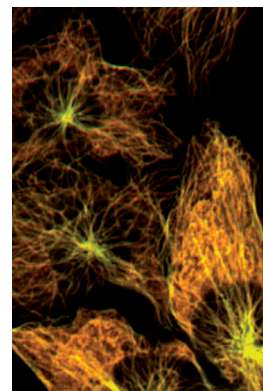


► Bien que les premiers essais de thérapie cellulaire dans l'insuffisance cardiaque se soient soldés pour la plupart par une absence d'améliorations cliniquement pertinentes, des signaux encourageants ont commencé à émerger, signaux qui suggèrent que les cellules souches, ou leurs produits de sécrétion, pourraient finalement trouver leur place dans l'arsenal des traitements proposés aux patients atteints d'insuffisance cardiaque. Dans ce cadre, les cellules souches pluripotentes suscitent un intérêt particulier en raison de leur capacité unique à donner naissance à des cellules spécifiques d'un lignage donné et transplantables au stade de différenciation souhaité. Cette revue discute l'état actuel de la recherche dans ce domaine, les problèmes qui restent à résoudre et les approches susceptibles d'accélérer les applications cliniques de ce type cellulaire. ◀

Les cellules souches pluripotentes dans le traitement de l'insuffisance cardiaque

Statut actuel, problèmes et perspectives

Manon Desgres¹, Philippe Menasché^{1,2}



¹Université de Paris, PARCC, Inserm, F-75015 Paris, France

²Département de chirurgie cardio-vasculaire, Hôpital Européen Georges Pompidou, 20 rue Leblanc, 75015 Paris, France

philippe.menasche@aphp.fr

définies par la double propriété d'auto-renouvellement indéfini et de différenciation vers tous les types cellulaires (hormis les annexes embryonnaires), ces cellules offrent sur le plan thérapeutique l'intérêt d'un contrôle précis du processus de différenciation qui peut ainsi être « gelé » au stade souhaité (progéniteurs précoces ou cellules plus matures) – toutes propriétés dont sont dépourvues les cellules adultes. Aussi les remarques qui suivent débordent-elles occasionnellement le strict cadre des applications cardiaques pour souligner la communauté trans-disciplinaire des problèmes que pose l'utilisation des CSP à des fins thérapeutiques et des solutions possibles.

Les essais cliniques

Les premières CSP qui ont été utilisées en clinique ont ciblé les paraplégies traumatiques. Un essai de phase I utilisant des progéniteurs d'oligodendrocytes dérivés de cellules souches embryonnaires (CSE) a été initié en octobre 2010 puis rapidement arrêté, lorsque la société a décidé de se recentrer sur des indications oncologiques. Il a depuis été repris et, en janvier 2019, les résultats à un an concernant 25 patients ont été rapportés montrant l'absence de complication spécifique et des améliorations encourageantes de la motricité des membres supérieurs.

Le deuxième organe ciblé par les dérivés différenciés des CSE a été l'œil pour le traitement de la dégénérescence maculaire liée à l'âge

Alors que pendant longtemps, le traitement de la plupart des maladies a reposé sur deux piliers principaux, à savoir les médicaments et les procédures interventionnelles, les biothérapies ont émergé au cours des deux dernières décennies comme une troisième option thérapeutique potentielle. Parmi elles, l'utilisation de cellules continue de susciter un intérêt majeur parce qu'au contraire des thérapeutiques conventionnelles, elle ne cible pas la rémission des symptômes mais s'adresse aux racines même de la maladie en visant la réparation ou, encore mieux, la régénération du tissu pathologique. Historiquement, les cellules de tissu adulte ont été les plus fréquemment utilisées dans de nombreux essais cliniques, mais la reconnaissance de leurs limites, principalement un potentiel de différenciation et de prolifération limité, a progressivement conduit à considérer des cellules plus immatures et, en particulier, les cellules souches pluripotentes (CSP), comme des alternatives attractives. Classiquement

Vignette (Photo © Inserm - Belmadani, Souâd).

et la maladie de Stargardt¹ comme indications prioritaires. L'essai pionnier [1] a inclus 18 patients suivis pendant 22 mois après une transplantation sous-rétinienne de nombres croissants de progéniteurs de l'épithélium rétinien. Les seules complications rapportées ont été celles en rapport avec la chirurgie ou le traitement immunosuppresseur, mais une amélioration de l'acuité visuelle a été observée dans plus de la moitié des yeux traités. Plus récemment, une amélioration identique de l'acuité visuelle a été rapportée dans deux essais effectués sur des cohortes de petite taille où les injections de suspensions cellulaires ont été remplacées par une transplantation des progéniteurs rétiniens déposés sur une matrice visant à reproduire la membrane de Bruch² [2].

Le cerveau des patients parkinsoniens est une autre indication potentielle des CSP qu'il est possible de différencier en neurones dopaminergiques. Après transplantation intra-cérébrale, ces neurones sont capables d'améliorer les déficits moteurs dans des modèles pré-cliniques de la maladie y compris chez le primate non humain [3]. Ces données expérimentales ont ouvert la voie à un essai clinique en cours en Chine.

La meilleure connaissance des voies de signalisation modulant les différentes étapes conduisant les cellules de l'endoderme vers la génération d'îlots pancréatiques a permis de reproduire *in vitro* ces étapes et ainsi générer des cellules β -like à partir de CSP destinées au traitement du diabète [4]. Pour éviter le rejet de ces cellules et réduire ou, encore mieux, éliminer la nécessité de médicaments immunosuppresseurs, les cellules ont en général été encapsulées dans des micro-particules d'alginate avec l'idée que la membrane de la capsule les protégerait d'une destruction par le système immunitaire du receveur tout en permettant à la fois un influx d'oxygène et de facteurs nutritifs et la libération de l'insuline produite par les cellules encapsulées. Une limite majeure de cette stratégie d'encapsulation a été la survenue de réactions à des corps étrangers et le développement secondaire d'une fibrose péri-capsulaire limitant le fonctionnement à long terme du greffon. Aussi plusieurs technologies visent-elles actuellement à optimiser la formulation de ces particules d'alginate [5] et à favoriser la vascularisation des îlots greffés.

Dans le cas de l'insuffisance cardiaque, les premières cellules qui ont été implantées cliniquement dans le myocarde ont été les myoblastes squelettiques et les cellules mononucléées issues de la moelle osseuse. Les résultats décevants de ces essais ont secondairement conduit à privilégier plutôt les cellules mésenchymateuses de diverses origines (moelle osseuse, tissu adipeux, cordon ombilical) et qui, bien que le qualificatif « souches » leur soit habituellement accolé, n'en ont pas les attributs. Actuellement, plus d'une vingtaine d'essais cliniques testant ces cellules sont en cours. En parallèle, la reconnaissance que de meilleurs résultats pourraient sans doute être obtenus avec des cellules de phénotype proche de celui des cellules de l'organe cible a été à l'origine d'une seconde génération d'essais cliniques utilisant des cellules engagées

vers un lignage cardiaque : cellules mésenchymateuses autologues de moelle dites « cardiopoïétiques » car traitées préalablement *in vitro* pour surexprimer des facteurs de transcription cardiaques [6] ; cardiosphères qui sont des agglomérats de plusieurs types cellulaires prélevés par biopsie endomyocardique du ventricule droit [7] ; « cellules souches cardiaques » *c-kit* positives, cultivées à partir d'une biopsie per-opératoire de l'oreillette droite [8]. Néanmoins, les résultats de ces essais cliniques se sont révélés être neutres (avec les cellules médullaires cardiopoïétiques et les cardiosphères), quand ils n'ont pas été franchement remis en cause au nom de l'honnêteté scientifique (pour les cellules *c-kit* positives), ce qui a constitué l'incitation la plus forte à explorer aujourd'hui la piste alternative des CSP pour générer des cellules cardiaques.

Le contrôle des signaux cardio-instructeurs (leur nature, la durée d'exposition nécessaire) permet, comme indiqué plus haut, de sélectionner le stade de différenciation souhaité pour la transplantation : progéniteurs cardio-vasculaires ou cardiomyocytes différenciés. C'est la première option que nous avons retenue pour notre essai clinique (ESCORT) qui a utilisé des progéniteurs précoces *Isl-1*⁺ incorporés dans un gel de fibrine déposé sur l'épicaarde de la zone infarctée au cours d'un pontage coronaire réalisé chez 6 patients présentant une dysfonction ventriculaire gauche sévère [9]. Au-delà de la démonstration qu'un tel produit de l'ingénierie tissulaire pouvait être fabriqué selon les normes réglementaires en vigueur, notre essai a atteint avec succès son objectif premier qui était la sécurité, dans la mesure où, avec un recul aujourd'hui maximal de 4 ans et 5 mois (en mars 2019), aucun des patients n'a présenté de complications pouvant être spécifiquement attribuées aux cellules greffées (troubles du rythme, tumeurs, allo-immunisation cliniquement pertinente). Cependant, en raison de son protocole, l'essai ne peut naturellement pas répondre à la question de l'efficacité, et l'amélioration de l'épaississement systolique des segments myocardiques traités par le patch cellularisé et non revascularisés, telle qu'elle a été observée chez certains patients, ne peut au mieux qu'être considérée comme un signal encourageant.

Alors que les cellules souches embryonnaires ont été les premières cellules pluripotentes à être testées cliniquement, elles sont maintenant relayées par les cellules souches induites à la pluripotence (iPSC). Le premier essai initié au Japon a utilisé des progéniteurs de l'épithélium rétinien dérivés d'iPSC pour traiter la dégénérescence maculaire. L'étude a néanmoins été arrêtée après le premier patient en raison d'altérations génétiques des cellules qui avaient été préparées pour le traitement du

¹ La maladie de Stargardt est une dystrophie maculaire héréditaire rare d'apparition précoce caractérisée par une perte progressive de la vision centrale.

² Couche tissulaire située entre l'épithélium pigmentaire rétinien et la choriocapillaire.

second [10]. Cette observation a conduit les investigateurs à modifier le protocole et à utiliser des iPSC allogéniques, qui, elles, ont franchi avec succès tous les contrôles de qualité. À ce jour, un patient a été transplanté et quatre autres sont en attente de traitement. D'autres essais utilisant ces iPSC sont en préparation pour le traitement de différentes pathologies : maladie de Parkinson, paraplégies traumatiques, maladies cornéennes et insuffisance cardiaque, dans ce dernier cas en Chine où l'étude a débuté, ainsi qu'au Japon et en Allemagne. Contrairement à notre choix pour l'essai ESCORT, celui des investigateurs est de transplanter préférentiellement des cardiomyocytes déjà différenciés.

Tous ces essais de thérapie cellulaire utilisant des CSP ont ainsi avant tout démontré la sécurité de ce type de traitement (5 patients de la première étude portant sur les paraplégies traumatiques sont maintenant à 8 années de leur greffe sans aucun effet secondaire rapporté) mais peu de ces études ont été conçues pour réellement démontrer son efficacité. Néanmoins, quelques signaux encourageants ont déjà émergé. Ils rendent crédible l'hypothèse que les cellules différenciées à partir de CSP ou leurs produits de sécrétion peuvent trouver une place dans l'arsenal des traitements contre de nombreuses maladies mettant en jeu le pronostic vital du patient ou fonctionnellement invalidantes. Naturellement, les résultats des essais actuels et futurs devront être analysés à la lumière de ceux obtenus avec des traitements alternatifs qui font également l'objet d'investigations extensives pour traiter les mêmes pathologies, comme la thérapie génique pour les maladies oculaires [11], les pompes à insuline dans le diabète [12] ou l'administration intra-cérébrale directe de facteurs de croissance dans la maladie de Parkinson [13].

Les mécanismes d'action

Historiquement, le premier objectif de la thérapie cellulaire a été de remplacer le tissu pathologique par de nouvelles cellules visant à créer un néo-tissu fonctionnel. Cet objectif a été atteint avec succès dans des modèles de cardiopathie ischémique après transplantation intra-myocardique de cardiomyocytes dérivés d'iPSC [14], cellules qui se sont d'ailleurs révélées supérieures à celles d'autres sources somatiques [15]. Toutefois, la translation clinique de cette approche pose des défis majeurs. Le premier est la nécessité de transplanter des quantités très importantes de cardiomyocytes, de l'ordre du milliard, compte tenu de l'étendue habituelle des dommages myocardiques qui peuvent justifier ce type de procédure. Conserver un tel nombre de cellules vivantes et viables sur une longue période de temps, de sorte qu'elles puissent efficacement contribuer à la génération d'une force contractile, est un autre défi qui a motivé l'évaluation expérimentale de multiples stratégies destinées à améliorer la survie du greffon et souvent fondées sur l'ingénierie génétique ou le pré-conditionnement des cellules [16]. Toutefois, ces approches n'ont pas, à ce jour, été traduites en clinique à cause de la complexité technique réglementaire et économique qui leur est liée. Idéalement, enfin, les cardiomyocytes injectés doivent se coupler avec ceux du myocarde receveur de façon homogène afin d'éviter les troubles du rythme, un risque qui a été documenté chez le primate non humain [14] et chez le porc [17] où la

présence initiale de cardiomyocytes dérivés d'iPSC ou de CSE est obtenue au prix d'arythmies ventriculaires précoces.

La discordance observée constamment entre la perte rapide des cellules greffées et la persistance d'un effet fonctionnel bénéfique a conduit à l'hypothèse d'une signalisation paracrine [18] par laquelle des molécules bioactives sécrétées par les cellules du greffon activent des mécanismes endogènes de réparation tissulaire. Ceux-ci se manifestent notamment par une stimulation de l'angiogénèse et une diminution de l'inflammation, de la fibrose et peut-être de l'apoptose, alors qu'une prolifération des cardiomyocytes de l'hôte paraît plus incertaine. Ce sécrétome cellulaire responsable de l'effet paracrine est constitué principalement de facteurs solubles (facteurs de croissance, cytokines) et de vésicules extra-cellulaires, nanoparticules qui regroupent exosomes et microparticules (que l'on distingue en fonction de leur taille, biogénèse et contenu). Ces vésicules jouent un rôle majeur dans la communication inter-cellulaire grâce à leur capacité à transférer dans les cellules « receveuses » un contenu riche en protéines, lipides et acides nucléiques et à ainsi modifier leurs fonctions. Cette hypothèse paracrine est renforcée par l'observation que le sécrétome cellulaire peut reproduire les effets protecteurs des cellules mères dans de multiples modèles pré-cliniques, notamment de pathologie cardiaque [19]. Cette hypothèse a deux conséquences directes sur le choix des cellules à implanter : elles doivent présenter un fort potentiel sécrétoire, ce qui est le cas des cellules encore peu différenciées, et un phénotype aussi proche que possible de celui des cellules du tissu ciblé [20], ce qui qualifie particulièrement des cellules engagées vers un lignage cardiaque [21]. Le fait que les effets cardio-protecteurs des cellules transplantées peuvent être obtenus en utilisant leur sécrétome conduit actuellement à l'idée de n'administrer que ce dernier et non les cellules elles-mêmes. Ceci pourrait représenter des avantages en clinique avec, en particulier, un procédé de fabrication se rapprochant davantage de celui d'un médicament, l'absence d'immunogénicité (en fonction de la source cellulaire) et une stabilité sous cryopréservation permettant une disponibilité immédiate.

Quel que soit le mécanisme d'action impliqué (direct ou paracrine), une difficulté majeure reste d'assurer une prise de greffe effective. Dans le cas spécifique des CSP, qui sont par définition allogéniques (seules les iPSC peuvent être d'origine autologue mais, pour des raisons logistiques et financières, la tendance est de les utiliser également dans des situations allogéniques lorsque l'objectif est la réparation tissulaire), la pré-

vention du rejet est très dépendante du mécanisme d'action présumé des cellules greffées. Dans l'hypothèse paracrine, il est assumé que les cellules vont inévitablement mourir et n'ont besoin d'être présentes que transitoirement, le temps de libérer les biomolécules sous-tendant leurs effets. Dans ce cas, l'immunosuppression peut n'être prescrite que pendant une courte période (1 mois dans notre essai), ce qui est habituellement bien toléré. À l'opposé, si l'objectif est une permanence des cellules à long terme, l'immunosuppression (induite par la ciclosporine, le FK506-tacrolimus, ou les corticoïdes) devrait théoriquement être également induite à vie, mais on en connaît les effets secondaires indésirables et les protocoles des essais en préparation divergent encore sur le type de molécules le plus approprié, leur dosage optimal et la durée nécessaire du traitement. Compte tenu des limites de cette classique immunosuppression médicamenteuse, des options alternatives sont en cours de développement : la compatibilité immunologique entre donneur et receveur, par l'utilisation de cellules provenant de lignées haplotypées en ce qui concerne les molécules du système HLA (*human leukocyte antigen*) [22] ; l'ingénierie génétique des CSP pour éliminer les gènes codant les molécules HLA de classes I et II [23] ; ou l'induction d'une tolérance immunologique par le conditionnement de l'hôte par une activation ou un transfert adoptif de lymphocytes T régulateurs [24]. À l'exception de la compatibilité des molécules du système HLA, actuellement testée dans la maladie de Parkinson, aucune de ces approches n'a encore été utilisée cliniquement.

L'objectif de repeupler le cœur avec de nouveaux cardiomyocytes pourrait aussi être atteint par des approches alternatives fondées sur la stimulation de la division des cardiomyocytes endogènes obtenue en levant les points de contrôle du cycle cellulaire [25]. Mais ceci semble nécessiter de modifier le métabolisme des cellules afin de favoriser la glycolyse aux dépens de la phosphorylation oxydative qui a été identifiée comme un frein majeur à la prolifération des cardiomyocytes [26]. Les applications cliniques de ces approches restent donc sans doute encore lointaines.

Le transfert des cellules

Les cellules sont habituellement injectées directement dans l'organe cible. Cette procédure peut néanmoins altérer à la fois le tissu hôte et les cellules elles-mêmes en raison de l'augmentation très importante des contraintes de cisaillement auxquelles elles sont soumises lorsqu'elles passent de la seringue à une aiguille de petit calibre [27]. Dans la seringue, les cellules en suspension tendent également à sédimenter, ce qui peut induire un gradient de densité à l'origine d'une dispersion inégale des cellules et donc à une quantité délivrée variable lorsque des injections multiples sont réalisées, les densités cellulaires les plus élevées correspondant à la première injection. Des améliorations sont envisagées afin d'augmenter la précision du transfert tout en minimisant son caractère invasif.

Dans le cœur, les principales voies d'administration des cellules ont été trans-épiscopiques, trans-endocardiques ou intra-coronaires. Bien que l'approche intra-myocardique directe semble la plus effi-

ciente [28], elle reste grevée d'un faible taux de rétention des cellules greffées qui contribue vraisemblablement à nombre d'échecs thérapeutiques. Même si cette rétention peut être améliorée par des cathéters dédiés ou une association à des biomatériaux (comme discuté plus loin), les voies d'administration mentionnées plus haut ont en commun plusieurs limites : elles nécessitent des environnements spécifiques et des équipes hautement entraînées ; elles sont coûteuses ; et, surtout, elles ont un caractère invasif qui empêche leur répétition aisée. L'échec de nombreux essais cliniques pourrait être ainsi dû au fait que les cellules n'ont été administrées qu'une seule fois alors qu'il a été montré que des injections répétées sont préférables à une injection unique pour une dose cumulée équivalente [29]. Afin de remédier à ce problème, la voie intraveineuse fait aujourd'hui l'objet d'un intérêt croissant. Cette approche peut paraître paradoxale, les études de bio-distribution de cellules injectées par voie intraveineuse ayant montré que la plupart d'entre elles n'atteignent pas le cœur mais s'accumulent dans le foie, les poumons et la rate [30]. Néanmoins, cette distribution n'empêche pas une amélioration de la fonction cardiaque après injection des cellules [31] ou de leur secrétome [32], ce qui suggère que les biomolécules libérées par les cellules séquestrées (ou leur secrétome) pourraient agir à distance sur un mode endocrine [30] et/ou induire des modifications touchant les cellules immuno-inflammatoires les orientant vers un phénotype anti-inflammatoire et réparateur [33]. À ce jour, très peu d'études ont été consacrées aux injections par voie intraveineuse de CSP [34] ; l'utilisation exclusive de leur secrétome pourrait améliorer encore la sécurité de cette approche systémique sans compromettre son efficacité surtout si les cellules sont préalablement stimulées par des ligands spécifiques de récepteurs qui sont exprimés par le tissu cible [35].

La maturation des cellules cardiaques dérivées des CSP

Si la réplication *in vitro* des voies de signalisation qui déterminent le destin cellulaire au cours de l'embryogénèse permet de produire des cellules différenciées spécifiques d'un lignage, se pose néanmoins la question du stade optimal de différenciation auquel ces cellules doivent être transplantées. Dans un modèle murin de maladie de Parkinson, des neurones dopaminergiques immatures post-mitotiques ont ainsi été identifiés comme étant les plus efficaces, comparés à des cellules à des stades plus précoces ou plus tardifs de différenciation [36]. Dans le diabète, les données

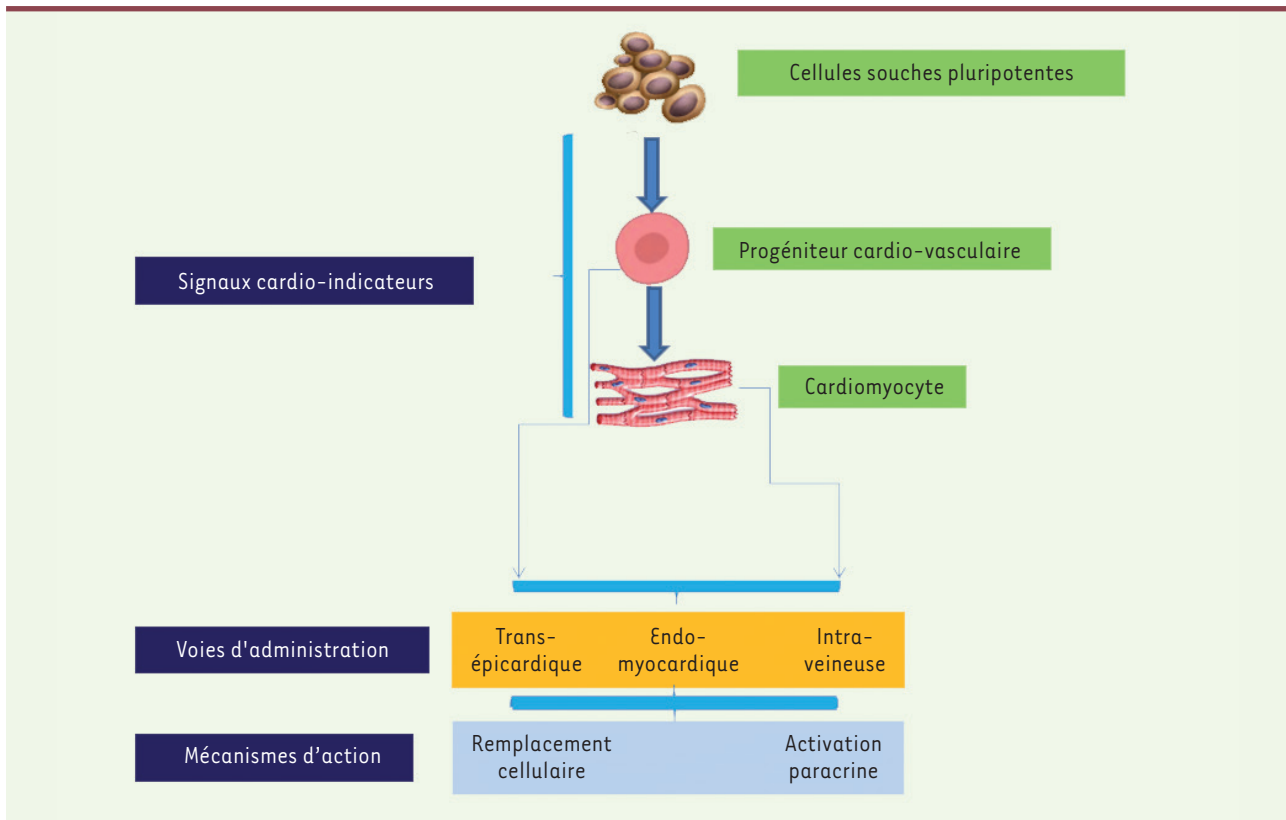


Figure 1. Les cellules souches pluripotentes dans le traitement de l'insuffisance cardiaque.

sont plus contradictoires. Certains investigateurs ont choisi de transplanter des progéniteurs pancréatiques, avec pour hypothèse que ces cellules résisteraient mieux à l'hypoxie et qu'elles pourront poursuivre leur maturation *in vivo* [37]. D'autres font valoir que ce processus de maturation est long (de l'ordre de 4 mois) et préfèrent greffer des cellules β déjà différenciées, supposées être rapidement fonctionnelles après transplantation [38].

Dans le cas du cœur, l'une des approches est de transplanter des cardiomyocytes dérivés de CSP présentant un phénotype ventriculaire aussi proche que possible de celui des cellules natives avec le pari qu'ils pourront générer une plus grande force contractile, être moins arythmogènes, puisqu'un processus prolongé de différenciation devrait permettre d'éliminer les cellules douées d'automaticité, et enfin présenter un risque moindre en raison de l'absence présumée au sein de cette population de cellules immatures à fort potentiel prolifératif. Cet objectif ambitieux a été ciblé par une variété de stratégies, dont la prolongation de la durée de culture, l'exposition à une stimulation électrique, l'application d'une contrainte mécanique, la croissance dans un environnement tridimensionnel, l'addition de types cellulaires non cardiaques co-cultivés, l'utilisation d'hormones et de petites molécules et enfin un ajustement de l'environnement extra-cellulaire [39]. Une approche alternative consiste à transplanter des progéniteurs précoces. Ce choix est étayé, d'une part par leur métabolisme glycolytique qui pourrait aider les cellules à mieux tolérer l'environnement hypoxique dans lequel elles sont

transplantées et donc à former de plus larges greffons, d'autre part par une plus grande plasticité, facilitant une différenciation vers des cellules cardiaques et vasculaires et, finalement, un plus grand potentiel sécrétoire permettant d'optimiser la signalisation paracrine [21]. Ces arguments ont rationalisé notre utilisation clinique de progéniteurs cardiaques *Isl-1*⁺ [9] mais force est de constater que le débat n'est pas tranché.

L'aspect sécurité

Le problème sécuritaire majeur posé par l'utilisation clinique des CSP est la survenue d'une tumeur favorisée par des mutations génétiques apparues pendant la période de culture [40], avec d'ailleurs un risque qui semble plus élevé avec les iPSC qu'avec les CSE [41]. Dans une perspective clinique, il est donc essentiel de contrôler régulièrement les CSP en culture afin de détecter des mutations oncogéniques par une approche multifactorielle (caryotype, hybridation *in situ* en fluorescence, hybridation génomique comparative) tout en gardant à l'esprit que ces techniques de criblage à haut débit peuvent méconnaître des altérations uniquement présentes dans une population cellulaire minoritaire.

Même si les cellules sont restées génétiquement stables pendant la culture, un risque persiste toutefois. Celui du développement d'un tératome à partir de cellules pluripotentes qui n'ont pas répondu aux signaux instructeurs spécifiques d'un lignage et « contaminent » la population de cellules destinées au patient. Ces tératomes sont des tumeurs bénignes composées en proportions diverses de tissus issus de trois couches germinales (mésoderme, endoderme et ectoderme). Elles sont néanmoins potentiellement graves en raison des phénomènes compressifs qu'elles peuvent exercer sur les tissus, et d'un risque de transformation maligne des cellules qui les constituent. Ce risque est d'autant plus important que les cellules sont encore à un stade de progéniteurs, rendant alors essentiel l'élimination de celles qui ont conservé un caractère pluripotent. La purification du produit de thérapie cellulaire final peut être obtenue par une variété de techniques comme l'utilisation d'agents génotoxiques auxquels les cellules encore indifférenciées sont très sensibles [42], ou une culture sans glucose et enrichie en lactate qui favorise la survie exclusive des cardiomyocytes différenciés [43]. En clinique, cependant, la sélection d'une population pure de progéniteurs se fonde préférentiellement sur le ciblage des cellules par des anticorps reconnaissant des marqueurs de surface spécifiques du phénotype retenu (SSEA-1 [*stage-specific embryonic antigen-1*] pour les progéniteurs cardiovasculaires, par exemple) suivi d'un tri sur billes magnétiques.

Au terme de cette étape, le produit supposé purifié et génétiquement stable nécessite cependant d'être testé *in vitro*, par des analyses visant à détecter des marqueurs associés à la pluripotence, et *in vivo*, par les études de tumorigénicité et de bio-distribution [44]. Pour ces études, il est important de déterminer le pourcentage de cellules pluripotentes au-dessus duquel une tumeur apparaît en faisant varier les rapports entre ces cellules et les cellules différenciées afin de définir un seuil de pureté compatible avec la libération d'un lot clinique (95 % dans notre essai ESCORT). Toutefois, ces données expérimentales doivent être interprétées avec prudence en raison de leurs limites, principalement un contexte habituellement xénogénique (les cellules humaines étant transplantées chez des rongeurs). Une dernière mesure sécuritaire peut consister à transfecter des lignées de cellules souches avec des gènes-suicides pharmacologiquement inductibles [45,46] mais dont l'utilisation en clinique introduit toutefois un degré supplémentaire de complexité technique, économique et réglementaire.

L'utilisation de biomatériaux

Le faible taux de rétention initiale des cellules injectées et leur forte mortalité secondaire ont conduit à développer des stratégies visant à optimiser leur maintien dans le tissu greffé. Les biomatériaux sont ainsi apparus comme une approche attractive de par leur capacité à agir comme des lubrifiants protecteurs au cours des injections, et à fournir aux cellules une matrice tridimensionnelle porteuse de signaux qui peuvent favoriser leurs viabilité, prolifération et différenciation. Les biomatériaux peuvent également servir de réservoirs contrôlant la libération des facteurs paracrines sécrétés par les cellules. Les exemples les plus typiques de matériaux qui ont évolué vers des

applications cliniques concernent le diabète (avec les capsules d'alginate [47]), la dégénérescence maculaire (avec un polymère comme support des progéniteurs épithélio-rétiniens [2]) et le cœur (avec une matrice de fibrine incorporant des progéniteurs cardiovasculaires dérivés de CSE [9]). De nombreuses revues ont été consacrées à ces biomatériaux [48] et nous nous limiterons à décrire quelques-unes de leurs caractéristiques qui sont essentielles pour une application clinique.

Les caractéristiques spécifiques du matériau

Les caractéristiques spécifiques du matériau (rigidité, porosité) doivent être adaptées à son objectif précis : renforcement mécanique de la paroi, plateforme passive pour libérer des cellules ou des biomolécules ou matrice visant à l'activation de mécanismes endogènes de réparation. Si le biomatériau est conçu comme un patch cardiaque destiné à persister longtemps et à s'intégrer dans le myocarde du patient receveur, une ingénierie plus complexe peut être nécessaire pour lui donner des propriétés angiogéniques (par optimisation de sa porosité ou génération de réseaux capillaires avant l'implantation [49]) et électro-conductrices. Un ordonnancement géométrique précis des cellules selon des motifs pré-déterminés peut aussi contribuer à améliorer leur capacité de réparation et leurs interactions avec la matrice extra-cellulaire de l'hôte. Les techniques d'électro-filage et de bio-impression rendent désormais possible ce contrôle architectural précis.

Mode d'administration

Le second facteur qui influence le choix du biomatériau est son mode d'administration. Si un cathéter est utilisé, le matériau devra posséder des propriétés rhéo-fluidifiantes afin qu'il puisse s'écouler sous forme liquide dans la lumière du dispositif avant de se gélifier une fois le tissu cible atteint. Si le matériau est conçu pour être un patch épigardique, ses caractéristiques mécaniques devront concilier biocompatibilité et possibilité de le manipuler pendant l'intervention, y compris même de le suturer.

Sécurité et rapport coût/efficacité

Au regard des applications cliniques, deux impératifs doivent être également considérés. Le premier est naturellement la sécurité. Cela implique l'utilisation de biomatériaux ne causant que peu ou pas de réponses inflammatoire et immune. Le second concerne la fabrication qui doit répondre à un rapport coût-efficacité favorable par l'utilisation de matériaux sources faci-

lement disponibles à prix raisonnable, fabricables à grande échelle, stérilisables et stables après stockage. Chaque fois que l'objectif ultime est d'aller vers la clinique, il est capital de conserver à l'esprit dès la conception du programme que c'est un gaspillage de temps et de ressources que de développer un produit d'ingénierie tissulaire dont la complexité est telle qu'il est peu probable qu'il soit jamais approuvé par les autorités réglementaires et/ou remboursé par les parties prenantes.

Conclusion

L'expérience accumulée en thérapie cellulaire dans une large gamme de pathologies permet maintenant d'envisager plus clairement les directions à explorer pour rendre l'usage des cellules ou de leurs produits de sécrétion efficaces sur le plan thérapeutique, pour faciliter leur administration et développer des thérapies économiquement viables. Les limites reconnues des cellules adultes à la plasticité limitée soulignent l'intérêt des recherches consacrées aux CSP. Les problèmes restant à résoudre étant souvent similaires quel que soit l'organe considéré, on ne saurait trop insister sur l'intérêt de s'inspirer de l'expérience d'investigateurs impliqués dans des domaines extérieurs à sa propre discipline, tant la fertilisation croisée peut être productive. En définitive, et quelles que soient les propriétés attractives des CSP, leur succès thérapeutique ne dépend pas seulement de leur nature, de leur voie d'administration ou d'une incorporation dans des matrices tri-dimensionnelles. Il nécessite également un meilleur ciblage des patients susceptibles de bénéficier au mieux de ces traitements ; dans ce contexte, on peut espérer que l'exploitation des méta-données par des techniques dérivées de l'intelligence artificielle aide à discriminer les répondeurs des non répondeurs et permette ainsi de plus précisément cibler les patients chez lesquels on peut espérer un bénéfice thérapeutique [50]. En parallèle, le schéma des essais nécessite aussi sans doute d'être repensé et les modèles de type bayésien (prévisionnistes) pourraient s'avérer mieux adaptés que les approches fréquentistes (observationnelles).

Enfin, compte tenu du caractère de plus en plus exigeant des contraintes réglementaires, la translation clinique de ces thérapies fondées sur des cellules ou leur sécrétome impose que tout plan de développement soit conçu depuis le tout début de façon à optimiser l'automatisation des procédés de production, la reproductibilité des lots et la fiabilité des contrôles-qualité, toutes conditions nécessaires pour orienter le rapport coût/bénéfice dans une direction favorable, ce qui reste le pré-requis à de larges applications cliniques. ♦

SUMMARY

Pluripotent stem cells for the treatment of heart failure: current status, persisting issues and perspectives

Although the first wave of cell therapy trials has not commonly yielded clinically meaningful improvements, some encouraging hints have emerged which suggest that stem cells or their secreted products could ultimately find a place within the armamentarium of therapies that can be offered to patients with heart failure. In this setting, pluripotent

stem cells raise a particular interest because of their unique ability to generate lineage-specific cells which can be transplanted at the desired stage of differentiation. This review discusses the current status of research in this field, the persisting roadblocks that need to be overcome and the approaches which might hasten the clinical applications of this cell type. ♦

LIENS D'INTÉRÊT

Philippe Menasché est consultant pour Fujifilm-Cellular Dynamics, Inc. ; Manon Desgres n'a aucun lien d'intérêt.

RÉFÉRENCES

- Schwartz SD, Regillo CD, Lam BL, et al. Human embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelium in patients with age-related macular degeneration and Stargardt's macular dystrophy: follow-up of two open-label phase 1/2 studies. *Lancet* 2015 ; 385 : 509-16.
- Kashani AH, Lebkowski JS, Rahhal FM, et al. A bioengineered retinal pigment epithelial monolayer for advanced, dry age-related macular degeneration. *Sci Transl Med* 2018 ; 10.
- Kikuchi T, Morizane A, Doi D, et al. Human iPS cell-derived dopaminergic neurons function in a primate Parkinson's disease model. *Nature* 2017 ; 548 : 592-6.
- Sneddon JB, Tang Q, Stock P, et al. Stem cell therapies for treating diabetes: progress and remaining challenges. *Cell Stem Cell* 2018 ; 22 : 810-23.
- Strand BL, Coron AE, Skjak-Braek G. Current and future perspectives on alginate encapsulated pancreatic islet. *Stem Cells Transl Med* 2017 ; 6 : 1053-8.
- Bartunek J, Terzic A, Davison BA, et al. Cardiopoietic cell therapy for advanced ischaemic heart failure: results at 39 weeks of the prospective, randomized, double blind, sham-controlled CHART-1 clinical trial. *Eur Heart J* 2017 ; 38 : 648-60.
- Smith RR, Barile L, Cho HC, et al. Regenerative potential of cardiosphere-derived cells expanded from percutaneous endomyocardial biopsy specimens. *Circulation* 2007 ; 115 : 896-908.
- Bolli R, Chugh AR, D'Amario D, et al. Cardiac stem cells in patients with ischaemic cardiomyopathy (SCIPIO): initial results of a randomised phase 1 trial. *Lancet* 2011 ; 378 : 1847-57.
- Menasché P, Vanneaux V, Hagege A, et al. Transplantation of human embryonic stem cell-derived cardiovascular progenitors for severe ischemic left ventricular dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2018 ; 71 : 429-38.
- Mandai M, Watanabe A, Kurimoto Y, et al. Autologous induced stem-cell-derived retinal cells for macular degeneration. *N Engl J Med* 2017 ; 376 : 1038-46.
- Ramlogan-Steel CA, Murali A, Andrzejewski S, et al. Gene therapy and the adeno-associated virus in the treatment of genetic and acquired ophthalmic diseases in humans: trials, future directions and safety considerations. *Clin Exp Ophthalmol* 2019 ; 47 : 521-36.
- Latres E, Finan DA, Greenstein JL, et al. Navigating two roads to glucose normalization in diabetes: automated insulin delivery devices and cell therapy. *Cell Metab* 2019 ; 29 : 545-63.
- Whone A, Luz M, Boca M, et al. Randomized trial of intermittent intraputamenal glial cell line-derived neurotrophic factor in Parkinson's disease. *Brain* 2019 ; 142 : 512-25.
- Shiba Y, Gomibuchi T, Seto T, et al. Allogeneic transplantation of iPS cell-derived cardiomyocytes regenerates primate hearts. *Nature* 2016 ; 538 : 388-91.
- Ishida M, Miyagawa S, Saito A, et al. Transplantation of human-induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes is superior to somatic stem cell therapy for restoring cardiac function and oxygen consumption in a porcine model of myocardial infarction. *Transplantation* 2019 ; 103 : 291-8.
- Mohsin S, Siddiqi S, Collins B, et al. Empowering adult stem cells for myocardial regeneration. *Circ Res* 2011 ; 109 : 1415-28.
- Romagnuolo R, Masoudpour H, Porta-Sánchez A, et al. Human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes regenerate the infarcted pig heart but induce ventricular tachyarrhythmias. *Stem Cell Reports* 2019 ; 12 : 967-81.

RÉFÉRENCES

18. Garbern JC, Lee RT. Cardiac stem cell therapy and the promise of heart regeneration. *Cell Stem Cell* 2013 ; 12 : 689-98.
19. Kervadec A, Bellamy V, El Harane N, et al. Cardiovascular progenitor-derived extracellular vesicles recapitulate the beneficial effects of their parent cells in the treatment of chronic heart failure. *J Heart Lung Transplant* 2016 ; 35 : 795-807.
20. Barile L, Cervio E, Lionetti V, et al. Cardioprotection by cardiac progenitor cell-secreted exosomes: role of pregnancy-associated plasma protein-A. *Cardiovasc Res* 2018 ; 114 : 992-1005.
21. El Harane N, Kervadec A, Bellamy V, et al. Acellular therapeutic approach for heart failure: in vitro production of extracellular vesicles from human cardiovascular progenitors. *Eur Heart J* 2018 ; 39 : 1835-47.
22. Neofytou E, O'Brien CG, Couture LA, et al. Hurdles to clinical translation of human induced pluripotent stem cells. *J Clin Invest*. 2015 ; 125 : 2551-7.
23. Deuse T, Hu X, Gravina A, et al. Hypoimmunogenic derivatives of induced pluripotent stem cells evade immune rejection in fully immunocompetent allogeneic recipients. *Nat Biotechnol* 2019 ; 37 : 252-8.
24. Pan Y, Leveson-Gower DB, Almeida PE de, et al. Engraftment of embryonic stem cells and differentiated progeny following host conditioning with total lymphoid irradiation and regulatory T cells. *Cell Rep* 2015 ; 10 : 1793-802.
25. Mohamed TMA, Stone NR, Berry EC, et al. Chemical enhancement of in vitro and in vivo direct cardiac reprogramming clinical perspective. *Circulation* 2017 ; 135 : 978-95.
26. Mills RJ, Titmarsh DM, Koenig X, et al. Functional screening in human cardiac organoids reveals a metabolic mechanism for cardiomyocyte cell cycle arrest. *Proc Natl Acad Sci USA* 2017 ; 114 : E8372-81.
27. Aguado BA, Mulyasasmita W, Su J, et al. Improving viability of stem cells during syringe needle flow through the design of hydrogel cell carriers. *Tissue Eng Part A* 2012 ; 18 : 806-15.
28. Hou D, Youssef EA-S, Brinton TJ, et al. Radiolabeled cell distribution after intramyocardial, intracoronary, and interstitial retrograde coronary venous delivery: implications for current clinical trials. *Circulation* 2005 ; 112 : 1150-6.
29. Tang X-L, Nakamura S, Li Q, et al. Repeated administrations of cardiac progenitor cells are superior to a single administration of an equivalent cumulative dose. *J Am Heart Assoc* 2018 ; 7(4).
30. Lee RH, Pulin AA, Seo MJ, et al. Intravenous hMSCs improve myocardial infarction in mice because cells embolized in lung are activated to secrete the anti-inflammatory protein TSG-6. *Cell Stem Cell* 2009 ; 5 : 54-63.
31. Bartolucci J, Verdugo FJ, González PL, et al. Safety and efficacy of the intravenous infusion of umbilical cord mesenchymal stem cells in patients with heart failure: a phase 1/2 randomized controlled trial (RIMECARD trial [randomized clinical trial of intravenous infusion umbilical cord mesenchymal stem cells on cardiopathy]). *Circ Res* 2017 ; 121 : 1192-204.
32. Sun X, Shan A, Wei Z, et al. Intravenous mesenchymal stem cell-derived exosomes ameliorate myocardial inflammation in the dilated cardiomyopathy. *Biochem Biophys Res Commun* 2018 ; 503 : 2611-8.
33. Wysoczynski M, Khan A, Bolli R. New paradigms in cell therapy: repeated dosing, intravenous delivery, immunomodulatory actions, and new cell types. *Circ Res* 2018 ; 123 : 138-58.
34. Nizzardo M, Simone C, Rizzo F, et al. Minimally invasive transplantation of iPSC-derived ALDH1S1/SSC10VLA4+ neural stem cells effectively improves the phenotype of an amyotrophic lateral sclerosis model. *Hum Mol Genet* 2014 ; 23 : 342-54.
35. Ciullo A, Biemmi V, Milano G, et al. Exosomal expression of CXCR4 targets cardioprotective vesicles to myocardial infarction and improves outcome after systemic administration. *Int J Mol Sci* 2019 ; 20(3).
36. Qiu L, Liao MC, Chen AK, et al. Immature midbrain dopaminergic neurons derived from floor-plate method improve cell transplantation therapy efficacy for Parkinson's disease. *Stem Cells Transl Med* 2017 ; 6 : 1803-14.
37. Schulz Thomas C. Concise review: Manufacturing of pancreatic endoderm cells for clinical trials in type 1 diabetes: manufacturing of pancreatic endoderm cells. *Stem Cells Transl Med* 2015 ; 4 : 927-31.
38. Pagliuca FW, Millman JR, Gürtler M, et al. Generation of functional human pancreatic β cells in vitro. *Cell* 2014 ; 159 : 428-39.
39. Veerman CC, Kosmidis G, Mummery CL, et al. Immaturity of human stem-cell-derived cardiomyocytes in culture: fatal flaw or soluble problem? *Stem Cells Dev* 2015 ; 24 : 1035-52.
40. Werbowetski-Ogilvie TE, Bossé M, Stewart M, et al. Characterization of human embryonic stem cells with features of neoplastic progression. *Nat Biotechnol* 2009 ; 27 : 91-7.
41. Ben-David U, Benvenisty N. The tumorigenicity of human embryonic and induced pluripotent stem cells. *Nat Rev Cancer* 2011 ; 11 : 268-77.
42. Secreto FJ, Li X, Smith AJ, et al. Quantification of etoposide hypersensitivity: a sensitive, functional method for assessing pluripotent stem cell quality. *Stem Cells Transl Med* 2017 ; 6 : 1829-39.
43. Tohyama S, Hattori F, Sano M, et al. Distinct metabolic flow enables large-scale purification of mouse and human pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. *Cell Stem Cell* 2013 ; 12 : 127-37.
44. Garitaonandia I, Gonzalez R, Christiansen-Weber T, et al. Neural stem cell tumorigenicity and biodistribution assessment for phase I clinical trial in Parkinson's disease. *Sci Rep* 2016 ; 6 : 34478.
45. Itakura G, Kawabata S, Ando M, et al. Fail-safe system against potential tumorigenicity after transplantation of iPSC derivatives. *Stem Cell Rep* 2017 ; 8 : 673-84.
46. Liang Q, Monetti C, Shutova MV, et al. Linking a cell-division gene and a suicide gene to define and improve cell therapy safety. *Nature* 2018 ; 563 : 701-4.
47. Vegas AJ, Veisoh O, Gürtler M, et al. Long-term glycemic control using polymer-encapsulated human stem cell-derived beta cells in immunocompetent mice. *Nat Med* 2016 ; 22 : 306-11.
48. O'Neill HS, Gallagher LB, O'Sullivan J, et al. Biomaterial-enhanced cell and drug delivery: lessons learned in the cardiac field and future perspectives. *Adv Mater Weinheim* 2016 ; 28 : 5648-61.
49. Redd MA, Zeinstra N, Qin W, et al. Patterned human microvascular grafts enable rapid vascularization and increase perfusion in infarcted rat hearts. *Nat Commun* 2019 ; 10 : 584.
50. Steinhoff G, Nesteruk J, Wolfien M, et al. Cardiac function improvement and bone marrow response: Outcome analysis of the randomized PERFECT phase III clinical trial of intramyocardial CD133+ application after myocardial infarction. *EBioMedicine* 2017 ; 22 : 208-24.

TIRÉS À PART

P. Menasché

Bon de commande

À retourner à EDP Sciences, 17, avenue du Hoggar, 91944 Les Ulis Cedex A
Tél. : 01 49 85 60 69 - Fax : 01 49 85 03 45 - E-mail : francois.flori@edpsciences.org

NOM : Prénom :

Adresse :

Code postal : Ville :

Pays :

Fonction :

Je souhaite recevoir l'ouvrage **Cancers de l'hypopharynx - Carcinomes épidermoïdes de la pyramide nasale** :
35 € + 3 € de port = **38 € TTC**

en exemplaire, soit un total de €

Par chèque, à l'ordre de EDP Sciences

Par carte bancaire : Visa Eurocard/Mastercard

Carte n° | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Signature :

Date d'expiration : | | | | | |

N° de contrôle au dos de la carte : | | | | |

