La RTG est principalement indiquée en réévaluation des lésions après traitement de première intention (le surfaçage et l'assainissement chirurgical) ou sur des sites à l'anatomie complexe ⁽⁷⁴⁾. Cette technique est difficile à mettre en œuvre et ses résultats restent très variables ^{(30), (275), (357)}.

Certains auteurs ont proposé de combiner à la RTG des facteurs de croissance : les BMPs, le PDGF, les facteurs dérivés des plaquettes, les dérivés de la matrice de l'émail ou l'amélogénine ^{(49), (287)}. L'amélioration de la capacité régénérative constatée pourrait ici être en relation avec le recrutement accru des progéniteurs mésenchymateux endogènes.

Dans l'exemple ci-dessous (Figure 26), le praticien a utilisé avec succès un mélange d'une autogreffe osseuse et d'un matériau de comblement imprégné de facteur de croissance PDGF (GEM 21S®) afin de traiter des lésions parodontales chez un patient de 27 ans.



Figure 26 : Cas clinique de la régénération parodontale avec une technique mixte (autogreffe osseuse + GEM21S). (A,B,C) Mise en évidence des lésions parodontales > 6mm. (D) Le GEM21S est mélangé avec une autogreffe osseuse. (E,F) Mise en place de la greffe et fermeture gingivale hermétique. (G,H) Evaluation clinique, radiologique et chirurgicale de la poche à J+9 mois montre une régénération osseuse et le profondeur de la poche de 2 mm. (287).

Dérivés de la matrice de l'émail (« Enamel Matrixc Derivative : EMD »)

La solution contenant les dérivés de la matrice de l'émail d'origine porcine est commercialisée sous le nom d'Emdogain® et est composée de 90 % d'amélogénines (protéines de la matrice de l'émail) et certainement de BMPs ⁽¹⁷¹⁾. Son but est de stimuler les cellules progénitrices desmodontales afin qu'elles régénèrent les éléments du parodonte profond et forment une nouvelle attache.

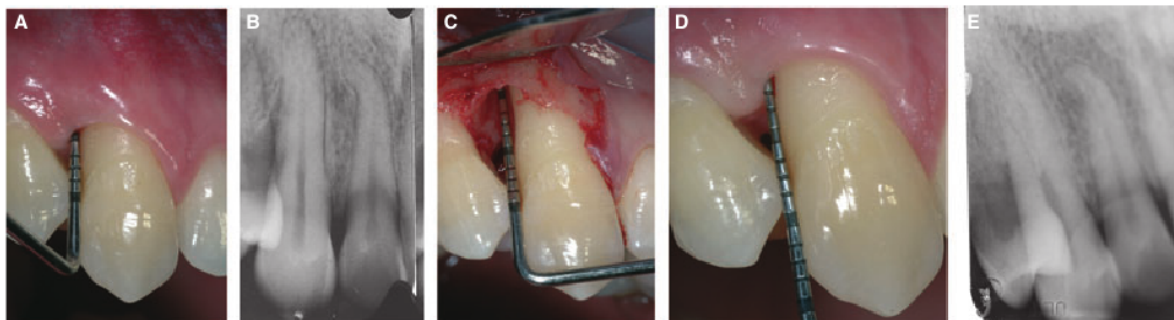


Figure 27 : Cas clinique de la régénération parodontale d'une lésion infra-osseuse à trois parois avec l'Emdogain® (287).

Grandin et coll. ⁽¹²⁷⁾ ont étudié les effets des EMD et ont mis en évidence une augmentation de la production des protéines, de la prolifération et de la différenciation cellulaire, ainsi que la stimulation de l'angiogenèse. Elles possèdent également un effet cytostatique sur les cellules épithéliales. Kémoun et coll. ⁽¹⁷⁰⁾ précisent que la prolifération cellulaire serait plutôt stimulée par les amélogénines, alors que la différenciation serait le fait des BMPs.

Koop et coll. ⁽¹⁸³⁾ ont comparé les résultats des traitements des poches infra-osseuses par EMD avec les autres techniques proposées (méta-analyse des 27 études). Des différences significatives ont été remarquées en faveur des EMD par rapport à un lambeau d'assainissement, par contre il n'y a pas eu de différence par rapport à la RTG ⁽¹⁰³⁾. En ce qui concerne le traitement des furcations et des lésions horizontales, les études montrent de bien meilleurs résultats avec les EMD. Les résultats de cette analyse sont synthétisés dans le tableau ci-dessous (Tableau 6).

	EMD	RTG	LAMBEAU D'ASSAINISSEMENT
LESIONS INFRA-OSSEUSES			
LESIONS HORIZONTALES			
FURCATIONS			

Tableau 6 : Synthèse des résultats de l'analyse de Koop et coll.(183).

Les analyses histologiques chez l'animal et l'homme montrent que l'utilisation des EMD favorise la régénération parodontale et constitue une thérapeutique efficace des lésions infra-osseuses ; les résultats cliniques semblent être stables à long terme ⁽³⁴⁹⁾.

Il existe toutefois une grande variabilité et prédictibilité dans les résultats des techniques de régénération des poches parodontales actuellement à la disposition de l'odontologiste. Toutes les techniques régénératives qui ont été décrites montrent des résultats qui peuvent différer et dépendent :

- de facteurs patient-dépendants, comme son statut immunitaire, le contrôle de plaque, l'infection parodontale résiduelle, l'exposition de la membrane etc... ;
- d'effets des forces occlusales axiales et transversales ;
- de facteurs opérateur-dépendants (compétence, habileté) qui influencent la cicatrisation de première intention (fermeture du site etc...).

3.2.2 Thérapie cellulaire et régénération parodontale

Compte tenu de la variabilité des résultats et des limites des traitements des parodontites actuellement proposés, il semble que l'utilisation des CSMs puisse ouvrir de nouvelles voies thérapeutiques en régénération parodontale.

L'utilisation des CSMs pour régénérer des poches infra-osseuses pourrait consister en l'élaboration *in vitro* d'une solution contenant les cellules, les facteurs de croissance et les biomatériaux, qui pourra ensuite être injectée ou insérée (en fonction de sa consistance) au niveau des lésions. Les molécules bioactives les plus étudiées en parodontie et leurs effets sont regroupées dans le tableau ci-dessous (Tableau 7).

FACTEUR DE CROISSANCE	EFFET SUR LE PARODONTE	REFERENCE
PDGF	migration et prolifération des cellules mésenchymateuses	(123)
IGF-I	migration, prolifération et différenciation cellulaire ; synthèse matricielle	(122)
FGF-2	prolifération des cellules endothéliales et desmodontales	(240)
TGF- β	prolifération des cémentoblastes et fibroblastes desmodontaux	(307)
BMP	prolifération et différenciation des précurseurs desmodontaux	(390)
EMD	prolifération, synthèse protéique et formation des nodules minéralisés au niveau des cellules desmodontales, des ostéoblastes et des cémentoblastes	(216)

Tableau 7 : Facteurs de croissance utilisés en régénération parodontale (287).

Ces dix dernières années de nombreuses études concernant l'utilisation de CSMs en régénération parodontale ont été publiées (Tableau 8).

LESION	CELLULES	MATERIAU DE SUPPORT	MODELE ANIMAL	RESULTATS DE L'ETUDE	REFERENCE
lésions parodontales	progéniteurs pulpaire, desmodontaux et folliculaires autologues	ND	chien beagle	Les progéniteurs desmodontaux semblent être les plus efficaces pour régénérer le parodonte (Figure 28).	(265)
lésions parodontales	progéniteurs desmodontaux autologues	hydroxyapatite /phosphate tricalcique	cochon miniature	L'auto-transplantation des progéniteurs desmodontaux a montré leur excellente capacité de régénération parodontale et osseuse.	(213)
lésions mésiales des premières molaires	progéniteurs desmodontaux allogéniques	hydroxyapatite /phosphate tricalcique	cochon miniature	L'allogreffe des progéniteurs desmodontaux a provoqué la régénération parodontale similairement à l'autogreffe. Pas de rejet des cellules allogéniques.	(79)
lésions infra-osseuses à 1 parois	progéniteurs médullaires et desmodontaux autologues	hydroxyapatite /phosphate tricalcique	chien beagle	Les 2 populations cellulaires contribuent à la régénération parodontale, mais les progéniteurs desmodontaux semblent posséder une meilleure capacité régénérative.	(352)
alvéole vide après l'avulsion de l'incisive mandibulaire	progéniteurs desmodontaux et papillaires	hydroxyapatite /phosphate tricalcique	cochon miniature	Genèse d'une racine bio-artificielle fonctionnelle et capable de supporter une couronne en céramique.	(325)
furcations de classe III	progéniteurs médullaires autologues	gel d'alginate de calcium	chien beagle	Différenciation des BMMSCs en fibroblastes desmodontaux et ostéoblastes - régénération du parodonte.	(360)

Tableau 8 : Synthèse des études sur la thérapie cellulaire en régénération parodontale.(ND) :non défini

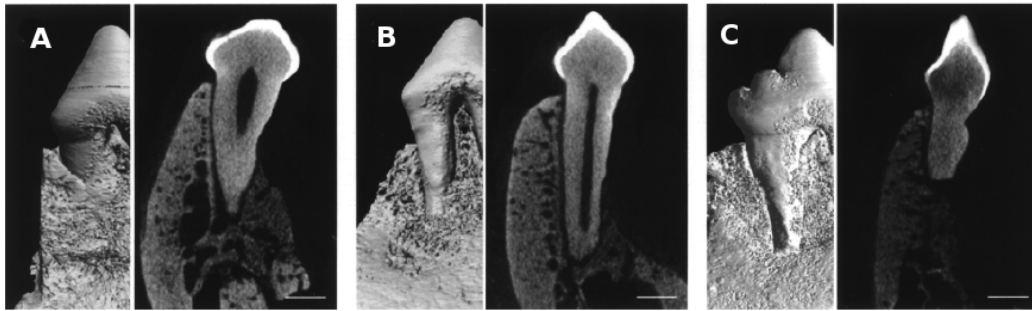


Figure 28 : Résultats de l'étude de Park et coll.(265) en imagerie 3D : (A) néoformation osseuse avec les progéniteurs desmodontaux ;(B) avec les progéniteurs folliculaires ; (C) avec les progéniteurs pulpaire

Actuellement, les progéniteurs desmodontaux semblent selon les études être les plus efficaces en régénération parodontale par thérapie cellulaire ^{(156), (352)}. Néanmoins la méthode d'isolation (prélèvement sur les racines des dents extraites) et le faible nombre des cellules récupérées (nécessité de culture prolongée) restreint leur utilisation en clinique. Cette source apparaît donc envisageable pour une thérapeutique des lésions localisées. Dans le cas d'une parodontite généralisée on pourrait s'orienter vers une source plus riche en cellules (par exemple le tissu adipeux). De même, le traitement d'une parodontite avec des lésions très actives et une composante inflammatoire importante pourrait s'appuyer sur les propriétés immuno-modulatrices des CSMs, qui deviendraient alors des « cellules médicaments ». L'élément qui s'ajoute et complique considérablement la réussite d'un tel traitement est la présence des pathogènes qui contaminent constamment l'environnement parodontal et résident sur les surfaces dentaires. En effet, toute stratégie de régénération doit être accompagnée d'un contrôle de l'infection ⁽³²⁰⁾.

Concernant les études chez l'homme, un rapport de 3 cas a été publié par Feng et coll. ⁽¹⁰⁸⁾. Cette étude a démontré l'efficacité et la sécurité de l'auto-transplantation des progéniteurs desmodontaux (PDLSC) dans le traitement des lésions parodontales infra-osseuses (Figure 29).

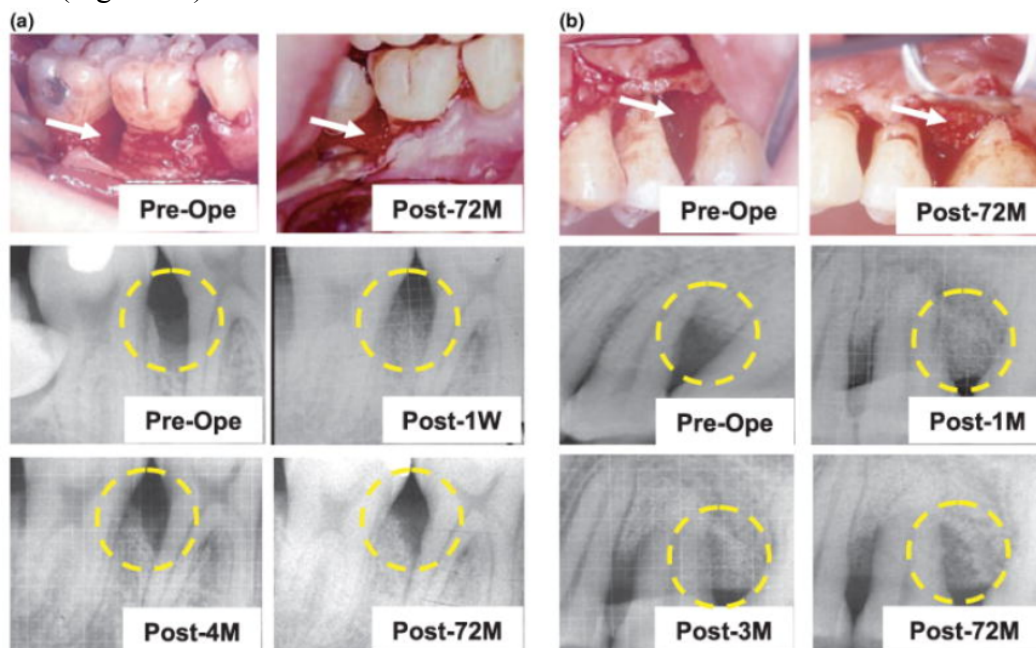


Figure 29 : Evaluation clinique et radiologique des 2 cas de Feng et coll. (108) : (a) Patient n°1 avec une lésion verticale en distale de la 46. (b) Patient n°2 avec une lésion horizontale entre la 25 et la 26. Photographies et radiographies pré-opératoires (Pre-Ope), à J+1 semaine (Post-1W), à J+4 mois (Post-4M) et à J+72 mois (Post-72M).

Duan et coll. ⁽⁸⁹⁾ ont implanté les iPSc en combinaison avec les EMD dans des lésions parodontales chez la souris. Cet ensemble a permis la néo-formation d'un parodonte fonctionnel. Des travaux additionnels sont toutefois nécessaires afin d'étudier les effets indésirables à long terme de la manipulation génétique des iPSc.

Le futur de la thérapie cellulaire basée sur les CSMs en régénération parodontale est très prometteur. Cependant, comme pour toutes nouvelles techniques thérapeutiques, les questions restent nombreuses. Bien qu'un nombre important d'études animales ait été publié et apportent la preuve de l'efficacité des CSMs dans le traitement des parodontites, la translation chez l'homme pose de nombreux problèmes : système de délivrance adéquat, contrôle de l'immunogénicité des allogreffes, source appropriée, coût/bénéfices/risques.... Cette nouvelle stratégie thérapeutique reste toutefois particulièrement attractive compte tenu des limites des techniques actuelles.

3.3 Régénération osseuse

La résorption osseuse suit généralement la perte des dents, qu'elle soit due à la maladie parodontale, à un traumatisme ou au non remplacement d'un édentement ⁽²⁴⁹⁾. L'os alvéolaire se résorbe plus ou moins vite et dans certains cas il ne reste que de l'os basal, ce qui augmente considérablement la difficulté à réaliser une prothèse dentaire, qu'elle soit amovible ou implanto-portée. De plus, le traitement des pathologies tumorales malignes qui consiste très souvent en une chirurgie d'exérèse provoque de très importantes pertes de substance qui peuvent s'étendre à tout le massif crânio-facial et constituer un préjudice esthétique considérable.

3.3.1 Régénération osseuse pré-implantaire

Les déficits osseux alvéolaires peuvent être verticaux, horizontaux ou mixtes. Au niveau maxillaire, on assiste le plus souvent à des résorptions verticales sous-sinusiennes et à la perte de la table osseuse vestibulaire au niveau antérieur. Au niveau mandibulaire les résorptions mixtes prédominent et aboutissent très souvent à une crête en forme de lame de couteau (Figure 30).

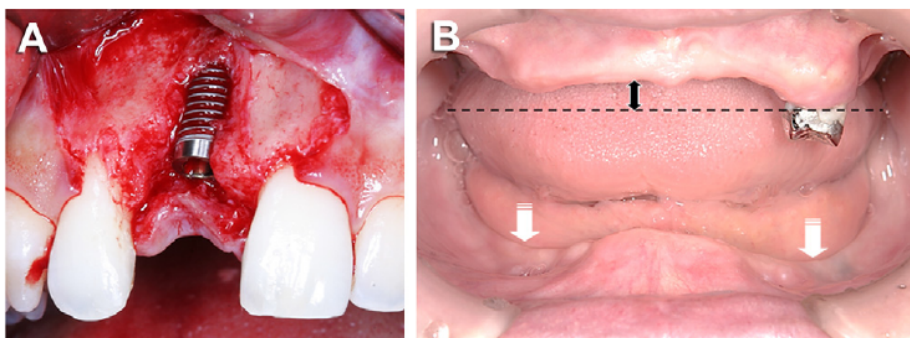


Figure 30 : Photographies illustrant la résorption alvéolaire. (A) Résorption de la table osseuse vestibulaire au niveau antérieur suite à la pose d'implant ne respectant pas l'espace biologique horizontal (B) Résorption tri-dimensionnelle de la crête maxillaire et mandibulaire due à un édentement ancien (94).

3.3.1.1 Techniques actuelles et leurs limites

Les thérapeutiques actuelles diffèrent selon le type et l'étendue de la résorption (Tableau 9).

TECHNIQUES D'AUGMENTATION DU VOLUME OSSEUX ALVÉOLAIRE	
MANDIBULE	MAXILLAIRE
expansion de crête	soulevé du sinus
régénération osseuse guidée	régénération osseuse guidée
greffes d'apposition (allogreffes, autogreffes)	greffes d'apposition (allogreffes, autogreffes)
techniques mixtes	techniques mixtes

Tableau 9 : Techniques actuelles d'augmentation du volume osseux alvéolaire

La technique d'**expansion de crête** mandibulaire est réalisée à l'aide de la chirurgie piézo-électrique où l'on joue sur l'élasticité osseuse en écartant légèrement les pans osseux dans les cas de déficit osseux horizontal minime. L'implant est généralement posé lors de la même intervention chirurgicale ⁽¹⁹³⁾.

La **régénération osseuse guidée** s'effectue le plus souvent grâce à la mise en place d'une membrane qui préforme le volume de la future crête et guide les cellules ostéo-progénitrices de l'os alvéolaire avoisinant pendant la régénération et protège le caillot. Le chirurgien stimule le phénomène de régénération osseuse par de très petites ostéotomies sur la crête existante ⁽²⁹⁵⁾. La membrane doit être immobilisée par des vis de fixation. Cette technique nécessite au minimum 2 interventions chirurgicales : pour poser et enlever la membrane. Il y a un risque de contamination bactérienne lors d'une exposition de la membrane ⁽²⁸⁶⁾. Cette technique est très opérateur-dépendante et exige souvent une plastie gingivale afin de bien recouvrir et suturer convenablement le lambeau ⁽⁷⁸⁾.

Le **soulevé de sinus** consiste en un comblement de l'espace entre l'os maxillaire et la membrane sinusienne (légèrement repoussée dans le sens vertical) par une autogreffe, une allogreffe ou une xénogreffe ^{(328), (32)}.

Les **greffes d'apposition osseuse** sont réalisées dans les cas de résorptions importantes et de grande étendue. Les greffons d'os cortical (ou cortico-spongieux) sont le plus souvent prélevés chez le patient lui-même. Les sites de prélèvements sont variés : symphyse mentonnière et ramus mandibulaire. Certains réalisent des prélèvements extra-oraux, au niveau de l'os pariétal ou de la crête iliaque ⁽³⁰⁰⁾. La plupart des échecs sont dus à une infection ou une résorption excessive du greffon ⁽³⁴⁸⁾. Actuellement de plus en plus de cliniciens associent ces techniques ⁽²⁸³⁾.

L'arsenal thérapeutique en régénération pré-implantaire est assez large de nos jours, mais les résultats semblent beaucoup dépendre de l'opérateur. De plus, ces techniques entraînent souvent des suites opératoires lourdes pour le patient surtout dans le cas des autogreffes ⁽¹⁰²⁾. Dans le but d'optimiser ces solutions thérapeutiques, certains auteurs se sont intéressés à la thérapie cellulaire.

3.3.1.2 Thérapie cellulaire et régénération osseuse alvéolaire

Selon la littérature, la source la plus appropriée en régénération osseuse pré-implantaire semble être la moelle osseuse de la crête iliaque. Cependant, compte tenu des difficultés de prélèvement, d'autres techniques comme la récupération de l'os provenant du forage, le prélèvement tubérositaire ou l'accès à des sources non osseuses peuvent être envisagées (voir Tableau 5, chapitre 3).

En pratique, tout comme ce qui a été décrit dans le chapitre sur la régénération parodontale, une régénération pré-implantaire basée sur l'utilisation des CSMs s'appuierait sur l'inclusion de ces cellules dans un matériau ostéo-conducteur, avec ou sans utilisation de facteurs bioactifs. En fonction de l'anatomie de la lésion et la disponibilité des cellules, il est autorisé de ne pas systématiquement faire appel à une phase d'expansion cellulaire avant la greffe.

Augmentation du volume osseux crestal

Les CSMs issues des dents lactéales (SHEDs) ont été utilisées pour régénérer les lésions osseuses parasymphysaires chez le cochon par Zheng et coll. ⁽³⁹¹⁾. Les cellules greffées se sont directement différenciées en ostéoblastes qui ont synthétisé un tissu osseux fonctionnel.

Yamada et coll. ⁽³⁷³⁾ ont publié un rapport de cas sur une technique d'ingénierie tissulaire pour traiter les atrophies alvéolaires chez un patient de 58 ans. Ils ont utilisé des CSMs issues de la moelle osseuse (crête iliaque), le plasma riche en plaquettes et une membrane. Après avoir obtenu un gain osseux de 4mm, 3 implants ont été placés. Un recul de 2 ans a permis de ne démontrer aucune résorption osseuse. L'avantage de cette approche est l'utilisation d'une procédure peu invasive (Figure 31).

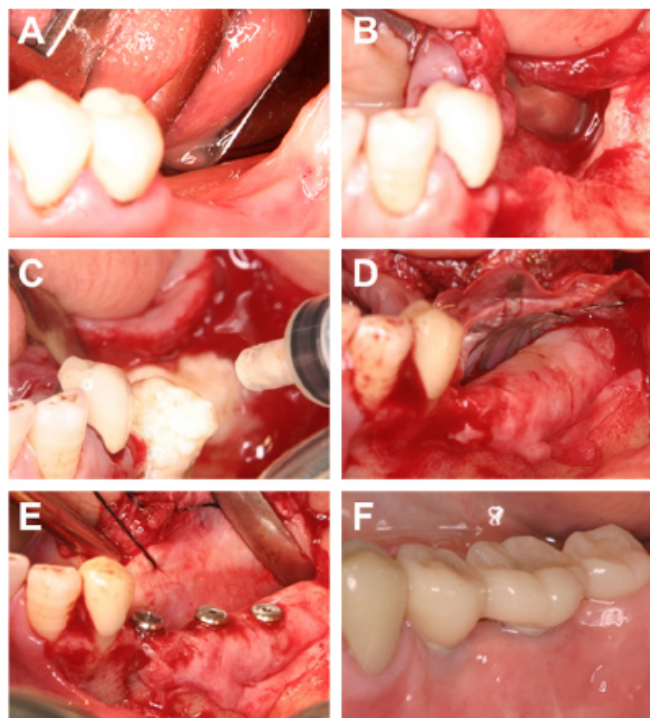


Figure 31 : Photographies du cas clinique de Yamada et coll. (373) : A) Résorption alvéolaire de longue date au niveau du secteur 3. (B) Levée du lambeau. (C) Dépose du biomatériau de régénération sous la forme d'un gel. (D,E) Crête à J+7mois et pose d'implants. (F) Prothèse finale

Les CSMs pourraient également servir à traiter des péri-implantites : Kim et coll. ⁽¹⁷⁶⁾ ont comparé les propriétés ostéogéniques de 2 types cellulaires autologues (CSM issues de la moelle osseuse et parodontales) dans les sites péri-implantaires chez le chien. Les cellules provenant de la moelle osseuse ont donné le meilleur résultat de néo-formation osseuse (40%) ; les cellules parodontales ont produit un peu moins d'os (36%).

Des tentatives de reconstruction du desmodonte autour d'un implant, un tissu parodontal péri-implantaire, dans le but d'obtenir du ciment sur la surface de l'implant ont été publiées ⁽²⁰⁶⁾. Les chercheurs ont imaginé un « implant idéal » qui aurait un certain degré de mobilité, similaire aux dents naturelles. Ils ont toutefois rencontré beaucoup de difficultés, surtout pour créer du ciment. Ces travaux ont été abandonnés.

Augmentation du volume osseux sous-sinusien

Les techniques actuelles permettent d'augmenter le volume osseux sous-sinusien avec un taux de succès important. Les implants sont posés en même temps que la greffe ou lors d'un second acte chirurgical lorsqu'il est impossible d'obtenir la stabilité primaire immédiate. Cette période de cicatrisation osseuse peut cependant prendre plusieurs mois.

McAllister et coll. ⁽¹²⁵⁾ ont réussi à diminuer la période de cicatrisation à 4 mois chez 5 patients, en utilisant la matrice cellulaire osseuse allogénique contenant les CSMs prélevées chez les cadavres. Le résultat était très encourageant et permettait une pose d'implant plus rapide.

Une nouvelle méthode reconstructrice optimisant la formation osseuse et l'intégration implantaire, tout en étant peu invasive, a été étudiée par Sauerbier et coll. ⁽³⁰⁵⁾ sur un modèle animal de brebis. Ils ont comparé l'effet d'une xéno greffe bovine seule ou en combinaison avec les CSMs. L'ajout des progéniteurs a significativement accéléré la formation osseuse.

Jhin et coll. ⁽¹⁶⁴⁾ ont testé chez le lapin l'utilisation des CSMs d'origine médullaire transfectées avec un gène de la BMP-2, associées à un substitut osseux d'origine bovine. Après 2 et 4 semaines, l'analyse histologique a montré une nette accélération de la formation osseuse dans le groupe CSM/BMP-2. Cependant après 8 semaines ils ont remarqué aucune différence entre ce groupe et le groupe test (greffe du substitut bovin seul). Ce résultat montre que la BMP-2 contribue certainement à une optimisation de la formation osseuse dans les stades initiaux après la greffe.

Ces études suggèrent que l'adjonction de CSMs dans les matériaux de comblements actuellement à la disposition de l'implantologiste (qu'ils soient auto/allo ou xénogéniques) améliore considérablement la formation osseuse sous-sinusienne et permet la mise en place d'implants plus rapidement.

3.3.2 Régénération osseuse du massif crânio-facial

Les approches thérapeutiques actuelles visant à reconstruire le massif crânio-facial sont basées sur les greffes osseuses autogènes, la mise en place de matériaux allogéniques et les prothèses maxillo-faciales en silicone ^{(285), (34)}. Chaque stratégie thérapeutique possède ses limites : nécessité d'un site donneur et donc morbidité, risque d'infections, prothèses amovibles à l'esthétique peu avantageuse ⁽³¹⁹⁾. La thérapie cellulaire pourrait palier ces problèmes et apporter un nouveau confort de vie aux patients.

Reconstruction osseuse des séquelles post-traumatiques

Les CSMs issues du tissu adipeux sont certainement les plus étudiées dans le domaine de la régénération osseuse ^{(218), (198), (146), (201)}. Cowan et coll. ⁽⁶⁴⁾ ont utilisé avec succès ces progéniteurs pour régénérer les lésions osseuses crâniennes chez la souris.

Le premier rapport de cas chez l'homme a été réalisé par une équipe allemande, sur une patiente de 7 ans avec d'importantes lésions osseuses crâniennes d'origine traumatique ⁽²⁰³⁾ : la transplantation des CSMs issues de la crête iliaque et le tissu adipeux a permis une régénération quasi *ad integrum* des os du crâne et prouve le grand potentiel de ces cellules dans l'ingénierie tissulaire chez l'homme. Dans ce cas il est toutefois impossible de savoir quel était le taux de participation des cellules adipeuses *versus* cellules de la moelle osseuse dans la régénération osseuse. Les chercheurs ajoutent qu'il y a un réel problème de source offrant suffisamment de cellules chez l'enfant.

Dans le domaine de la traumatologie, la non-consolidation des fractures osseuses est particulièrement étudiée. En effet, une fracture non consolidée peut provoquer l'apparition des mouvements anormaux. On parle d'une pseudoarthrose lorsque le cal osseux ne se forme pas ou se forme mal. Les chercheurs exploitent différentes possibilités de thérapie cellulaire à ce sujet :

- prélèvement de moelle osseuse, centrifugation et réinjection des CSMs dans les foyers de pseudoarthrose ⁽¹⁴⁴⁾ ;
- allogreffe osseuse vitalisée avec la greffe autologue de moelle osseuse dans le traitement de pseudoarthrose au niveau du tibia et fibula – consolidation chez 11 patients sur 15 ⁽¹³⁾ ;
- CSMs autologues de moelle osseuse cultivées et implantées sur un support de sulfate de calcium dans le traitement de pseudoarthrose au niveau du tibia – union des 2 fragments osseux 2 mois après intervention ⁽¹⁵⁾.

Ces résultats très encourageants permettent d'imaginer leur transposition dans le cadre des fractures complexes du crâne.

Régénération osseuse après exérèse chirurgicale d'une tumeur et radiothérapie

Les cancers des voies aéro-digestives supérieures (VADS) représentent le 6ème cancer le plus fréquent au monde avec environ 42000 nouveaux cas par an en Europe dont 17000 en France. Les cancers de la cavité buccale représentent environ 25 à 30% des cancers des VADS. La tumeur peut envahir la muqueuse, puis les régions adjacentes telles que, en profondeur, la musculature extrinsèque de la langue. A un stade évolué, l'érosion

des structures osseuses peut être observée ⁽⁴⁰⁰⁾. Le traitement repose sur l'exérèse chirurgicale large, qui intéresse souvent les bases maxillaires et entraînent des amputations particulièrement invalidantes, associées à une radiothérapie à forte dose.

Deshpande et coll. ⁽⁷⁵⁾ ont étudié les effets de la transplantation des CSMs issues de la moelle osseuse dans la régénération osseuse mandibulaire des lésions radio-induites au cours du traitement par distraction osseuse chez la souris. L'amélioration significative de la densité osseuse a été démontrée et des propriétés bio-mécaniques du tissu néo-formé, confirmant ainsi que l'administration des CSMs au niveau de l'os soumis à la distraction, constituerait un facteur stimulant et favorisant la régénération osseuse.

Une combinaison de la thérapie cellulaire avec la thérapie génique a été également suggérée dans une technique de régénération osseuse des sites céphaliques irradiés chez le rat ⁽²⁵⁴⁾.

Les CSMs médullaires, greffées sur un support en titane, imprégné de xéno-greffe bovine et de BMP-7, ont été utilisées avec succès pour reconstruire chez l'homme le volume osseux mandibulaire après l'exérèse d'un améloblastome ⁽¹⁴³⁾. La néo-formation osseuse a été confirmée autour des molécules de la xéno-greffe et a permis la pose de 3 implants afin de restaurer la fonction masticatrice.

Régénération de l'articulation temporo-mandibulaire

De nouveaux protocoles visant à régénérer le condyle sont actuellement étudiés. Après plusieurs tentatives, Mao et coll. ⁽²¹⁸⁾ ont réussi à concevoir un condyle par l'ingénierie tissulaire chez le cochon miniature (Figure 32). Un biomatériau de support en forme de condyle a été conceptualisé à partir d'un scanner 3D et fabriqué à l'aide de la CFAO. Ce « scaffold » a été imprégné de moelle osseuse et transplanté (fixation au ramus mandibulaire). Le condyle s'est avéré fonctionnel, mais aucune analyse histologique n'a pu attester de la régénération de l'articulation.



Figure 32 : Conception et fabrication du condyle bio-artificiel chez le cochon miniature : (A) Imagerie initiale en 3D de la mandibule. (B) Fabrication du scaffold par la CFAO. (C) Fixation du scaffold au ramus. (D) À J+3 mois, un nouveau condyle a été régénéré (entouré d'un cercle rouge). (E) Comparaison avec le condyle controlatéral. ⁽²¹⁸⁾

L'ingéniosité des chercheurs n'a pas de limite en ce qui concerne les thérapies régénératives. Beaucoup de protocoles décrivent des techniques de fabrication de « scaffolds », imprégnés de cellules et de facteurs de croissance dans le but de les greffer dans les sites lésés. Pourtant une autre piste serait envisageable : celle de « faire travailler » les CSMs *in vitro* dans le but d'obtenir *ex vivo* le tissu à greffer. Certains scientifiques imaginent déjà d'employer cette technique avec les progéniteurs pulpaire (DPSCs) puisqu'ils possèdent la capacité de se différencier en ostéoblastes ⁽⁴²⁾.

Les études réalisées chez l'animal montrent souvent des résultats extraordinaires. Il est toutefois très difficile d'extrapoler ces études à nos patients surtout lorsqu'ils sont porteurs de polypathologies, de polymédications et ont des comportements addictifs modifiant l'environnement tissulaire (tabac, alcool...).

3.4 Aspects légaux

En France, comme dans d'autres pays développés dans lesquels les chercheurs travaillent sur la thérapie cellulaire, il existe une législation concernant l'utilisation et la manipulation des cellules. En effet, certains types de cellules (surtout les cellules souches embryonnaires) suscitent beaucoup d'interrogations et de questions de nature éthique. L'utilisation et la recherche sur les cellules progénitrices adultes posent peu de problèmes éthiques et sont donc autorisées par la loi.

Loi n°94-548 du 1er juillet 1994, relative au traitement des données nominatives ayant pour fin la recherche dans le domaine de la santé et modifiant la loi n°78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés.

- constitution d'un comité pour chaque demande d'expérimentation pour juger de la méthodologie de l'étude et de la nécessité du recours à des données nominatives, codées par la suite ⁽³⁹⁹⁾ ;

Loi Huriet-Sérusclat (n°88-1138 du 20 décembre 1988) relative à la protection des personnes se prêtant à des recherches biomédicales modifiée par la loi n°94-630 du 25 juillet 1994.

- identification du promoteur de la recherche et des ses responsabilités ;
- définition des objectifs et des risques par les laboratoires ;
- obtention d'un consentement libre et éclairé du sujet ;
- droit à la personne participant à l'étude de s'en retirer à tout moment ⁽³⁹⁹⁾ ;

Loi du 29 juillet 1994 relative au respect du corps humain.

- « il ne peut être porté atteinte à l'intégrité du corps humain qu'en cas de nécessité thérapeutique pour la personne » ;
- pas d'autorisation d'utilisation des cellules souches embryonnaires à des fins thérapeutiques ou de recherches ;
- « nul ne peut porter atteinte à l'intégrité de l'espèce humaine. Toute pratique eugénique tendant à l'organisation de la sélection des personnes est interdite. Sans préjudice des recherches tendant à la prévention et aux traitements des maladies génétiques, aucune transformation ne peut être apportée aux caractères génétiques dans le but de modifier la descendance de la personne » ⁽³⁹⁹⁾ .

Loi n°96-452 du 28 mai 1996 portant diverses mesures d'ordre sanitaire, social et statutaire.

- définition du statut « thérapeutique » des produits de thérapies géniques et cellulaires ;
- procédure d'autorisation agréée par l'Agence du médicament ou par le Ministre de la santé ⁽³⁹⁹⁾ ;

Loi n°2004-800 du 6 août 2004 relative à la bioéthique.

- autorisation d'établissement (accordée pour 5 ans, renouvelable) : « peuvent assurer la préparation, la conservation, la distribution et la cession, à des fins thérapeutiques autologues ou allogéniques, des tissus et de leurs dérivées 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 française de sécurité sanitaire des produits de santé qui s'assure du respect des dispositions du titre Ier du présent livre » ;
- autorisation de procédés : « les tissus ainsi que leurs dérivés utilisés à des fins thérapeutiques et les préparations de thérapie cellulaire font l'objet d'une autorisation de l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé après évaluation de leurs procédés de préparation et de conservation ainsi que de leurs indications thérapeutiques aient été bien définis ;
- bonnes pratiques : « les règles de bonnes pratiques qui s'appliquent au prélèvement, à la préparation, à la conservation, au transport et à l'utilisation des tissus, des cellules et des préparations de thérapie cellulaire ainsi que des produits du corps humain utilisés à des fins thérapeutiques sont élaborées par l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé après avis de l'Agence de la biomédecine ;
- révision de la Loi du 1994 nuance l'interdiction totale d'utilisation des cellules souches embryonnaires, en permettant certaines dérogations d'utilisation des embryons surnuméraires de fécondations in vitro, avec l'accord des géniteurs ⁽³⁹⁹⁾.

L'Agence de biomédecine a été créée le 5 mai 2005 pour garantir un choix sélectif des projets choisis et des dérogations accordées, ces dernières n'étant accordées que dans des cas particuliers visant à « permettre des progrès thérapeutiques majeurs » et surtout à ne pas remplacer une « méthode alternative d'efficacité comparable ». En parallèle, le gouvernement français a signé un décret permettant l'importation de cellules souches embryonnaires, sensée faciliter le travail des chercheurs et assurer une solution transitoire en attendant un débat plus décisif sur la question.

Décret n°2008-968 du 16 septembre 2008, relatif aux conditions d'autorisation des activités portant sur les tissus et leurs dérivés, les préparations de thérapie cellulaire, de thérapie génique et de thérapie cellulaire xénogénique, et aux conditions d'autorisation de ces produits ⁽³⁹⁹⁾.

Il existe également des directives européennes qui tentent d'établir les 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 ⁽³⁹⁸⁾.

Le sang du cordon ombilical constitue une source intéressante des cellules souches et peut être stocké dans des « bio-banques ». La collecte et la conservation de sang de cordon sont organisées par le Réseau français de sang placentaire (RFSP) composé de

l'Établissement français du sang (EFS) et de l'Agence française de biomédecine (ABM). Il existe dans le monde - surtout dans les pays anglo-saxons – les bio-banques qui sont des établissements privés. Leur implantation en Europe est strictement interdite pour le moment. Cependant le prélèvement de sang de cordon est autorisé. Le sang est ensuite expédié à l'étranger, où les cellules souches isolées sont stockées. En France, les bio-banques privés sont interdits ⁽³⁹⁷⁾.

Actuellement la recherche en thérapie cellulaire en France se trouve ralentie par le flou éthique et législatif, mais aussi par les nombreuses étapes administratives à « subir » avant de pouvoir faire aboutir un projet viable de recherche. Certains patients pratiquent le « tourisme des cellules souches » dans les pays où la législation est moins stricte (voire inexistante), comme l'Inde ou le Mexique, afin de recevoir des traitements de thérapie cellulaire. Cela présente de nombreux risques et aboutit parfois à des échecs thérapeutiques ou à des graves complications. Il faut dire que les enjeux dépassent les cadres scientifique, juridique et éthique: ils concernent aussi les domaines industriel et économique. L'utilité des cellules souches ne se limite pas aux espoirs thérapeutiques – elles pourraient devenir le noyau d'un marché fructueux. Si la France doit ajuster son dispositif législatif en fonction de son histoire, de ses héritages et des aspirations de la société, elle ne peut écarter les dimensions économique et internationale.

4. RECONSTRUIRE UNE DENT GRACE AUX CSMs ?

Voici le challenge des scientifiques à l'imagination la plus audacieuse : fabriquer dans des conditions *in vitro* une dent ou un germe dentaire afin de la ré-implanter dans la cavité buccale d'un patient et ainsi, remplacer une dent manquante.

La formation d'un germe dentaire entier exigerait une récapitulation complète du processus de développement odontogène, nécessitant la présence de cellules compétentes épithéliales et ecto-mésenchymateuses ⁽¹⁵⁷⁾. Un tel défi semble difficile à relever. Jusqu'à présent, on n'a pas identifié de cellule adulte capable d'initier l'odontogenèse, comme le font l'ectoderme stomodéal et les cellules des crêtes neurales céphaliques ⁽¹⁸⁴⁾.

Pourtant dans le domaine de l'hépatologie, de la cardiologie et de l'ophtalmologie, les chercheurs ont déjà réussi à développer des matrices tri-dimensionnelles qui se composent d'un seul type cellulaire et des matériaux biodégradables. Ils ont été réimplantés avec succès dans des organes défaillants ^{(251), (230), (257)}. On pourrait donc imaginer l'élaboration d'un « organe bio-artificiel » grâce à l'ingénierie tissulaire – un assemblage des cellules progénitrices d'origines différentes, des matériaux de support tri-dimensionnels et des molécules bioactives adéquates. De nombreuses tentatives ont été menées dans les années 2000. Elles ont abouti le plus souvent à la formation des tissus dentaires plus ou moins organisés ^{(380), (88), (87)}, qui présentaient des déficiences anatomiques importantes.

C'est en 2009 que l'équipe d'Ikeda et coll. ⁽¹⁵⁷⁾ a réussi de fabriquer *in vitro* un germe dentaire dans un modèle animal de souris, en utilisant les CSMs et les cellules épithéliales prélevées dans les bourgeons dentaires. Après une mise en culture cellulaire pendant 7 jours, le germe néo-formé a été réimplanté dans une alvéole vide de souris. La dent bio-artificielle a fait son éruption dans l'environnement buccal et possédait une structure correcte, mais surtout elle était fonctionnelle, en occlusion. Elle répondait également aux stimuli mécaniques (Figure 33).

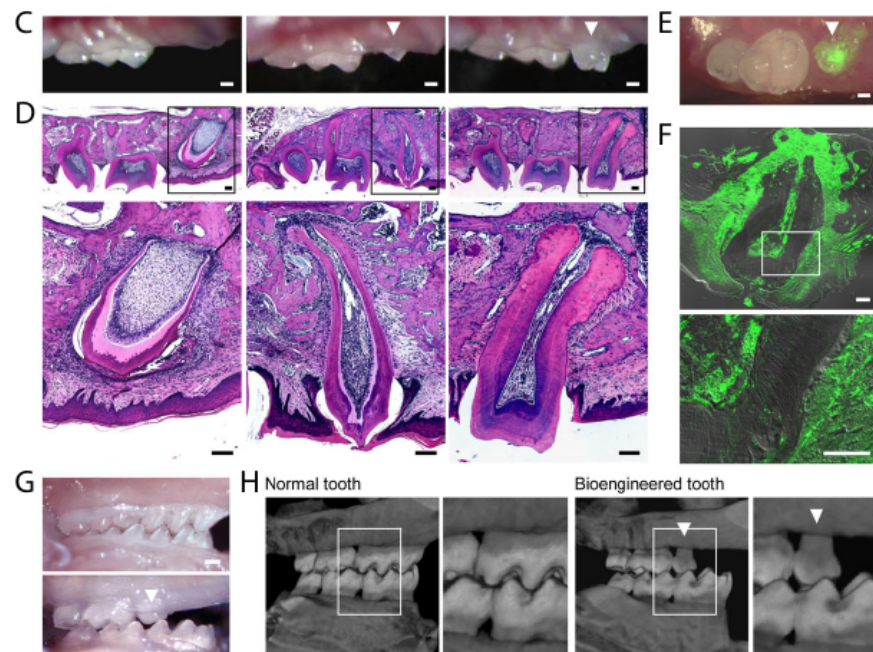


Figure 33 : « Dent bio-artificielle » chez la souris d'Ikeda et coll.(157) : (C) Photographies pendant l'éruption de la dent. (D) Images histologiques. (E,F) Marquage des cellules mésenchymateuses avec une protéine fluorescente. (G,H) Photographies et radiographies en 3D de la dent en occlusion.

Cette expérience révèle des résultats surprenants et très encourageants pour la recherche. Ce qui paraissait aux yeux de certains esprits sceptiques comme fantaisiste et inimaginable, s'avère aujourd'hui tout à fait atteignable dans un avenir peut être pas si lointain...

Avec un tel accroissement des technologies liées à l'utilisation des cellules stromales mésenchymateuses, nous pouvons imaginer un futur où la profession de chirurgien dentiste évoluerait vers une pratique où le praticien aurait à sa disposition tous les moyens pour pouvoir régénérer la dent de son patient. Nos cabinets pourraient devenir des véritables banques de cellules souches utilisables en thérapie cellulaire. De nos jours, la décision d'avulser une dent est une décision grave, car nous connaissons bien les inconvénients des prothèses - la dent naturelle nous paraît irremplaçable. Ces nouvelles pratiques pourraient même rendre complètement obsolètes nos thérapeutiques actuelles : plus question de prothèse artificielle ni d'interventions mutilantes. Comment alors changerait la perception collective de notre métier et l'image que tout un chacun se fait de ses dents ? Le patient serait-il alors plus sensible à la prévention ou au contraire, encore plus négligeant se sentant garanti de pouvoir vivre l'éternel retour à neuf ?

Et finalement cette désignation « d'arracheurs de dents » qui nous colle à la peau depuis l'antiquité, nous suivra-t-elle indéfiniment ? En théorie oui, car il faudra bien toujours extraire pour pouvoir implanter...

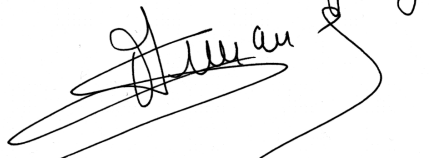
CONCLUSION

Les cellules stromales mésenchymateuses (CSMs) sont présentes dans les conjonctifs de l'ensemble de l'organisme, dont la cavité orale. Elles possèdent les caractéristiques des cellules multipotentes - l'auto-renouvellement et la différenciation, principalement vers les lignées mésodermiques, ainsi que d'autres propriétés particulièrement intéressantes, comme l'immuno-modulation et les effets trophiques. Des études *in vivo* ont démontré leur grand potentiel dans la régénération des tissus oraux (complexe pulpo-dentinaire, parodonte, os...) et même des structures squelettiques crânio-faciales.

En odontologie, les CSMs d'origine orale, en particulier d'origine pulpaire, folliculaire et desmodontale, sont considérées comme des candidates naturelles à la régénération, compte tenu de leur origine embryologique commune avec les structures à restaurer. De plus, la relative fréquence d'avulsion de dents retenues et de germes pour raisons orthodontiques autorisent à envisager des protocoles de greffes autologues basés sur leur récupération, culture et mise en réserve. Toutefois, les sources extra-orales de CSMs, surtout le tissu adipeux, pourraient constituer une bonne alternative aux prélèvements d'origine dentaire.

Les thérapies basées sur l'utilisation des CSMs en médecine régénérative, notamment en cardiologie, suscitent l'enthousiasme dans la communauté scientifique. Il convient cependant de rester prudent quant aux succès attendus et aux éventuels effets indésirables à long terme. Au niveau de la cavité orale, des protocoles et des résultats prometteurs ont été publiés chez l'animal. Néanmoins, comme pour toutes nouvelles technologies, les questions surgissent plus vite que les réponses et la transposition des protocoles de l'animal à l'homme se heurte à de nombreux obstacles : le système de délivrance approprié, le choix de la source cellulaire optimale, l'allogreffe, ainsi que le devenir et le comportement des cellules greffées à long terme. La recherche a donc encore besoin de temps pour assurer l'odontologiste de l'innocuité et de l'efficacité de la thérapie cellulaire dans son quotidien.

Grâce ces nouvelles perspectives, notre métier pourrait connaître une véritable révolution. Le chirurgien dentiste pourrait exploiter les dents avulsées qui ne seraient plus considérées comme des déchets médicaux, mais comme des sources potentielles de cellules progénitrices. Et même, dès lors que l'on restaurerait un tissu oral chez l'homme, pourquoi ne pas imaginer le rendre plus résistant aux agressions que les structures originelles ? Bientôt une troisième dentition chez l'homme ?

Vu le
Président du jury


Le Directeur de thèse
Ph. Kéroac


ICONOGRAPHIE

- Figure 1 :** Propriétés d'une cellule souche
Source : (413)
- Figure 2 :** Cellules souches embryonnaires
Source : (412)
- Figure 3 :** iPSc humaine créée à partir d'une cellule de la peau
Source : (412)
- Figure 4 :** CSMs humaines en microscopie à fluorescence
Source : (409)
- Figure 5 :** CSMs humaines en microscopie à fluorescence
Source : (409)
- Figure 6 :** Différenciation des CSMs
Source : (408)
- Figure 7 :** CSMs de la moelle osseuse de rat
Source : (405)
- Figure 8 :** CSMs du tissu adipeux
Source : (404)
- Figure 9 :** Schéma simplifié de l'odontogenèse
Source : (259)
- Figure 10 :** Cellules stromales mésenchymateuses orales
Source : (94)
- Figure 11 :** Progéniteurs mésenchymateux pulpaire (11ème jour de culture)
Source : (409)
- Figure 12 :** Formation du complexe pulpo-dentinaire par les DPSCs transplantées chez la souris
Source : (21)
- Figure 13 :** Localisation de la partie apicale de la papille primitive d'une dent extraite immature
Source : (153)
- Figure 14 :** Formation d'un tissu assimilé au ciment et des fibres collagéniques chez la souris immuno-déficiente par les PDLSCs
Source : (312)
- Figure 15 :** La « dent hybride » de Sonoyama et coll.
Source : (325)
- Figure 16 :** Analyse histologique de la transplantation des SHEDs sur un support d'hydroxyapatite/phosphate tricalcique (HA) au niveau des lésions osseuses de la calvaria chez la souris immuno-déficiente
Source : (313)
- Figure 17 :** Photographies cliniques de la technique de récupération d'os alvéolaire lors d'une ostéotomie implantaire avec un foret récupérateur d'os
Source : (263)
- Figure 18 :** Genèse des iPSc à partir du tissu gingival
Source : (93)
- Figure 19 :** Dynamique de la cicatrisation dans l'exemple d'une lésion infra-osseuse parodontale
Source : (362)
- Figure 20 :** Schéma simplifié de l'ingénierie tissulaire
- Figure 21 :** Stratégie actuelle dans l'ingénierie tissulaire
Source : (91)

- Figure 22 :** Schéma de la transplantation des CSMs médullaires dans le muscle cardiaque
Source : (401)
- Figure 23 :** Image histologique du résultat d'un coiffage pulpaire directe avec du MTA
Source : (101)
- Figure 24 :** Cas clinique de l'apexification d'une 35 immature et nécrosée chez un garçon de 12 ans
Source : (174)
- Figure 25 :** Coupe histologique d'une nouvelle attache parodontale
Source : (98)
- Figure 26 :** Cas clinique de la régénération parodontale avec une technique mixte (autogreffe osseuse + GEM21S)
Source : (287)
- Figure 27 :** Cas clinique de la régénération parodontale d'une lésion infra-osseuse à trois parois avec l'Emdogain®
Source : (287)
- Figure 28 :** Résultats de l'étude de Park et coll. en imagerie 3D
Source : (265)
- Figure 29 :** Evaluation clinique et radiologique des 2 cas de Feng et coll.
Source : (108)
- Figure 30 :** Photographies illustrant la résorption alvéolaire
Source : (94)
- Figure 31 :** Photographies du cas clinique de Yamada et coll.
Source : (373)
- Figure 32 :** Conception et fabrication du condyle bio-artificiel chez le cochon miniature
Source : (218)
- Figure 33 :** Dent bio-artificielle chez la souris d'Ikeda et coll.
Source : (157)
-
- Tableau 1 :** Critères minimaux des CSMs selon ISCT
Source : (155)
- Tableau 2 :** Caractéristiques in vitro des CSMs orales
Source : (94)
- Tableau 3 :** Sources orales et extra-orales des CSMs proposées pour l'utilisation en odontologie
Source : (94)
- Tableau 4 :** Types de greffes cellulaires
- Tableau 5 :** Avantages, inconvénients et applications cliniques potentielles des CSMs
Source : (155), (94)
- Tableau 6 :** Synthèse des résultats de l'analyse de Koop et coll.
Source : (183)
- Tableau 7 :** Facteurs de croissance utilisés en régénération parodontale
Source : (287)
- Tableau 8 :** Synthèse des études concernant la thérapie cellulaire en régénération parodontale
- Tableau 9 :** Techniques actuelles d'augmentation du volume osseux alvéolaire

BIBLIOGRAPHIE

1. Abe S, Yamagouchi S, Amagasa T. Multilineage cells from apical pulp of human tooth with immature apex. *Oral science international* 2007 ; **4** : 45-48
2. Akiyama K, Chen C, Gronthos S, Shi S. Lineage differentiation of mesenchymal stem cells from dental pulp, apical papilla and periodontal ligament. *Methods in molecular biology* 2012 ; **887** : 111-121
3. Al-Khaldi A, Al-Sabti H, Galipeau J, Lachepelle K. Therapeutic angiogenesis using autologous bone marrow stromal cells : improved blood flow in a chronic limb ischemia model. *The annals of thoracic surgery* 2003 ; **75** : 204-209
4. AlGhamdi AS, Shibly O, Ciancio SG. Osseous grafting part I.autografts and allografts for periodontal regeneration : a litterature review. *Journal of the International Academy of Periodontology* 2010 ; **12** : 34-38
5. Allison MR, Poulsom R, Forbes S, Wright NA. An introduction to stem cells. *The Journal of Pathology* 2002 ; **197** : 419-423
6. Almushayt A, Narayanan K, Zaki AE, George I. Dentin matrix protein 1 induces cytodifferentiation of dental pulp stem cells into odontoblastes. *Gene Therapy* 2006 ; **13** : 611-620
7. Alviano F, Fossati V, Marchionni C, Arpinati M, Bonsi L, Franchina M et al. Term amniotic membrane is a high throughput source for multipotent mesenchymal stem cells with the ability to differentiate into endothelial cells in vitro. *BMC developmental biology* 2007 ; **7** : 11
8. Amabile G, Meissner A. Induced pluripotent stem cells : current progress and potential for regenerative medicine. *Trends in molecular medicine* 2009 ; **15** : 59-68
9. Amann B, Ludemann C, Ratei R, Schmidt-Lucke JA. Autologous bone marrow stem cell transplantation for induction of arteriogenesis for limb salvage in critical limb ischaemia. *Zentralblatt fur chirurgie* 2009 ; **134** : 298-304
10. Ankrum J, Karp JM. Mesenchymal stem cell therapy : two steps forward, one step back. *Trends in molecular medicine* 2010 ; **16** : 203-209
11. Arana-Chavez VE, Massa LF. Odontoblasts : the cells forming and maintainting dentine.. *International journal of biochemistry and cellular biology* 2004 ; **36** : 1367-1373
12. Arien-Zakay H, Lazarovici P, Nagler A. Tissue regeneration potential in human umbilical cord blood. *Best Practice Research in Clinical Haematology* 2010 ; **23** : 291-303
13. Ateschrang A, Ochs BG, Ludemann M, Weise K, Albercht D. Fibula and tibia fusion with cancellous allograft vitalised with autologous bone marrow : first results for infected tibial non-union. *Archives of orthopaedic and trauma surgery* 2009 ; **129** : 97-104
14. Atkinson S, Armstrong L. Epigenetics in embryonic stem cells : regulation of pluripotency and differentiation. *Cell and Tissue Research* 2008 ; **331** : 23-29
15. Bajada S, HArrison PE, Ashton BA, Cassar-Pullicino VN, Ashammakhi N et al. Successful treatment of refractory tibial nonunion using calcium sulfate and bone marrow stromal cell implantation. *Journal of bone and joint surgery* 2007 ; **89** : 1382-1386
16. Bakland LK, Andreasen JO. Will mineral trioxide aggregate replace calcium hydroxide in treating pulpal and periodontal healing complications subsequent to dental trauma? A review. *Dental traumatology* 2012 ; **28** : 25-32
17. Bakopoulou A, Leyhausen G, Volk J, Tsiftoglou A, Garefis P, Koidis P et a. Comparative analysis of in vitro osteo/odontogenic differentiation potential of human dental pulp stem cells (DPSCs) and stem cells from the apical papilla (SCAPs). *Archives of Oral Biology* 2011 ; **56** : 709-721

18. Baksh D, Song L, Tuan RS. Adult mesenchymal stem cells : characterization, differentiation and application in cell and gene therapy. *Cellular and molecular medicine* 2004 ; **8** : 301-316
19. 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* 2003 ; **108** : 863-868
20. Bartold PM, McCulloch CA, Narayanan AS, Pitaru S. Tissue engineering : a new paradigm for periodontal regeneration based on molecular and cell biology. *Periodontology* 2000 2000 ; **24** : 253-269
21. Batouli S, Miura M, Brahim J, Tsutsui TW, Fisher LW, Gronthos et al. Comparison of stem-cell-mediated osteogenesis and dentinogenesis.. *Journal of Dental Research* 2003 ; **82** : 976-981
22. Bergenholtz G, Mjor IA, Cotton WR, Hanks CT, Kim S, Torneck CD et al. The biology of dentin and pulp. Consensus report. *Journal of Dental Research* 1985 ; **64** : 631-633
23. Bianco P, Riminucci M, Gronthos S, Robey PG. Bone marrow stromal cells : nature, biology and potential applications. *Stem cells* 2001 ; **19** : 180-192
24. Bianco P, Robey PG, Simmons PJ. Mesenchymal stem cells: revisiting history, concepts, and assays. *Cell Stem Cell* 2008 ; **10** : 313-319
25. Bieback K, Kern S, Kluter H, Eicher H. Critical parameters for the isolation of mesenchymal stem cells from umbilical cord blood. *Stem cells* 2003 ; **22** : 625-634
26. Bluteau G, Luder HU, De Bari C, Mitsiadis TA. Stem cells for tooth engineering. *European Cells and Materials* 2008 ; **16** : 1-9
27. Bogen G, Kim JS, Bakland LK. Direct pulp capping with mineral trioxide aggregate: an observational study. *Journal of the american dental association* 2008 ; **139** : 305-315
28. Bongso A, Richards M. History and perspective of stem cell research. *Best practice & research*. 2004 ; **18** : 827-842
29. Bouffi C, Djouad F, Mathieu M, Noel D, Jorgensen C. Multipotent mesenchymal stromal cells and rheumatoid arthritis : risk or benefit?. *Rheumatology* 2009 ; **48** : 1185-1189
30. Bratthall G, Soderholm G, Neiderund AM, Kullendorff B, Edwardsson S et al. Guided tissue regeneration in the treatment of human infrabony defects.Clinical, radiographical and microbiological results : a pilot study. *Journal of clinical periodontology* 1998 ; **25** : 908-914
31. Brooke G, Tong H, Levesque JP, Atkinson K. Molecular trafficking mechanisms of multipotent mesenchymal stem cells derived from human bone marrow and placenta. *Stem cell development* 2008 ; **17** : 929-940
32. Browaeys H, Bouvery P, De Bruyn H. A literature review on biomaterials in sinus augmentation procedures. *Clinical implant dentistry and related research* 2007 ; **9** : 166-177
33. Bruder SP, Jaiswal N, Haynesworth SE. Growth kinetics, self-renewal and the osteogenic potential of purified human mesenchymal stem cells during extensive subcultivation and following cryopreservation. *Journal of cellular biochemistry* 1997 ; **64** : 278-294
34. Bruens ML, Pieterman H, De Wijn JR, Vaanderager JM. Porous polymethylmethacrylate as bone substitute in the craniofacial area. *Journal of craniofacial surgery* 2003 ; **14** : 63-68
35. Bülend I, Murat E. Stem cells in tooth tissue regeneration - challenges and limitation. *Stem Cells Reviews and Reports* 2011 ; **7** : 683-692
36. Bullard KM, Longaker MT, Lorenz HP. Fetal wound healing : current biology. *World*

- journal of surgery* 2003 ; **27** : 54-61
37. Burchfield JS, Dimmeler S. Role of paracrine factors in stem and progenitor cell mediated cardiac repair and tissue fibrosis. *Fibrogenesis tissue repair* 2008 ; **1** : 1-11
 38. Caplan AI. Why are MSCs therapeutic? New data : new insight. *The journal of pathology* 2009 ; **217** : 318-324
 39. Caplan AI. Adult mesenchymal stem cells for tissue engineering versus regenerative medicine. *Journal of Cellular Physiology* 2007 ; **213** : 341-347
 40. Caplan AI. Mesenchymal stem cells. *Journal of orthopaedic research* 1991 ; **9** : 641-650
 41. Caplan AI, Dennis JE. Mesenchymal stem cells as trophic mediators. *Journal of cellular biochemistry* 2006 ; **98** : 1076-1084
 42. Carinci F, Pappacio G, Laino G, Palmieri A, Brunelli G, D'Acquino R et al. Comparison between genetic portraits of osteoblasts derived from primary cultures and osteoblasts obtained from human pulpar stem cells. *Journal of craniofacial surgery* 2008 ; **19** : 616-625
 43. Cehreli ZC, Sara S, Askoy B. Revascularization of immature permanent incisors after severe extrusive luxation injury. *Journal (Canadian Dental Association)* 2012 ; **78** : c4
 44. Chamberlain J, Yamagami T, Colletti E, Theise ND, Desai J, Frias A et al. Efficient generation of human hepatocytes by the intrahepatic delivery of clonal human mesenchymal stem cells in fetal sheep. *Hepatology* 2007 ; **46** : 1935-1945
 45. Chang YJ, Hwang SM, Tseng CP, Cheng FC, Huang SH, Hsu LF et al. Isolation of mesenchymal stem cells with neurogenic potential from the mesoderm of the amniotic membrane. *Cells tissues and organs* 2010 ; **192** : 93-105
 46. Chapel A, Bertho JM, Bensiodhoum M, Fouillard L, Young RG, Frick J et al. Mesenchymal stem cells home to injured tissues when co-infused with hematopoietic cells to treat a radiation-induced multi-organ failure syndrome. *Journal of gene medicine* 2003 ; **5** : 1028-1038
 47. Chavakis E, Urbich C, Dimmeler S. Homing and engraftment of progenitor cells: a prerequisite for cell therapy. *Journal of molecular and cellular cardiology* 2008 ; **45** : 514-522
 48. Chen FH, Tuan RS. Mesenchymal stem cells in arthritic diseases. *Arthritis research and therapeutics* 2008 ; **10** : 223
 49. Chen YL, Chen PK, Jeng LB, Huang CS, Yang LC, Chung HY et al. Periodontal regeneration using ex vivo autologous stem cells engineered to express the BMP-2 gene : an alternative to alveoloplasty. *Gene Therapy* 2008 ; **15** : 1469-1477
 50. Chin SP, Poey AC, Wong CY, Chang SK, Teh W, Mohr TJ et al. Cryopreserved mesenchymal stromal cell treatment is safe and feasible for severe dilated ischemic cardiomyopathy. *Cytotherapy* 2010 ; **12** : 31-37
 51. Cho GW, Koh SH, Kim MH, Yoo AR, Noh MY, Oh S et al. The neuroprotective effect of erythropoietin-transduced human mesenchymal stromal cells in an animal model of ischemic stroke. *Brain research* 2010 ; **1353** : 1-13
 52. Cho MI, Garant PR. Development and general structure of the periodontium. *Periodontology* 2000 2000 ; **24** : 9-27
 53. Choi MR, Kim HY, Park JY, Lee TY, Baik CS, Chai YG et al. Selection of optimal passage of bone marrow-derived mesenchymal stem cells for stem cell therapy in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Neuroscience* 2010 ; **472** : 94-98
 54. Chueh LH, Ho YC, Kuo JC et al. Regenerative endodontic treatment for necrotic permanent immature teeth. *Journal of endodontics* 2009 ; **35** : 160-164

55. Chueh LH, Huang GT. Immature teeth with periradicular periodontitis or abscess undergoing apexogenesis : a paradigm shift. *Journal of endodontics* 2006 ; **32** : 1205-1213
56. Chung IH, Yamaza T, Zhao H, Choung PH, Shi S, Chai Y. Stem cell property of postmigratory cranial neural crest cells and their utility in alveolar bone regeneration and tooth development. *Stem Cells* 2009 ; **27** : 866-877
57. Cicconetti A, Sacchetti B, Bartoli A, Michienzi S, Corsi A, Funari A et al. Human maxillary tuberosity and jaw periosteum as sources of osteoprogenitor cells for tissue engineering. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology and endodontics* 2007 ; **104** : 618
58. Clark RA. Biology of dermal wound repair. *Dermatologic clinics* 1993 ; **11** : 647-666
59. Cohnheim J, Neue Untersuchungen über die Entzündung, 1873
60. Colter DC, Class R, Di Girolamo CM, prockop DJ. Rapid expansion of recycling stem cells in cultures of plastic-adherent cells from human bone marrow. *Processing of National Academy of Science USA* 2000 ; **97** : 3213-3218
61. Conboy IM, Conboy MJ, Wagers AJ et al. Rejuvenation of aged progenitor cells by exposure to a young systemic environment. *Nature* 2005 ; **433** : 760-764
62. Corcione A, Benvenuto F, Ferretti E, Giunti D, Cappiello V, Cazzanti F et al. Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions. *Blood* 2006 ; **107** : 367-372
63. 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. *Journal of endodontics* 2008 ; **34** : 962-969
64. Cowan CM, Shi YY, Aalami OO, Chou YF, Mari C, Thomas R et al. Adipose-derived adult stromal cells heal critical-size mouse calvarial defects. *Nature biotechnology* 2004 ; **22** : 560-567
65. Cox CE, Subay RK, Ostro E et al. Tunnel defects in dentin bridges : their formation following direct pulp capping. *Operative dentistry* 1997 ; **53** : 4-11
66. Cselenyak A, Pankotai E, Horvath 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 biology* 2010 ; **11** : 29
67. D'Acquino R, Graziano A, Sampaolesi M, Laino G, Pirozzi G, De Rosa A et al. Human postnatal dental pulp cells co-differentiate into osteoblasts and endotheliocytes : a pivotal synergy leading to adult bone tissue formation. *Cell death and differentiation* 2007 ; **14** : 1162-1171
68. D'Aquino R, De Rosa A, Laino G, Caruso F, Guida L, Rullo R et al. Human dental pulp stem cells : from biology to clinical applications. *Journal of experimental zoology* 2008 ; **15** : 408-415
69. Daley WP, Peters SB, Larsen M. Extracellular matrix dynamics in development and regenerative medicine. *Journal of cell science* 2008 ; **121** : 255-264
70. Das S, Bonaguidi M, Muro K, Kessler JA. Generation of embryonic stem cells: limitations of and alternatives to inner cell mass harvest. *Neurosurgical focus* 2008 ; **24** : E4
71. Degat MC, Ferreira E, Logeart-Avramogloui D. Use of growth factors in the repair of bone. *Pathologie-biologie* 2005 ; **53** : 131-141
72. Demarco FF, Conde MCM, Cavalcanti BN, Casagrande L, Sakai VT, Nör JE. Dental pulp tissue engineering. *Brazilian Dental Journal* 2011 ; **22** : 3-14
73. Dennis JE, Merriam A, Awadallah A, Yoo JU, Johnstone B, Caplan AI. A quadri-potential mesenchymal progenitor cell isolated from the marrow of an adult mouse. *Journal of bone*

mineralisation research 1999 ; **14** : 700-709

74. Dentino A, Lee S, Mailhot J, Hefti AF. Principles of periodontology. *Periodontology* 2000 2013 ; **61** : 16-53
75. Deshpande SS, Gallagher KK, Donneys A, Tchanque-Fossuo CN, Sarhaddi D, Sun H et al. Stem cell therapy remediates reconstruction of the craniofacial skeleton after radiation therapy. *Stem cells and development* 2013 ; **19** : XX
76. Di Nicola M, Carlo-Stella C, Magni M, Milanese M, Longoni PD, Matteucci P et al. Human bone marrow stromal cells suppress T-lymphocyte proliferation induced by cellular or nonspecific mitogenic stimuli. *Blood* 2002 ; **99** : 3838-3843
77. Diekwisch TG. The developmental biology of cementum. *International journal of developmental biology* 2001 ; **45** : 695-706
78. Dimitriou R, Mataliotakis GI, Calori GM, Giannoudis PV. The role of barrier membranes for guided bone regeneration and restauration of large bone defects : current experimental and clinical evidences. *BMC Medicine* 2012 ; **26** : 81
79. Ding G, Liu Y, Wang W, Wei F, Liu D, Fan Z et al. Allogenic periodontal ligament stem cell therapy for periodontitis in swine. *Stem cells* 2010 ; **28** : 1829-1838
80. Ding G, Wang W, Liu Y, An Y, Zhang C, Shi S et al. Effect of cryopreservation on biological and immunological properties of stem cells from apical papilla. *Journal of cellular physiology* 2010 ; **223** : 415-422
81. Ding G, Wang W, Liu Y, Zhang C, Wang S. Mesenchymal stem cell transplantation: a potential therapy for oral lichen planus. *Medical hypotheses* 2010 ; **76** : 322-324
82. Ding RY, Cheung GSP, Chen J et al. Pulp revascularization of immature teeth with apical periodontitis : a clinical study. *Journal of endodontics* 2009 ; **35** : 745-749
83. Djouad F, Charbonnier LM, Bouffi C, Louis-Plence P, Bony C, Apparailly F et al. Mesenchymal stem cells inhibit the differentiation of dendritic cells through an interleukin-6-dependant mechanism. *Stem cells* 2007 ; **25** : 2025-2032
84. 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** : 315-317
85. Du YY, Zhou SH, Zhou T, Su H, Pan HW, Du WH et al. Immuno-inflammatory regulation effect of mesenchymal stem cell transplantation in a rat model of myocardial infarction. *Cytotherapy* 2008 ; **10** : 469-478
86. Duailibi MT, Duailibi SE, Young CS, Bartlett JD, Vacanti JP, Yelick PC. Bioengineered teeth from cultured rat tooth bud cells. *Journal of Dental Research* 2004 ; **83** : 523-528
87. Duailibi SE, Duailibi MT, Zhang W, Asrican R, Vacanti JP, Yelick PC. Bioengineered dental tissues grown in the rat jaw. *Journal of dental research* 2008 ; **87** : 745-750
88. Dualibi SE, Dualibi MT, Vacanti JP, Yelick PC. Prospects for tooth regeneration. *Periodontology 2000* 2006 ; **41** : 177-187
89. Duan X, Tu Q, Zhang J, Ye J, Sommer C, Mostoslavsky G et al. Application of induced pluripotent stem cells (iPS) in periodontal tissue regeneration. *Journal of cellular physiology* 2011 ; **226** : 150-157
90. Durand MT, Romeas A, Couble ML, Langlois D, Li JY, Magloire H et al. Expression of the TGF-beta/BMP ingibitor EVI1 in human dental pulp cells. *Archives of Oral Biology* 2007 ; **52** : 712-717
91. Dvir T, Timko BP, Kohane DS, Langer R. Nanotechnological strategies for engineering complex tissues. *Nature nanotechnology* 2011 ; **6** : 13-22

92. Egusa H. iPS cells in dentistry. *Clinical calcium* 2012 ; **22** : 67-73
93. Egusa H, Okita K, Kayashima H, Yu G, Fukuyasu S, Saeki M et al. Gingival fibroblasts as a promising source of induced pluripotent stem cells. *PloS One* 2010 ; **5** : e12743
94. Egusa H, Sonoyama W, Nishimura M, Atsuta I, Akiyama K. Stem cells in dentistry - Part I: Stem cell sources. *Journal of prosthodontic research* 2012 ; **56** : 151-165
95. Einstein O, Friedman-Levy Y, Grigoriadis N, Ben-Hur T. Transplanted neural precursors enhance host brain-derived myelin regeneration. *Journal of neuroscience* 2009 ; **29** : 15694-15702
96. El-Backly RM, Massoud AG, El-Badry AM, Sherif RA, Marei MK. Regeneration of dentine/pulp-like tissue using a dental pulp stem cell/poly (lactic-co-glycolic) acid scaffold construct in New Zealand white rabbits. *Australian Endodontics Journal* 2008 ; **34** : 52-67
97. El-Sayed KM, Paris S, Becker S, Kassem N, Ungefforen H, Fandrich F et al. Isolation and characterization of multipotent postnatal stem/progenitor cells from human alveolar bone proper. *Journal of cranio-maxillo-facial surgery* 2012 ; **40** : 735-742
98. Elharar F, Rodriguez HJ, Benqué EP, Caffesse RG. Guided tissue regeneration with bioabsorbable and expanded polytetrafluoroethylene barrier membranes in the treatment of naturally occurring periodontal defects in dogs. *Journal of periodontology* 1998 ; **69** : 1218-1228
99. English K. Mechanisms of mesenchymal stromal cells immunomodulation. *Immunology and cell biology* 2012 ; **23** : 1038
100. Erices A, Conget P, Minguell JJ. Mesenchymal progenitor cells in human umbilical cord blood. *British journal of haematology* 2000 ; **109** : 235-242
101. Eskandarizadeh A, Shahpasandzadeh MH, Shahpasandzadeh M, Torabi M et al. A comparative study on dental pulp response to calcium hydroxyde, white and grey mineral trioxide aggregate as pulp capping agents. *Journal of conservative dentistry* 2011 ; **14** : 351-355
102. Esposito M, Grusovin MG, Felice P et al. Interventions for replacing missing teeth: horizontal and vertical bone augmentation techniques for dental implant treatment. *Cochrane database of systematic reviews* 2009 ; **4** : CD003607
103. Esposito M, Grusovin MG, Papanikolaou N, Coulthard P, Worthington HV. Enamel matrix derivative (Emdogain) for periodontal tissue regeneration in infrabony defects. *Cochrane database of systematic reviews* 2009 ; **7** : CD003875
104. Estrela C, Goncalves de Alencar AH, Kitten GT, Vencio EF, Gava E. Mesenchymal stem cells in the dental tissues: perspectives for tissue regeneration. *Brazilian Dental Journal* 2011 ; **22** : 91-98
105. Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature* 1981 ; **292** : 154-156
106. Faraco IM Jr, Holland R. Response of the pulp of dogs to capping with mineral trioxide aggregate or calcium hydroxide cement. *Dental traumatology* 2001 ; **17** : 163-166
107. Farsi N, Alamoudi N, Balto K et al. A clinical assessment of mineral trioxide aggregate (MTA) as direct pulp capping in young permanent teeth. *Journal of clinical pediatric dentistry* 2006 ; **31** : 72-76
108. Feng F, Akiyama K, Liu Y, Yamaza T, Wang TM, Chen JH et al. Utility of PDL progenitors for in vivo tissue regeneration: a report of 3 cases. *Oral diseases* 2010 ; **16** : 20-28
109. Fiorina P, Jurewicz M, Augello A, Vergani A, Dada S, La Rosa S et al. Immunomodulatory function of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in

- experimental autoimmune type 1 diabetes. *Journal of immunology* 2009 ; **183** : 993-1004
110. Fong CD, Davis MJ. Partial pulpotomy for immature permanent teeth, its present and future. *Pediatric dentistry* 2002 ; **24** : 29-32
 111. Forbes S, Vig P, Poulsom R, Thomas H, Alison M. Hepatic stem cells. *Journal of pathology* 2002 ; **197** : 510-518
 112. Fortier LA. Stem cells, classifications, controversies and clinical applications. *Veterinary Surgery* 2005 ; **34** : 415-423
 113. Fournier N, Doillon CJ. Biological molecule-impregnated poly-ster : an in vivo angiogenesis study. *Biomaterials* 1996 ; **17** : 1659-1665
 114. Friedenstein AJ, Chailakhyan RK, Gerasimov UV. Bone marrow osteogenic stem cells: in vitro cultivation and transplantation. *Cell and tissue kinetics* 1987 ; **20** : 263-272
 115. Friedenstein AJ, Owen M. Stromal Stem Cells : marrow-derived osteogenic precursors. *Ciba Foundation Symposium* 1988 ; **136** : 42-60
 116. Friedenstein AJ, Petrakova KV, Kurolesova AI, Frolova GP. Heterotropic of bone marrow. Analysis of precursor cells for osteogenic and hematopoietic tissues. *Transplantation* 1968 ; **6** : 230-247
 117. Galler KM, Cavender A, Yuwono V, Donc H, Shi S, Schmalz G et al. Self-assembling peptide amphiphile nonafibers as a scaffold for dental stem cells. *Tissue engineering Part A* 2008 ; **14** : 2051-2058
 118. Galler KM, D'Souza RN. Tissue engineering approaches for regenerative dentistry. *Regeberative Medicine* 2011 ; **6** : 111-124
 119. Gang EJ, Jeong JA, Hong SH, Hwang SH, Kim SW, Yang IH et al. Skeletal myogenic differentiation of mesenchymal stem cells isolated from umbilical cord blood. *Stem cells* 2004 ; **22** : 617-624
 120. Gay I, Chen S, MacDougall M. Isolation and characterization of multipotent human periodontal ligament stem cells. *Orthodontic and craniofacial research* 2007 ; **10** : 129-160
 121. Gebhardt M, Murray PE, Namerow KN, Kuttler S, Garcia-Godoy F. Cell survival within pulp and periodontal constructs. *Journal of Endodontics* 2009 ; **35** : 63-66
 122. Giannobile WV, Hernandez RA, Finkelman RD, Ryan S, Kiritsy CP, D'Andrea M et al. Comparative effects of platelet-derived growth factor-BB and insulin-like growth factor-I, individually and in combination on periodontal regeneration in *Macaca fascicularis*. *Journal of periodontal research* 1996 ; **31** : 301-312
 123. Giannobile WV, Lee CS, Tomala MP, Tejeda KM, Zhu Z. Platelet-derived growth factor (PDGF) gene delivery for application in periodontal tissue engineering. *Journal of periodontology* 2001 ; **72** : 815-823
 124. Gojo S, Gojo N, Takeda Y, Mori T, Abe H, Kyo S et al. In vivo cardiovascularogenesis by direct injection of isolated adult mesenchymal stem cells. *Experimental cell research* 2003 ; **288** : 51-59
 125. Gonshor A, McAllister BS, Wallace SS, Prasad H. Histologic and histomorphometric evaluation of an allograft stem cell-based matrix sinus augmentation procedure. *The international journal of oral and maxillofacial implants* 2011 ; **26** : 123-131
 126. Govindasamy V, Abdullah AN, Ronald VS, Musa S, Ab Aziz ZA, Zain RB et al. Inherent differential propensity of dental pulp stem cells derived from human deciduous and permanent teeth. *Journal of endodontics* 2010 ; **36** : 1504-1515
 127. Grandin HM, Gemperli AC, Dard M. Enamel matrix derivative : a review of cellular effects in vitro and a model of molecular arrangement and functioning. *Tissue engineering*

Part B 2012 ; **18** : 181-202

128. Grech L, Mallia B, Camilleri J. Investigation of the physical properties of tricalcium silicate cement-based root-end filling materials. *Dental materials* 2012 ; **27** : XX
129. Gronthos S, Brahim J, Li W, Fisher LW, Cherman N, Boyde A, Denbesten P et al. Stem cell properties of human dental pulp stem cells. *Journal of Dental Research* 2002 ; **81** : 531-535
130. Gronthos S, Mankani M, Brahim J, Robey PG, Shi S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proceeding of the National Academy of Sciences USA* 2000 ; **97** : 13625-13630
131. Gronthos S, Zannettino AC, Hay SJ, Shi S, Graves SE, Kortensidis A et al. Molecular and cellular characterisation of highly purified stromal stem cells derived from human bone marrow. *Journal of cellular science* 2003 ; **116** : 1827-1835
132. Gronthos S, Zannettino ACW, Graves SE, Ohta S, Hay SJ, Simmons PJ. Differential cell surface expression of the STRO-1 and alkaline phosphatase antigens on discrete developmental stages in primary cultures of human bone cells. *Journal of bone mineralisation research* 1999 ; **14** : 47-56
133. Guasch G. Epithelial stem cells in the skin. *Medecine science (Paris)* 2006 ; **22** : 710-712
134. Guilak F, Cohen DM, Estes BT, Gimple JM, Liedtke W, Chen CS. Control of stem cell fate by physical interactions with the extracellular matrix. *Cell stem cell* 2009 ; **5** : 17-26
135. Guo J, Lin GS, Bao CY, Hu ZM, Hu MY. Anti-inflammation role of mesenchymal stem cells transplantation in myocardial infarction. *Inflammation* 2007 ; **30** : 97-104
136. Gyorevski N, Nelson CM. Bidirectional extracellular matrix signalling during tissue morphogenesis. *Cytokine & growth factor reviews* 2009 ; **20** : 459-465
137. Hacking SA, Khademhosseini A. Applications of microscale technologies for regenerative dentistry. *Journal of Dental Research* 2009 ; **88** : 409-421
138. 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* 2002 ; **31** : 606-611
139. Hare JM, Traverse JH, Henry TD, Dib N, Strumpf RK, Schulman SP et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-escalation study of intravenous adult human mesenchymal stem cells (prochymal) after acute myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology* 2009 ; **54** : 2277-2286
140. Hayflick L, Moorhead PS. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Experimental cell research* 1961 ; **25** : 585-621
141. He H, Yu J, Lui Y, Lu S, Liu H, Shi J et al. Effects of FGF2 and TGF beta1 on the differentiation of human dental pulp stem cells in vitro. *Cell Biology International* 2008 ; **7** : 827-834
142. Hemmat S, Lieberman DM, Most SP. An introduction to stem cell biology. *Facial Plastic Surgery* 2010 ; **26** : 343-349
143. Hernandez-Alfaro F, Ruiz-Magaz V, Chatakun P, Guijarro-Martinez R. Mandibular reconstruction with tissue engineering in multiple recurrent ameloblastoma. *The international journal of periodontics and restorative dentistry* 2012 ; **32** : 82-86
144. Hernigou P, Poignard A, Manicom O, Mathieu G, Rouard H. The use of percutaneous autologous bone marrow transplantation in nonunion and avascular necrosis of bone. *The journal of bone and joint surgery* 2005 ; **87** : 896-902
145. Herzog EL, Chai L, Krause DS. Plasticity of marrow-derived stem cells. *Blood* 2003 ; **102** : 3483-3493

146. Hicok KC, Du Laney TV, Zhou YS, Halvorsen YD, Hitt DC, Cooper LF et al. Human adipose-derived adult stem cells produce osteoids in vivo. *Tissue engineering* 2004 ; **10** : 371-380
147. Himes BT, Neuhuber B, Coleman C, Kushner R, Swanger SA, Kopen GC et al. Recovery of function following grafting of human bone marrow-derived stromal cells into the injured spinal cord. *Neural repair* 2006 ; **20** : 278-296
148. Hiyama E, Hiyama E. Telomere and telomerase in stem cells. *British journal of cancer* 2007 ; **96** : 1020-1024
149. Ho AD, Wagner W, Franke W. Heterogeneity of mesenchymal stromal cell preparations. *Cytotherapy* 2008 ; **10** : 320-330
150. Honda M, Sumita Y, Kagami H, Asahina I, Ueda M. Enamel-dentin and dentin-cementum complex structure formation in tooth. *European Cells and Materials* 2007 ; **14** : 60
151. Honda MJ, Imaizumi M, Suzuki H, Oshima S, Tsuchiya S, Satomura K. Stem cells isolated from human dental follicle have osteogenic potential. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology and endodontics* 2010 ; **111** : 700-708
152. Hosted-Bindslev P, Lovschall G. Treatment outcome of vital pulp treatment. *Endodontic topics* 2002 ; **2** : 24-34
153. Huang G, 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. *Journal of endodontics* 2008 ; **34** : 645-651
154. Huang GT, Yamaza T, Shea LD, Djouad F, Kuhn NZ, Tuan RS et al. Stem/progenitor cell-mediated de novo regeneration of dental pulp with newly deposited continuous layer of dentin in an in vivo model. *Tissue Engineering Part A* 2010 ; **16** : 605-615
155. Huang GTJ, Gronthos S, Shi S. Mesenchymal stem cells derived from dental tissues versus those from other sources. *Journal of dental research* 2009 ; **88** : 792-806
156. Hynes K, Menicanin D, Gronthos S, Bartold PM. Clinical utility of stem cells for periodontal regeneration. *Periodontology 2000* 2012 ; **59** : 203-227
157. 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. *Proceeding of the National Academy of Sciences USA* 2009 ; **106** : 13475-13480
158. Iohara K, Nakashima M, Ito M, Ishikawa M, Nakasima A, Akamine A. Dentin regeneration by dental pulp stem cell therapy with recombinant human bone morphogenetic protein 2. *Journal of Dental Research* 2004 ; **83** : 590-595
159. Isaka J, Ohazama A, Kobayashi M, Nagashima C, Takiguchi T, Kawasaki H et al. Participation of periodontal ligament cells with regeneration of alveolar bone . *Journal of periodontology* 2001 ; **72** : 314-323
160. Ishige I, Nagamura-Inoue T, Honda MJ, Harnprasopwat R, Kido M, Sugimoto M et al. Comparison of mesenchymal stem cells derived from arterial, venous and Wharton's jelly explants of human umbilical cord. *International journal of hematology* 2009 ; **90** : 261-269
161. Ishizaka R, Iohara K, Murakami M, Fukuta O, Nakashima M. Regeneration of dental pulp following pulpectomy by fractionated stem/progenitor cells from bone marrow and adipose tissue. *Biomaterials* 2012 ; **33** : 2109-2118
162. Iwaya S-I, Ikawa M, Kubota M. Revascularization of an immature permanent tooth with apical periodontitis and sinus tract. *Dental traumatology* 2001 ; **17** : 185-187
163. Jernvall J, Thesleff I. Reiterative signalling and patterning during mammalian tooth

- morphogenesis. *Mechanisms of Development* 2000 ; **92** : 19-29
164. Jhin MJ, Kim KH, Kim SH, Kim YS, Kim ST, Koo KT et al. Ex vivo bone morphogenetic protein-2 gene delivery using bone marrow stem cells in rabbit maxillary sinus augmentation in conjunction with implant placement . *Journal of periodontology* 2012 ; **16** : ahead of print
 165. Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, Schwartz RE, Keene CD et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 2002 ; **418** : 41-49
 166. Jo YY, Lee HJ, Kook SY, Choung HW, Park JY, Chung JH, Choung YH et al. Isolation and characterization of postnatal stem cells from human dental tissues. *Tissue Engineering* 2007 ; **13** : 767-773
 167. Jones S, Horwood N, Cope A, Dazzi F. The antiproliferative effect of mesenchymal stem cells is a fundamental property shared by all stromal cells. *Journal of immunology* 2007 ; **179** : 2824-2831
 168. Karp JM, Leng Teo GS. Mesenchymal stem cell homing : the devil is in the details. *Cell stem cell* 2009 ; **4** : 206-216
 169. Kassem M, Kristiansen M, Abdallah BM. Mesenchymal stem cells : cell biology and potential use in therapy. *Basic and clinical pharmacology and toxicology* 2004 ; **95** : 209-214
 170. Kémoun P, Gronthos S, Snead ML, Rue J, Courtois B, Vaysse F et al. The role of cell surface markers and enamel matrix derivatives on human periodontal ligament mesenchymal progenitor responses in vitro. *Biomaterials* 2011 ; **32** : 7375-7388
 171. Kemoun P, Laurencin-Dalicieux S, Rue J, Farges JC, Gennero J, Conte-Auriol F et al. Human dental follicle cells acquire cementoblast features under stimulation by BMP-2/-7 and enamel matrix derivatives (EMD) in vitro. *Cell and tissue research* 2007 ; **329** : 282-294
 172. Kerkis I, Kerkis A, Dozortsev D, Stukart-Parsons GC, Gomes Massironi S 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 and organs* 2006 ; **184** : 105-116
 173. Kern S, Eichler H, Stoeve J, Kluter H, Bieback K. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood or adipose tissue. *Stem cells* 2006 ; **24** : 1294-1301
 174. Kim DS, Park HJ, Yeom JH, Seo JS, Ryu GJ, Park KH et al. Long-term follow-ups of revascularized immature necrotic teeth : three case reports. *International journal of oral science* 2012 ; **4** : 109-113
 175. Kim J, Kang HM, Kim H, Kim MR, Kwon HC, Gye MC et al. Ex vivo characteristics of human amniotic membrane-derived stem cells. *Cloning stem cells* 2007 ; **9** : 581-594
 176. Kim SH, Kim KH, Seo BM, Koo KT, Kim TI, Seol YJ et al. Alveolar bone regeneration by transplantation of periodontal and bone marrow stem cells in a canine peri-implant defect model : a pilot study. *Journal of periodontology* 2009 ; **80** : 1815-1823
 177. Kinnaird T, Stabile E, Burnett MS, Lee CW, Barr S, Fuchs S et al. Marrow-derived stromal cells express genes encoding a broad spectrum of arteriogenic cytokines and promote in vitro and in vivo arteriogenesis through paracrine mechanisms. *Circulation research* 2004 ; **94** : 678-685
 178. Kiraly M, Kadar K, Horvathy DB, Nardai P, Racz GZ, Lacza Z et al. Integration of neuronally predifferentiated human dental pulp stem cells into rat brain in vivo. *Neurochemistry International* 2011 ; **8** : 1-11
 179. Kirouac DC, Ito C, Csaszar E, Roch A, Yu M, Sykes EA et al. Dynamic interaction

- networks in a hierarchically organized tissue. *Molecular systems biology* 2010 ; **6** : 417
180. Kirouac DC, Madlambayan GJ, Yu M, Sykes EA, Ito C, Zandstra PW. Cell-cell interaction networks regulate blood stem and progenitor cell fate. *Molecular systems biology* 2009 ; **5** : 293
 181. Koc ON, Lazarus HM. Mesenchymal stem cells : heading into the clinic. *Bone marrow transplant* 2001 ; **27** : 235-239
 182. Kolf C, Cho E, Tuan R. Mesenchymal stromal cells. Biology of adult mesenchymal stem cells : regulation of niche, self-renewal and differentiation. *Arthritis research and therapy* 2007 ; **9** : 204
 183. Koop R, Merheb J, Quirynen M. Periodontal regeneration with enamel matrix derivative in reconstructive periodontal therapy : a systematic review. *Journal of periodontology* 2012 ; **83** : 707-720
 184. Kossoulakou DS, Margaritis LH, Koussoulakos SL. A curriculum vitae of teeth : evolution, generation and regeneration. *International Journal of Biological Sciences* 2009 ; **5** : 226-243
 185. Krampera M, Glennie S, Dyson J, Scott D, Laylor R, Simpson E et al. Bone marrow mesenchymal stem cells inhibit the response of naive and memory antigen-specific T cells to their cognate peptide. *Blood* 2003 ; **101** : 3722-3729
 186. Kucia M, Reza R, Campbell FR, Zuba-Surma E, Majka M, Ratajczak J et al. A population of very small embryonic-like (VSEL) CXCR4(+)SSEA-1(+)Oct-4+ stem cells identified in adult bone marrow . *Leukemia* 2006 ; **20** : 857-869
 187. Kumabe S, Nakatsuka M, Kim GS, Jue SS, Aikawa F, Shin JW et al. Human dental pulp cell culture and cell transplantation with an alginate scaffold. *Okajimas Folia Anatomica Japonica* 2006 ; **82** : 147-155
 188. Kumar D, Kamp TJ, Le Winter MM. Embryonic stem cells: differentiation into cardiomyocytes and potential for heart repair and regeneration. *Coronary artery disease* 2005 ; **16** : 111-116
 189. 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* 2007 ; **25** : 1830-1839
 190. Laflamme M, Murry C. Regenerating the heart. *Nature biotechnology* 2005 ; **23** : 845-856
 191. Laino G, Carinci F, Graziano A, D'Acquino R, Lanza V, De Rosa A et al. In vitro bone production using stem cells derived from human dental pulp. *Journal of Craniofacial Surgery* 2006 ; **17** : 511-515
 192. Laino G, D'Acquino R, Graziano A, Lanza V, Carinci F, Naro F et al. A new population of human adult dental pulp stem cells; a useful source of living autologous fibrous bone tissue (LAB). *Journal of Bone Miner Research* 2005 ; **20** : 1394-1402
 193. Lalo J, Verrons AS, Lezy JP. Alveolar ridge augmentation with cortical osteotomies for dental implantation. *Revue de stomatologie et chirurgie maxillo-faciale* 2012 ; **113** : 276-290
 194. Langer R, Vacanti JP. Tissue engineering. *Science* 1993 ; **260** : 920-926
 195. Le Blanc K, Frasson F, Ball L, Locatelli F, Roelefs H, Lewis I et al. Mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant, severe, acute graft-versus-host disease : a phase II study. *Lancet* 2008 ; **371** : 1579-1586
 196. Le Blanc K, Rasmusson I, Sundberg B, Gotherstrom C, Hassan M, Uzunel M et al. Treatment of severe acute-graft-versus-host disease with third party haploidentical

- mesenchymal stem cells. *Lancet* 2004 ; **363** : 1439-1441
197. Le Blanc K, Rindgen O. Immunomodulation by mesenchymal stem cells and clinical experience. *Journal of internal medicine* 2007 ; **262** : 509-525
 198. Lee JA, Parrett BM, Conejero JA, LAsar J, Chen J, Kogon AJ et al. Biological alchemy: engineering bone and fat from fat-derived stem cells. *Annals of plastic surgery* 2003 ; **50** : 610-617
 199. Lee OK, Kuo TK, Chen WM, Lee KD, Hsieh SL, Chen TH. Isolation of multipotent mesenchymal stem cells from umbilical cord blood. *Blood* 2004 ; **103** : 1669-1675
 200. Lee PH, Park HJ. Bone marrow-derived mesenchymal stem cell therapy as a candidate disease-modifying strategy in Parkinson's disease and multiple system atrophy. *Journal of clinical neurology* 2009 ; **5** : 1-10
 201. Lee YM, Nam SH, Seol YJ, Kim TI, Lee SJ, Ku Y et al. Enhanced bone augmentation by controlled release of recombinant human bone morphogenetic protein-2 from bioabsorbable membranes. *Journal of periodontology* 2003 ; **74** : 865-872
 202. Leeb C, Jurga M, McGuckin C, Moriggl R, Kenner L. Promising new sources for pluripotent stem cells. *Stem Cell Review* 2010 ; **6** : 15-26
 203. Lendeckel S, Jodicke A, Christophis P, Heidinger K, Wolff J, Fraser JK et al. Autologous stem cells (adipose) and fibrin glue used to treat widespread traumatic calvarial defects : case report. *Journal of craniomaxillofacial surgery* 2004 ; **32** : 370-373
 204. 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* 2005 ; **49** : 407-417
 205. Liao Y, Geyer MB, Yang AJ, Cairo MS. Cord blood transplantation and stem cell regenerative potential. *Experimental Haematology* 2011 ; **39** : 393-341
 206. Lin C, Dong QS, Wang L, Zhang JR, Wu LA, Liu BL. Dental implants with the periodontium : a new approach for the restoration of missing teeth. *Medical Hypotheses* 2009 ; **72** : 58-61
 207. Lin L, Chen MY-H, Ricucci D et al. Guided tissue regeneration in periapical surgery. *Journal of endodontics* 2010 ; **36** : 618-625
 208. Lin LM, Rosenberg PA. Repair and regeneration in endodontics. *International endodontic journal* 2011 ; **44** : 889-906
 209. Lin NH, Gronthos S, Mark Bartold P. Stem cells and future periodontal regeneration. *Periodontology* 2009 ; **51** : 239-251
 210. Lindroos B, Maenpaa K, Ylikomi T, Oja H, Suuronen R, Miettinen S. Characterisation of human dental stem cells and buccal mucosa fibroblasts. *Biochemistry and biophysics research community* 2008 ; **368** : 329-335
 211. Liu GH, Barkho BZ, Ruiz S, Diep D, Qu J, Yang SL et al. Recapitulation of premature ageing with iPSCs from Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Nature* 2011 ; **472** : 221-225
 212. Liu S, Wicha MS. Targeting breast cancer stem cells. *Journal of clinical oncology* 2010 ; **28** : 4006-4012
 213. 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* 2008 ; **26** : 1065-1073
 214. Lo Celso C, Flemong HE, Wu JW, Zhao CX, Miake-Lye S, Fujisaki J et al. Live-animal tracking of individual haematopoietic stem/progenitor cells in their niche. *Nature* 2009 ; **457** : 92-96

215. Luan X, Ito Y, Dangaria S, Diekwisch TG. Dental follicle progenitor cell heterogeneity in the developing mouse periodontium. *Stem cells development* 2006 ; **13** : 595-608
216. Lyngstadaas SP, Lundberg E, Ekdahl H, Andersson C, Gestrelus S. Autocrine growth factors in human periodontal ligament cells cultured on enamel matrix derivative. *Journal of clinical periodontology* 2001 ; **28** : 181-188
217. Mao JJ. Stem cells and the future of dental care. *New York State Dental Journal* 2008 ; **74** : 20-24
218. Mao JJ, Giannobile WV, Helms JA, Hollister SJ, Krebsbach PH, Longaker MT et. Craniofacial tissue engineering by stem cells. *Journal of dental research* 2006 ; **85** : 966-979
219. Mareschi K, Biasin E, Piacibello W, Aglietta M, Madon E, Fagioli F. Isolation of human mesenchymal stem cells : bone marrow versus umbilical cord blood. *Haematologica* 2001 ; **86** : 1099-1100
220. Martino G, Franklin RJ, Van Evercooren AB, Kerr DA. Stem cell transplantation in multiple sclerosis : current status and future prospects. *National Review of Neurology* 2010 ; **6** : 247-255
221. Marynka-Kalmani K, Treves S, Yafee M, Rachima H, Gafni Y, Cohen MA et al. The lamina propria of adult human oral mucosa harbors a novel stem cell population. *Stem cells* 2010 ; **28** : 984-995
222. McCulloch CA, Bordin S. Role of fibroblast subpopulations in periodontal physiology and pathology. *Journal of periodontal research* 1991 ; **26** : 144-154
223. Mehrazarin S, Oh JE, Chung CL et al. Impaired odontogenic differentiation of senescent dental mesenchymal stem cells is associated with loss of Bmi-1 expression. *Journal of endodontics* 2011 ; **37** : 662-666
224. Meirelles Lda S, Fontes AM, Covas DT, Caplan AI. Mechanisms involved in the therapeutic properties of mesenchymal stem cells. *Cytokine and growth factor review* 2009 ; **20** : 419-427
225. Meirelles S, Nardi NB. Methodology, biology and clinical applications of mesenchymal stem cells. *Frontiers in bioscience* 2009 ; **14** : 4281-4298
226. Mereilles da Silva L, Chagastelles P. Mesenchymal stem cells reside in virtually all post-natal organs and tissues. *Journal of cellular science* 2006 ; **119** : 2204-2213
227. Michalopoulos GK, DeFrances MC. Liver regeneration. *Science* 1997 ; **276** : 60-66
228. Mitalipov V, Wolf D. Totipotency, pluripotency and nuclear reprogramming. *Advances in Biochemical Engineering* 2009 ; **114** : 185-199
229. Miura M, Gronthos S, Zhao M, Lu B, Fisher LW, Robey PG et al. SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proceeding of the National Academy of Science USA* 2003 ; **100** : 5807-5812
230. Miyahara Y, Nagaya N, Kataoka M, Yanagawa B, Tanaka K, Hao H et al. Monolayered mesenchymal stem cells repair scarred myocardium after myocardial infarction. *Nature medicine* 2006 ; **12** : 459-465
231. Miyashita H, Worthington HV, Qualtrough A et al. Pulp managment for caries in adults : maintaining pulp vitality. *Cochrane Database of Systematic Review* 2007 ; **2** : CD004484
232. Mizuno H. Adipose-derived stem cells for tissue repair and regeneration : ten years of research and litterature review. *Journal of Nippon Medicine* 2009 ; **76** : 56-66
233. Mizuno H, Hata K, Kojima K, Bonassar LJ, Vacanti CA, Ueda M. A novel approach to regenerating periodontal tissue by grafting autologous cultured periosteum. *Tissue engineering* 2006 ; **12** : 1227-1235

234. Modino SA, Sharpe PT. Tissue engineering of teeth using adul stem cells. *Arhives of oral biology* 2005 ; **50** : 255-258
235. Mohamadnejad M, Alimoghaddam K, Mohyeddin-Bonab M, Bagheri M, Bashtar M, Ghanati H et al. Phase I trial of autologous bone marrow mesenchymal stem cell transplantation in patients with decompensated liver cirrhosis. *Archives of Iranian medicine* 2007 ; **10** : 459-466
236. Moore KA, Lemischka IR. Stem cell and their niches. *Science* 2006 ; **311** : 1880-1885
237. Morrison SJ, Shan NM, Anderson DJ. Regulatory mechanisms in stem cell biology. *cELL* 1997 ; **88** : 287-298
238. Morsczeck C, Reichert TE, Vollner F, Gerlach T, Driemel O. The state of the art in human dental stem cell research. *Mund Kiefer Gesichtschir* 2007 ; **11** : 259-266
239. Morszczeck C, Gotz W, Schierholz J, Zeilhofer F, Kuhn U, Mohl C et al. Isolation of precursor cells (PCs) from human dental follicle of wisdom teeth. *Matrix biology* 2005 ; **24** : 155-165
240. Murakami S, Takayama S, Ikezawa K, Shimabukuro Y, Kitamura M, Nozaki T et al. Regeneration of periodontal tissues by basic fibroblast growth factor. *Journal of periodontal research* 1999 ; **34** : 425-430
241. Nair PNR. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. *Critical reviews in oral biology and medicine* 2004 ; **15** : 348-381
242. Nakahara T, Nakamura T, Kobayashi E, Inoue M, Shigeno K, Tabata Y et al. Novel approach to regeneration of periodontal tissues based on in situ tissue engineering : effects of controlled release of basic fibroblast growth factor from a sandwich membrane. *Tissue engineering* 2003 ; **9** : 153-162
243. Nakanishi C, Yamagishi M, Yamahara K, Hagino I, Mori H, Sawa Y et al. Activation of cardiac progenitor cells through paracrine effects of mesenchymal stem cells. *Biochemical and biophysical research community* 2008 ; **374** : 11-16
244. Nakashima M. Bone morphogenetic proteins in dentin regeneration for potential use in endodontic therapy. *Cytokine growth factor review* 2005 ; **16** : 369-376
245. Nakashima M, Reddi AH. The application of bone morphogenic proteins to dental tissue engineering. *National biotechnology* 2003 ; **21** : 1025-1032
246. Narayanan AS, Bartold PM. Biochemistry of periodontal connective tissues and their regeneration : a current perspectives. *Connect tissues research* 1996 ; **34** : 245-253
247. Nauta AJ, Fibbe WE. Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells. *Blood* 2007 ; **110** : 3499-3506
248. Neha K, Kansal R, Garg P, Joshi R, Garg D, Grover HS. Management of immature teeth by dentin-pulp regeneration: a recent approach. *Medicina oral, patologia oral y cirgia bucal* 2011 ; **16** : 997-1004
249. Neufeld JO. Changes in the trabecular pattern of the mandible following the loss of teeth. *Journal of orosthetic dentistry* 1958 ; **8** : 685-697
250. Newmann SA, Müller GB. Epigenetic mechanisms of character origination. *Journal of experimental zoology* 2000 ; **288** : 304-317
251. Nishida K, Yamato M, Hayashida Y, Watanabe K, Yamamoto K et al. Corneal reconstruction with tissue-engineered cell sheets composed of autologous oral mucosal epithelium. *The New England journal of medicine* 2004 ; **16** : 1187-1196
252. Nissan X, Blondel S, Peschanski M. In vitro pathological modelling using patient-specific induced pluripotent stem cells : the case of progeria. *Biochemical Society transactions* 2011 ; **39** : 1775-1779

253. Nör JE. Tooth regeneration in operative dentistry. *Operative Dentistry* 2006 ; **31-36** : 633-642
254. Nussenbaum B, Rutherford RB, Krebsbach PH. Bone regeneration in cranial defects previously treated with radiation. *The laryngoscope* 2005 ; **11** : 1170-1177
255. Nygaard-Ostby B, Hjortdal O. Tissue formation in the root canal following pulp removal. *Scandinavian Journal of Dental Research* 1971 ; **79** : 333-349
256. Oh JY, Kim MK, Shin MS, Lee HJ, Ko JH, Wee WR et al. The anti-inflammatory and antiangiogenic role of mesenchymal stem cells in corneal wound healing following chemical injury. *Stem cells* 2008 ; **26** : 1047-1055
257. Ohashi K, Yokoyama T, Yamato M, Kuge H, Kanehiro H, tsutsumi M et al. Engineering functional two- and three-dimensional liver systems in vivo using hepatic tissue sheets. *Nature medicine* 2007 ; **13** : 880-885
258. Ohnishi S, Yanagawa B, Tanaka K, Miyahara Y, Obata H, Kataoka M et al. Transplantation of mesenchymal stem cells attenuates myocardial injury and dysfunction in a rat model of acute myocarditis. *Journal of molecular and cellular cardiology* 2007 ; **42** : 88-97
259. Ohshima H. Overview: developmental biology of Hertwig's epithelial root sheath (HERS) and tooth root formation. *Journal of oral biosciences* 2008 ; **50** : 147-153
260. Owen GR, Jackson J, Chehroudi B, Burt H, Brunette DM. A PLGA membrane controlling cell behaviour for promoting tissue regeneration. *Biomaterials* 2005 ; **26** : 7447-7456
261. Papaccio G, Graziano A, D'Aquino R, Graziano MF, Pirozzi G, Menditti D et a. Long-term cryopreservation of dental pulp stem cells (SBP-DPSCs) and their differentiated osteoblastes: a cell source for tissue repair. *Journal of Cell Physiology* 2007 ; **208** : 319-325
262. Park HJ, Lee PH, Bang OY, Lee G, Ahn YH. Mesenchymal stem cells therapy exerts neuroprotection in a progressive animal model of Parkinson's disease. *Journal of neurochemistry* 2008 ; **107** : 141
263. Park JC, Kim JC, Kim YT, Choi SH, Cho KS, Im GI et al. Acquisition of human alveolar bone-derived stromal cells using minimally irrigated implant osteotomy : in vitro and in vivo evaluations. *Journal of clinical periodontology* 2012 ; **39** : 495-505
264. Park JE, Barbul A. Understading the role of immune regulation in wound healing. *American journal of surgery* 2004 ; **187** : S11-16
265. Park JY, Jeon SH, Choung PH. Efficacy of periodontal stem cell transplantation in the treatment of advanced periodontitis. *Cell transplantation* 2011 ; **20** : 271-285
266. Paul D, Samuel SM, Maulik N. Mesenchymal stem cell : present challenges and prospective cellular cardiomyoplasty approaches for myocardial regeneration. *Antioxidant redox signaling* 2009 ; **11** : 1841-1855
267. Peters MC, Polverini PJ, Mooney DJ. Engineering vascular networks in porous polymer matrices. *Journal or biomedicine and biomaterials research* 2002 ; **60** : 668-678
268. 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* 1999 ; **284** : 1168-1170
269. Petrie Aronin CE, Tuan RS. Therapeutic potential of the immunomodulatory activities of adult mesenchymal stem cells. *Birth defects research, Part C* 2010 ; **90** : 67-74
270. Phinney DG, Prockop DJ. Concise review : mesenchymal stem/multipotent stromal cells : the state of transdifferentiation and modes of tissue repair - current views. *Stem Cells* 2007 ; **25** : 2896-2902

271. Pierdomenico L, Bonsi L, Calvitti M, Rondelli D, Arpinati M, Chirumbolo G. Multipotent mesenchymal stem cells with immunosuppressive activity can be easily isolated from dental pulp. *Transplantation* 2009 ; **80** : 836-842
272. Pispas J, Thesleff I. Mechanisms of ectodermal organogenesis. *Development Biology* 2003 ; **262** : 195-205
273. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999 ; **284** : 143-147
274. Plotnikov EY, Khryapenkova TG, Vasileva AK, Marey MV, Galkina SI, Isaev NK et al. Cell-to-cell cross-talk between mesenchymal stem cells and cardiomyocytes in co-culture. *Journal of cellular and molecular medicine* 2008 ; **12** : 1622-1631
275. Pontoriero R, Lindhe J. Guided tissue regeneration in the treatment of degree III furcation defects in maxillary molars. *Journal of clinical periodontology* 1995 ; **22** : 810-812
276. Porada CD, Zanjani ED, Almeida-Porad G. Adult mesenchymal stem cells : a pluripotent population with multiple applications. *Current stem cell research therapy* 2006 ; **1** : 365-369
277. Prescott RS, Alsanea R, Fayad MI, Johnson BR, Wenckus CS, Hao J et al. In vivo generation of dental pulp-like tissue by using dental pulp stem cells, a collagen scaffold and dentin matrix protein 1 after subcutaneous transplantation in mice. *Journal of Endodontics* 2008 ; **34** : 421-426
278. Prichard J. Regeneration of bone following periodontal therapy : report of cases. *Oral surgery, oral medicine et oral pathology* 1957 ; **10** : 247-252
279. Prochazka V, Gumulec J, Chmelova J, Klement P, Klement GL, Jonszta T et al. Autologous bone marrow stem cell transplantation in patients with end-stage chronic critical limb ischaemia and diabetic foot. *Vnitřní lékařství* 2009 ; **55** : 173-178
280. Prochazka V, Gumulec J, Jaluvka F, Salounova D, Jonszta T, Czerny D et al. Cell therapy, a new standard in management of chronic critical limb ischemia and foot ulcer. *Cell transplantation* 2010 ; **19** : 1413-1424
281. Prockop DJ. Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues. *Science* 1997 ; **276** : 71-74
282. Psaltis PJ, Zannettino AC, Worthley SG, Gronthos S. Concise review : mesenchymal stromal cells : potential for cardiovascular repair. *Stem cells* 2008 ; **26** : 2201-2210
283. Rachana C, Sridhar N, Rangan AV, Rajani V. Horizontal ridge augmentation using a combination approach. *Journal of Indian Society of Periodontology* 2012 ; **16** : 446-450
284. Rafter M. Apexification : a review. *Dental traumatology* 2005 ; **21** : 1-8
285. Rah DK. Art of replacing craniofacial bone defects. *Yonsei Medicine Journal* 2000 ; **41** : 756-765
286. Rakhmatia YD, Ayukawa Y, Furuhashi A, Koyano K. Current barrier membranes: Titanium mesh and other membranes for guided bone regeneration in dental applications. *Journal of prosthodontic research* 2013 ; **21** : S1883-1958
287. Ramseier CA, Rasperini G, Batia S, Giannobile WV. Advanced reconstructive technologies for periodontal tissue repair. *Periodontology* 2000 2012 ; **59** : 185-202
288. Rebelatto CK, Aguiar AM, Moretao MP, Senegaglia AC, Hansen P, Barchiki F et al. Dissimilar differentiation of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood and adipose tissue. *Experimental biology and medicine* 2008 ; **233** : 901- 913
289. Reynolds BA, Weiss S. Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the

adult mammalian central nervous system. *Science* 1992 ; **255** : 1707-1710

290. Ricketts DNJ, Kidd EAM, Innes N et al. Complete or ultraconservative removal of decayed tissue in unfilled teeth. *Cochrane Database of Systematic Review* 2006 ; **3** : CD003808
291. Ricucci D, Lin LM, Spanberg L. Wound healing of apical tissues after root canal therapy : a long-term clinical, radiographic and histopathologic observation study. *Oral surgery, oral medicine, oral radiology and oral endodontology* 2009 ; **108** : 609-621
292. Ripamonti U. Recapitulating development : a template for periodontal tissue engineering. *Tissue Engineering* 2007 ; **13** : 51-71
293. Rodrigues MT, Martins A, Dias IR, Viegas CA, Neves NM, Gomes ME et al. Synergistic effect of scaffold composition and dynamic culturing environment in multilayered systems for bone tissue engineering. *Journal of tissue engineering and regenerative medicine* 2012 ; **6** : 24-30
294. Rodriguez AM, Elabd C, Amri EZ, Ailhaud G, Dani C. The human adipose tissue in a source of multipotent stem cells. *Biochimie* 2005 ; **87** : 125-128
295. Rompen EH, Biewer R, Vanheusden A, Zahedi S, Nusgens B. The influence of cortical perforations and of space filling with peripheral blood on the kinetics of guided bone regeneration. *Clinical and oral implants research* 1999 ; **10** : 85-94
296. Rosenberg PA, Schindler WG, Krell KV, Hicks ML, Davis SE. Identify the endodontic treatment modalities. *Journal of endodontics* 2009 ; **35** : 1675-1694
297. Rosso F, Giordano A, Barbarisi M, Barbarisi A. From cell-ECM interactions to tissue engineering. *Journal of cellular physiology* 2004 ; **199** : 174-180
298. Rothova M, Feng J, Sharpe PT, Peterkova R, Tucker AS. Contribution of mesoderm to the developing dental papilla. *International Journal of Developing Biology* 2011 ; **55** : 59-64
299. Sakai VT, Zhang Z, Dong Z, Neiva KG, Machado MA, Shi S et al. SHED differentiate into functional odoblasts and endothelium. *Journal of dental research* 2010 ; **89** : 791-796
300. Sakka S, Krenkel C. Simultaneous maxillary sinus lifting and implant placement with autogenous parietal bone graft : outcomes of 17 cases. *Journal of craniomaxillofacial surgery* 2011 ; **39** : 187-191
301. Sanchez-Ramos J, Song S, Cardozo-Pelaez F, Hazzi C, Stedeford Tet al. Adult bone marrow stromal cells differentiate into neural cells in vitro. *Experimental Neurology* 2000 ; **164** : 247-256
302. Santiago JA, Pogemiller R, Ogle BM. Heterogeneous differentiation of human mesenchymal stem cells in response to extended culture in extracellular matrices. *Tissue engineering Part A* 2009 ; **15** : 3911-3922
303. Sato Y, Araki H, Kato J, Nakamura K, Kawano Y, Kobune M, Sato T et al. Human mesenchymal stem cells xenografted directly to rat liver are differentiated into human hepatocytes without fusion. *Blood* 2005 ; **106** : 756-763
304. Sauerbier S, Stricker A, Kuschnierz J, Buehler F, Oshima T, Xavier SP et al. In vivo comparison of hard tissue regeneration with human mesenchymal stem cells processed with either the FICOLL or the BMAC-method. *Tissue Engineering Methods* 2009 ; **16** : 215-223
305. Sauerbier S, Stubbe K, Maglione M, Haberstroh J, Kuschnierz J et al. Mesenchymal stem cells and bovine mineral in sinus lift procedures - an experimental study in sheep. *Tissue engineering.Part C* 2010 ; **16** : 1033-1039
306. Saygin NE, Giannobile WV, Somerman MJ. Molecular and cell biology of cementum.

Periodontology 2000 ; **24** : 73-98

307. Saygin NE, Tokiyasu Y, Giannobille WV, Somerman MJ. Growth factors regulate expression of mineral associated genes in cementoblasts. *Journal of periodontology* 2000 ; **71** : 1591-1600
308. Scadden DT. The stem-cell niche as an entity of action. *Nature* 2006 ; **441** : 1075-1079
309. Scheller EL, Krebsbach PH, Kohn DH. Tissue engineering : state of the art in oral rehabilitation. *Journal of Oral Rehabilitation* 2009 ; **36** : 368-389
310. Schuleri KH, Feigenbaum GS, Centola M, Weiss ES, Zimmet JM, Turney J et al. Autologous mesenchymal stem cells produce reverse remodelling in chronic ischaemic cardiomyopathy. *European heart journal* 2009 ; **30** : 2722-2732
311. Secco M, Zucconi E, Vieira NM, Fogaca LL, Cerqueira A, Cavalho MD et al. Multipotent stem cells from umbilical cord : cord is richer than blood!. *Stem cells* 2008 ; **26** : 146-150
312. Seo BM, Miura M, Gronthos S, Bartold PM, Batouli S, Brahimi J et al. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *Lancet* 2004 ; **364** : 149-155
313. Seo BM, Sanoyama W, Yamaza T, Coppe C, Kikuri T, Akiyama K et al. SHED repair critical-size calvarial defects in mice. *Oral Diseases* 2008 ; **14** : 428-434
314. Shayesteh YS, Khojasteh A, Soleimani M, Alikhasi M, Khoshzaban A, et al. Sinus augmentation using human mesenchymal stem cells loaded into beta-tricalcium phosphate/hydroxyapatite scaffold. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology* 2008 ; **106** : 203-209
315. Sheng Z, Fu X, Cai S, Lei Y, Sun T, Bai X et al. Regeneration of functional sweat gland-like structures by transplanted differentiated bone marrow mesenchymal stem cells. *Wound repair and regeneration* 2009 ; **17** : 427-435
316. Shi S, Gronthos S. Perivascular niche of postnatal mesenchymal stem cells in human bone marrow and dental pulp. *Journal of bone mineralisation research* 2003 ; **18** : 696-704
317. Shinmura Y, Tsuchiya S, Hata K, Honda MJ. Quiescent epithelial cell rests of Malassez can differentiate into ameloblast-like cells. *Journal of cellular physiology* 2008 ; **217** : 728-738
318. Si YL, Zhao YL, Hao HJ, Fu XB, Han WD. MSCs : biological characteristics, clinical applications and their outstanding concerns. *Ageing Research Reviews* 2011 ; **10** : 93-103
319. Silber JS, Anderson DG, Daffner SD, Brislin BT, Leland JM, Hilibrand AS et al. Donor site morbidity after anterior iliac crest bone harvest for single-level anterior cervical discectomy and fusion. *Spine* 2003 ; **15** : 134-139
320. Slots J, MacDonald ES, Nowzari H. Infectious aspects of periodontal regeneration. *Periodontology* 2000 1999 ; **19** : 164-172
321. Smith AJ, Murray PE, Lumley PJ. Preserving the vital pulp in operative dentistry : a biological approach. *Dentistry update* 2002 ; **29** : 64-69
322. Smith AJ, Murray PE, Sloan AJ, Matthews JB, Zhao S. Trans-dentinal stimulation of tertiary dentinogenesis. *Advances in Dental Research* 2001 ; **15** : 51-54
323. Soncini M, Vertua E, Gibelli L, Zorzi F, Denegri M, Albertini A et al. Isolation and characterization of mesenchymal cells from human fetal membranes. *Journal of tissue engineering and regenerative medicine* 2007 ; **1** : 296-205
324. Song JS, Stefanik D, Damek-Poprawa M, Alawi F, Akinoye SO. Differentiation and regenerative capacities of human odontoma-derived mesenchymal cells. *Differentiation*

2009 ; **77** : 29-37

325. Sonoyama W, Liu Y, Fang D, Yamaza T, Seo BM, Zhang C et al. Mesenchymal stem cell-mediated functional tooth regeneration in swine. *PloSOne* 2006 ; **20** : e79
326. Sonoyama W, Liu Y, Yamaza T, Tuan RS, Wang S, Shi S et al. Characterization of the apical papilla and its residing stem cells from human immature wisdom teeth : a pilot study. *Journal of Endodontics* 2008 ; **34** : 166-171
327. Sonoyama W, Seo B-M, Yamaza T et al. Human Hertwig's epithelial root sheath cells play crucial roles in cementum formation. *Journal of dental research* 2007 ; **86** : 594-599
328. Stern A, Green J. Sinus lift procedures : an overview of current techniques. *Dental clinics of North America* 2012 ; **56** : 219-233
329. Stewart K, Walsh S, Screen J, Jefferiss CM, Chainey J, Jordan GR et al. Further characterization of cells expressing STRO-1 in cultures of adult human bone marrow stromal cells. *Journal of bone mineralisation research* 1999 ; **14** : 1345-1356
330. Sukuragawa N, Kakinuma K, Kikuchi A, Okano H, Uchida S, Kamo I et al. Human amnion mesenchyme cells express phenotypes of neuroglial progenitor cells. *Journal of neuroscience research* 2004 ; **78** : 208-214
331. Sumita Y, Tsuchiya S, Asahina I, Kagami H, Honda MJ. The location and characteristics of two populations of dental pulp cells affect tooth development. *European Journal of Oral Science* 2009 ; **117** : 113-121
332. Taba M, Jin Q, Sugai JV, Giannobile WV. Current concepts in periodontal bioengineering. *Orthodontic and Craniofacial Research* 2005 ; **8** : 292-302
333. Takahashi K, Okita K, Nakagawa M, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from fibroblast cultures. *Nature protocols* 2007 ; **2** : 3081-3089
334. Takahashi K, Tanabe K, Onuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 2007 ; **131** : 861-872
335. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006 ; **126** : 663-676
336. Takeda T, Tezuka Y, Horiuchi M, Hosono K, Iida K, Hatakeyama D et al. Characterization of dental pulp stem cells of human tooth germs. *Journal of Dental Research* 2008 ; **87** : 676-681
337. Tanaka EM. Regeneration : if they can do it, why can't we?. *Cell* 2003 ; **113** : 559-562
338. Taupin P, Gage FH. Adult neurogenesis and neural stem cells of the central nervous system in mammals. *Journal of neuroscience research* 2002 ; **15** : 745-749
339. Ten Cate AR. The development of periodontium - a largely ectomesenchymally derived unit. *Periodontology 2000* 1997 ; **13** : 9-19
340. Thesleff I, Nieminen P. Tooth morphogenesis and cell differentiation. *Current opinions in cell biology* 1996 ; **8** : 844-850
341. Thibodeau B, Teixeira F, Yamauchi M et al. Pulp revascularization of immature dog teeth with apical periodontitis. *Journal of endodontics* 2007 ; **33** : 680-689
342. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998 ; **282** : 1145-1147
343. Tobita M, Mizuno H. Adipose-derived stem cells for periodontal tissue regeneration. *Methods in molecular biology* 2011 ; **702** : 461-470
344. Togel F, Weiss K, Yang Y, Hu Z, Zhang P, Westenfelder C. Vasculotropic, paracrine actions of infused mesenchymal stem cells. *American Journal of Physiology* 2007 ; **292** :

F1626-F1635

345. Toma C, Wagner WR, Bowry S, Schwartz A, Villanueva F. Fate of culture-expanded mesenchymal stem cells in the microvasculature : in vivo observations of cell kinetics. *Circulation research* 2009 ; **104** : 398-402
346. Tomar GB, Srivastava RK, Gupta N, Barhanpurkar AP, Pote ST, Jhaveri HM et al. Human gingiva-derived mesenchymal stem cells are superior to bone marrow-derived mesenchymal stem cells for cell therapy in regenerative medicine. *Biochemistry and biophysics research community* 2010 ; **393** : 377-383
347. 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. *Medical & biological engineering & computing* 2007 ; **45** : 209-220
348. Tonelli P, Duvina M, Barbato L, Biondi E, Nuti N, Brancato et al. Bone regeneration in dentistry. *Clinical cases in mineral and bone metabolism* 2011 ; **8** : 24-28
349. Trombelli L, Farina R. Clinical outcomes with bioactive agents alone or in combination with grafting or tissue guided regeneration. *Journal of clinical periodontology* 2008 ; **35** : 117-135
350. Trubiani O, Orsini G, Zini N, Di Iorio D, Piccirilli M, Piattelli A et al. Regenerative potential of human periodontal ligament derived stem cells on three-dimensional biomaterials: a morphological report. *Journal of biomedical materials research* 2008 ; **87** : 986-993
351. Tsai PS, Fu TW, Chen YM, Ko TL, Chen TH, Shih YH et al. The therapeutic potential of human umbilical mesenchymal stem cells from Wharton's jelly in the treatment of rat liver fibrosis. *Liver transplantation* 2009 ; **15** : 484-495
352. Tsumanuma Y, Iwata T, Washio K, Yoshida T, Yamada A, Tagaki R et al. Comparison of different tissue-derived stem cell sheets for periodontal regeneration in a canine 1-wall defect model. *Biomaterials* 2011 ; **32** : 5819-5825
353. Van den Akker F, Deddens JC, Doevendans PA, Sluijter JP. Cardiac stem cells therapy to modulate inflammation upon myocardial infarction. *Biochimica et biophysica acta* 2012 ; **12** : SO304-4165
354. Wada N, Menicanin D, Shi S, Bartold PM, Gronthos S. Immunomodulatory properties of human periodontal ligament stem cells. *Journal of cellular physiology* 2009 ; **219** : 667-676
355. Wagner W, Wein F, Seckinger A, Frankhauser M, Wirkner U, Krause U, Blake J et al. Comparative characteristics of mesenchymal stem cells from human bone marrow, adipose tissue and umbilical cord blood. *Experimental Hematology* 2005 ; **33** : 1402-1416
356. Wakabayashi K, Nagai A, Sheikh AM, Shiota Y, Narantuya D, Watanabe T et al. Transplantation of human mesenchymal stem cells promotes functional improvement and increased expression of neurotrophic factors in a rat focal cerebral ischemia model. *Journal of neuroscience research* 2010 ; **88** : 1017-1025
357. Wallace SC, Gellin RG, Miller MC, Mishkin DJ. Guided tissue regeneration with and without decalcified freeze-dried bone in mandibular Class II furcation invasions. *Journal of periodontology* 1994 ; **65** : 244-254
358. Wang J, Bian C, Liao L, Zhu Y, Li J, Zeng L, Zhao RC. Inhibition of hepatic stellate cells proliferation by mesenchymal stem cells and the possible mechanisms. *Hepatological research* 2009 ; **39** : 1219-1228
359. Warren L, Manos PD, Ahfeldt T, Loh YH, Li H, Lau F et al. Highly efficient

- reprogramming to pluripotency and directed differentiation of human cells with synthetic modified mRNA. *Cell Stem Cell* 2010 ; **7** : 618-630
360. Wei N, Gong P, Liao D, Yang X, Li X, Liu X et al. Auto-transplanted mesenchymal cell fate in periodontal tissue of beagle dogs. *Cytotherapy* 2010 ; **12** : 514-521
 361. Whang K, Tsai DC, Nam EK, Aitken M, Sprague SM, Patel PK et al. Ectopic bone formation via rhBMP-2 delivery from porous bioabsorbable polymer scaffolds. *Journal of biomedical materials research* 1998 ; **42** : 491-499
 362. Wikesjö UM, Selvig KA. Periodontal wound healing and regeneration. *Periodontology* 2000 1999 ; **19** : 21-39
 363. Wildemann B, Heeger J, Gabelein T, Flyvbjerg A, Bail HJ et al. Improvement of fracture healing by systemic administration of growth hormone and local application of insulin-like growth factor-1 and transforming growth factor-beta-1. *Bone* 2002 ; **31** : 165-172
 364. Wilkins A, Kemp K, Ginty M, Hares K, Mallam E, Scolding N. Human bone marrow-derived mesenchymal stem cells secrete brain-derived neurotrophic factor which promotes neuronal survival in vitro. *Stem cells research* 2009 ; **3** : 63-70
 365. Wolf DM, Lamster IB. Contemporary concepts in the diagnosis of periodontal disease. *Dental clinics of North America* 2011 ; **55** : 47-61
 366. Woodbury D, Schwarz EJ, Prockop DJ, Black IB. Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons. *Journal of neuroscience research* 2000 ; **61** : 364-370
 367. Woods EJ, Perry BC, Hockema JJ, Larson L, Zhou D, Goebel WS. Optimized cryopreservation method for human dental pulp-derived stem cells and their tissues of origin for banking and clinical use. *Cryobiology* 2009 ; **59** : 150-157
 368. Wu G, Deng Z, Fan X, Ma Z, Sun Y, Ma D et al. Odontogenic potential of mesenchymal cells from hair follicle dermal papilla. *Stem cells and development* 2008a ; **18** : 583-589
 369. Wu Y, Chen L, Scott PG, Tredget EE. Mesenchymal stem cells enhance wound healing through differentiation. *Stem cells* 2007 ; **25** : 2648-2659
 370. Xu J, Wang W, Kapila Y, Lotz J, Kapila S. Multiple differentiation capacity of STRO-1(+)/CD146(+) PDL mesenchymal progenitor cells. *Stem cells and development* 2008 ; **18** : 487-496
 371. Xu Y, Meng H, Li C, Hao M, Wang Y, Yu Z, Li Q et al. Umbilical cord derived mesenchymal stem cells isolated by a novel explantation technique can differentiate into functional endothelial cells and promote revascularization. *Stem cells development* 2010 ; **19** : 1511-1522
 372. Yalvac ME, Ramazanoglu M, Gumru OZ, Sahin F, Palotas A, Rizvanov AA. Comparison and optimisation of transfection of human dental follicle cells, a novel source of stem cells, with different chemical methods and electroporation. *Neurochemical research* 2009 ; **34** : 1272-1277
 373. Yamada Y, Hara K, Nakamura S, Ueda M, Ito K, Nagasaka T. Minimally invasive approach with tissue engineering for severe alveolar bone atrophy case. *International journal of oral and maxillofacial surgery* 2013 ; **42** : 260-263
 374. Yamauchi N, Yamauchi S, Nagaoka H et al. Tissue engineering strategies for immature teeth with apical periodontitis. *Journal of endodontics* 2011 ; **37** : 390-397
 375. 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 research and therapy* 2010 ; **1** : 5
 376. Yang X, Van Den Dolder J, Walboomers XF, Zhang W, Bian Z, Fan M et al. The

- odontogenic potential of STRO-1 sorted rat dental pulp stem cells in vitro. *Journal of tissue engineering* 2007 ; **1** : 66-73
377. Yang X, Walboomers XF, Van Den Beucken JJ, Bian Z, Fan M, Jansen JA. Hard tissue formation of STRO-1 selected rat dental pulp stem cells in vivo. *Tissue Engineering. Part A* 2008 ; **15** : 367-375
 378. Yang X, Walboomers XF, Van Den Dolder J, Yang F, Bian, Z, Fan M et al. Non-viral bone morphogenetic protein 2 transfection of rat dental pulp stem cells using calcium phosphate nanoparticles as carriers. *Tissue Engineering. Part A* 2008 ; **14** : 71-81
 379. Yen AH, Sharpe PT. Stem cells and tooth tissue engineering. *Cell and tissue research* 2008 ; **331** : 359-372
 380. Young CS, Terada S, Vacanti JP, Honda M, Bartlett J, Yelick PC. Tissue engineering of complex tooth structures on biodegradable polymer scaffold. *Journal of dental research* 2002 ; **81** : 695-700
 381. Young HE, Steele TA, Bray RA, Hudson J, Floyd JA, Hawkins K et al. Human reserve pluripotent mesenchymal stem cells are present in the connective tissues of skeletal muscle and dermis derived from fetal , adult and geriatric donors. *Anatomical research* 2001 ; **264** : 51-62
 382. 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* 2007 ; **318** : 1917-1920
 383. Zeichner-David M, Oishi K, Su Z et al. Role of Hertwig's epithelial root sheath cells in tooth root development. *Development dynamics* 2003 ; **228** : 651-663
 384. Zhang H, Zeng X, Sun L. Allogenic bone-marrow-derived mesenchymal stem cells transplantation as a novel therapy for systemic lupus erythematosus. *Expert opinion on biological therapy* 2010 ; **10** : 701-709
 385. Zhang J, Li Y, Lu M, Cui Y, Chen J, Noffsinger L et al. Bone marrow stromal cells reduce axonal loss in experimental autoimmune encephalomyelitis mice. *Journal of neuroscience research* 2006 ; **84** : 587-595
 386. Zhang Q, Shi S, Liu Y, Uyanne J, Shi Y, Shi S et al. Mesenchymal stem cells derived from human gingiva are capable of immunomodulatory functions and ameliorate inflammation-related tissue destruction in experimental colitis. *Journal of immunology* 2009 ; **183** : 7787-7798
 387. Zhang QZ, Su WR, Shi SH, Wilder-Smith P, Xiang AP, Wong A et al. Human gingiva-derived mesenchymal stem cells elicit polarization of m2 macrophages and enhance cutaneous wound healing. *Stem cells* 2010 ; **28** : 1856-1868
 388. Zhang W, Walboomers XF, Shi S, Fan M, Jansen JA. Multilineage differentiation potential of stem cells derived from human dental pulp after cryopreservation. *Tissue engineering* 2006 ; **12** : 2813-2823
 389. Zhang YD, Chen Z, Song YQ, Liu C, Chen YP. Making a tooth : growth factors, transcription factors and stem cells. *Cell Research* 2005 ; **15** : 301-316
 390. Zhao M, Xiao G, Berry JE, Franceschi RT, Reddi A, Somerman MJ. Bone morphogenetic protein-2 induces dental follicle cells to differentiate toward a cementoblast/osteoblast phenotype. *Journal of bone mineralization research* 2002 ; **17** : 1441-1451
 391. Zheng Y, Liu Y, Zhang CM, Zhang HY, Li WH, Shi S et al. Stem cells from deciduous tooth repair mandibular defect in swine. *Journal of dental research* 2009 ; **88** : 249-254
 392. Zheng ZH, Li XY, Ding J, Jia JF, Zhu P. Allogenic mesenchymal stem cell and

- mesenchymal stem cell-differentiated chondrocyte suppress the responses of type II collagen-reactive T cells in rheumatoid arthritis. *Rheumatology* 2008 ; **47** : 22-30
393. Zippel N, Schulze M, Tobiasch E. Biomaterials and mesenchymal stem cells for regenerative medicine. *Recent patents on biotechnology* 2010 ; **4** : 1-22
394. Zuba-Surma E, Wojakowski W, Ratajczak M, Dawn B. Very small embryonic-like stem cells: biology and therapeutic potential for heart repair. *Antioxidants & Redox Signaling* 2011 ; **15** : 1821-1834
395. Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, De Ugarte DA, Huang Ji, Mizuno H et al. Human adipose tissue in a source of multipotent stem cells. *Molecular biology of the cell* 2002 ; **13** : 4279-4295
396. Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, Huang J, Futrell JW, Katz AJ et al. Multilineage cells from human adipose tissue : implications for cell-based therapies. *Tissue engineering* 2001 ; **7** : 211-228
- 397 <http://www.ccne-ethique.fr> (Accessed December 2012)
- 398 <http://eurlex.europa.eu> (Accessed January 2013)
- 399 <http://www.recherche.gouv.fr/discours/2000/dethique.htm> (Accessed January 2013)
- 400 cancero.unice.fr (Accessed February 2013)
- 401 <http://tpe-therapie-cellulaire.e-monsite.com/pages/a-les-maladies-cardiova> (Accessed December 2012)
- 402 <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/fr/index.html> (Accessed November 25, 2012)
- 403 www.fedecardio.org (Accessed November 25, 2012)
- 404 <http://celleng-tech.com/index/admsc.jpg> (Accessed December 2012)
- 405 <http://www.sciencellonline.com/site/productimages/large/R7500-1-l.jpg> (Accessed December 2012)
- 406 <http://medtextfree.wordpress.com/2011/12/26/chapter-14-hematopoietic-stem-cells-progenitor-cells-and-cytokines/> (2011)
- 407 <http://www.canceropole-grandouest.com/fr/axe/cellules-souches-et-cancer> (Accessed February 2013)
- 408 <http://pdwrites.com/2012/05/relief-for-worn-out-knees-your-own-stem-cells/> (Accessed December 2012)
- 409 www.purstem.eu.png (Accessed November 2012)
- 410 <http://www.nctimes.com/app/blogs/wp/?p=12238> (Accessed November 2012)
- 411 www.inserm.fr/thematiques/immunologie-hematologie-pneumologie (accessed November 1, 2012)
- 412 <http://www.csa.com/discoveryguides/stemcell/overview.php> (Accessed November 2012)
- 413 <http://stemcellupdate.net> (Accessed November 2012)

**TITRE : CELLULE STROMALE MESENCHYMATEUSE ET THERAPIE
CELLULAIRE EN ODONTOLOGIE**

VILLE ET DATE DE SOUTENANCE

Toulouse, le 3/04/2013

RESUME EN FRANCAIS

La recherche sur l'utilisation des cellules souches a suscité ces dernières années un grand intérêt en médecine régénérative et notamment en odontologie. Les cellules stromales mésenchymateuses adultes, en particulier grâce à leurs propriétés d'immuno-modulation et de différenciation, apparaissent comme de bonnes candidates pour les stratégies régénératives de la cavité orale (régénération pulpaire, parodontale, osseuse...). La littérature nous éclaire sur de nombreux protocoles de thérapie cellulaire en odontologie dont l'utilisation potentielle en clinique représente un vrai défi pour les chercheurs et un grand espoir pour les patients.

**TITRE ET RESUME EN ANGLAIS : MESENCHYMAL STEM CELLS AND CELL
THERAPY IN DENTISTRY**

The recent research in the stem cell field has spurred the great interest in regenerative medicine and dentistry. Mesenchymal adult stem cells, especially through their properties such as immunomodulatory and differentiation, are considered as the good candidates for oral regenerative strategies (pulp, periodontal and bone regeneration). Myriad of protocols in dental cell therapy are being studying and their potential use in the clinical practice remains a real challenge for scientists and a huge hope for patients.

MOTS-CLES :

- CELLULE STROMALE MESENCHYMATEUSE
 - MEDECINE REGENERATIVE
 - REGENERATION PULPAIRE
 - REGENERATION PARODONTALE
 - REGENERATION OSSEUSE
-

INTITULE ET ADRESSE DE L'U.F.R. :

FACULTE DE CHIRURGIE DENTAIRE
3, chemin des Maraîchers
31062 Toulouse cedex 9

DIRECTEUR DE THESE :

Docteur Philippe KEMOUN