

► Plusieurs maladies multifactorielles en ophtalmologie, touchant le segment antérieur de l'œil, sont en partie inflammatoires. Afin de comprendre le rôle et l'impact de l'inflammation dans la sécheresse oculaire et dans la cicatrisation de plaies cornéennes, plusieurs équipes de recherche ont employé des modèles *in vitro* mimant différents aspects de ces maladies. Plusieurs modèles ont été développés afin d'élucider les cascades de signalisation impliquées dans la pathogenèse de ces maladies. Ils offrent une flexibilité permettant d'ajuster des paramètres environnementaux, facilitant ainsi la validation de thérapies innovantes et l'identification de nouvelles cibles pharmacologiques. Dans cet article de synthèse nous décrivons majoritairement des modèles *in vitro* en deux dimensions, mimant la composition cellulaire et l'état d'inflammation observé dans ces maladies oculaires. Les avancées des modèles 3D obtenus par génie tissulaire sont également décrites plus brièvement. ◀

Réponse inflammatoire du segment antérieur de l'œil

Réponse inflammatoire

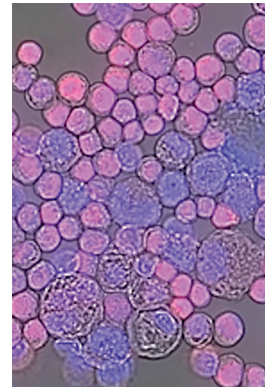
L'inflammation est la réaction du système immunitaire face à une agression ou à des stimuli tels que des pathogènes, des cellules endommagées ou des irritants. Ce mécanisme possède deux grands rôles : 1) protéger l'organisme en éliminant ces stimuli et 2) initier le processus de guérison [1]. La libération de médiateurs chimiques pro-inflammatoires qui augmentent le flux sanguin, la perméabilité vasculaire et le recrutement de leucocytes constituent les principaux signes qui caractérisent le processus inflammatoire [2]. La vasoconstriction initiale¹ des vaisseaux sanguins est suivie

Vignette (© Gaëtan Le Bel).

¹ La vasoconstriction est initiée par les cellules immunitaires résidentes qui reconnaissent un signal de danger (PRRs reconnaissent un PAMP ou un DAMP) et libèrent des médiateurs inflammatoires.

Modèles cellulaires des maladies inflammatoires du segment antérieur de l'œil

Gabrielle Raïche-Marcoux^{1,2}, Sylvain Guérin^{1,2},
Élodie Boisselier^{1,2}



¹Centre universitaire d'ophtalmologie (CUO) – recherche, axe médecine régénératrice ;

Centre de recherche du CHU de Québec-Université Laval, Québec, QC G1S 4L8, Canada.

²Département d'ophtalmologie et d'oto-rhino-laryngologie – chirurgie cervico-faciale, Faculté de médecine, Université Laval, Québec, Canada.

Elodie.Boisselier@fmed.ulaval.ca

par une vasodilatation, augmentant le flux sanguin et provoquant un œdème par exsudation de liquide et pénétration de leucocytes dans le tissu. Le recrutement des leucocytes, facilité par des molécules d'adhésion, permet une réponse immunitaire efficace, en particulier via l'activation des PRR (*pattern recognition receptors*) qui ciblent les motifs moléculaires résultants d'agents pathogènes ou de cellules endommagées. La signalisation cellulaire par des cytokines et des récepteurs spécifiques active alors des voies intracellulaires menant à la production de médiateurs inflammatoires. Ces médiateurs, tels que les chimiokines et les cytokines (*Tableau 1*), sont produits soit localement, soit par le foie, et ils sont activés au site de l'inflammation [3]. Ils incluent des substances ayant des activités enzymatiques directes ou des substances capables de générer des dommages oxydatifs [4]. Les cellules immunitaires contiennent des médiateurs pré-synthétisés, comme l'histamine, et produisent aussi des médiateurs durant l'inflammation. Les systèmes du complément et de kinine-kallikréine² peuvent également être activés par des médiateurs produits par le foie [5]. L'ensemble de ces molécules libérées induit alors différents symptômes tels que des rougeurs, de l'enflure, de la chaleur, voire de la fièvre, de la douleur et des pertes de fonction qui doivent être pris en considération.

² Le système kinine-kallikréine ou simplement système kinine est un système mal délimité de protéines du sang qui joue un rôle dans l'inflammation, le contrôle de la pression artérielle, la coagulation et la douleur. Ses médiateurs principaux, la bradykinine et la kallidine sont des vasodilatateurs qui agissent sur de nombreux types cellulaires (ndlr).

Médiateur (abrévié)	Source principale	Fonction principale
Cytokines		
IL-1	Macrophages, cellules pyroptiques, cellules épithéliales	Pro-inflammatoire ; fonction pyrogénique ; activation des macrophages et des cellules Th17
IL-2	LT	Réponse immunitaire ; facteur de croissance des LT _{eff} et LT _{reg} ; différenciation des LT
IL-4	Cellules Th2, basophiles, eosinophiles, mastocytes, lymphocytes NK	Anti-inflammatoire ; différenciation des cellules Th2 ; adhésion, chimiotaxisme
IL-6	LT, macrophages, cellules endothéliales	Pro-inflammatoire ; pléiotropie ; fonction pyrogénique ; réponse de phase aigüe ; différenciation des lymphoïdes ; augmentation de la production d'anticorps
IL-9	Cellules Th9	Pléiotropie ; stimulation des LB, LT et lymphocytes NK ; protection contre les infections helminthiques ; activation des mastocytes
IL-10	LT _{reg} , cellules Th9	Anti-inflammatoire ; inhibition de l'activation des macrophages ; inhibition des cellules Th1 et de la libération de cytokines
IL-12	Cellules dendritiques, macrophages	Stimulation des LT et NK ; activation de la voie Th1 ; induction des cellules Th1 en IFN- γ ; LT _C et lymphocytes NK ; action en synergie avec IL-18
IL-13	Cellules Th2	Anti-inflammatoire ; différenciation des LB ; médiateur de l'immunité humorale
IL-17	Cellules Th17, lymphocytes NK, cellules lymphoïdes innées de type 3	Protection contre les infections bactériennes et fongiques ; promotion de l'inflammation neutrophilique
IL-18	Monocytes, macrophages, cellules dendritiques	Pro-inflammatoire ; activation de la voie Th1 ; synergique avec IL-12
IL-31	Cellules Th2, macrophages, mastocytes, cellules dendritiques	Pro-inflammatoire ; activation des monocytes et des macrophages
IL-33	Macrophages, cellules dendritiques, mastocytes, cellules épithéliales	Pro-inflammatoire ; amplification des cellules Th1 et Th2, activation des LT _C , lymphocytes NK et mastocytes
IFN type I	Virtuellement toutes les cellules	Activation/maturation/migration/survie des cellules dendritiques ; augmentation de l'activité des lymphocytes NK et T/B ; induction de molécules effectrices antivirales ; antagonisme de l'action de l'INF- γ
IFN type II	Cellules Th1, LT _C , cellules lymphoïdes innées de type 1, lymphocytes NK	Pro-inflammatoire ; activation des monocytes et des macrophages
TNF- α	Lymphocytes activés	Pléiotropie ; action de la voie NF- κ B

TGF- β	LT _{reg} , monocytes, macrophages, fibroblastes, cellules épithéliales, cellules cancéreuses	Immunosuppresseur ; régulation de la prolifération, de la différenciation, de l'apoptose et de l'adhésion ; inhibition de l'hématopoïèse
TNF	LT et lymphocytes NK, mastocytes, macrophages	Pyrogénique ; augmentation de la perméabilité vasculaire
Chimiokines		
CCL2 (MCP-1)	Macrophages, cellules dendritiques, myocytes cardiaques	Pyrogénique ; recrutement des cellules Th1, des lymphocytes NK, des macrophages, des éosinophiles et des cellules dendritiques
CCL3 (MIP-1 α)	Monocytes, neutrophiles, cellules dendritiques, lymphocytes NK, mastocytes	Recrutement des cellules Th1, des lymphocytes NK, des macrophages et des cellules dendritiques
CCL4 (MIP-1 β)	Monocytes, neutrophiles, endothélium	Recrutement des LB, des LT helper et des cellules dendritiques
CXCL8 (IL-8)	Macrophages, cellules épithéliales	Recrutement des neutrophiles
CXCL9 (MIG)	Monocytes, cellules endothéliales, kératinocytes	Chimiokine inducible par l'interféron ; recrutement des cellules Th1, des lymphocytes NK et des cellules dendritiques plasmacytoïdes
CXCL10 (IP-10)	Monocytes, cellules endothéliales, kératinocytes	Chimiokine inducible par interféron ; recrutement des cellules Th1, des lymphocytes NK et des macrophages
CXCL13 (BLC)	LB, cellules dendritiques folliculaires	Recrutement des cellules Th1, des monocytes, des cellules dendritiques et des basophiles
Protéines plasmatiques		
CRP	Hépatocytes	Expression augmentée par IL-6
Protéine du complément	Hépatocytes, autres cellules	Activation du complément contribuant au dommage au tissu ; inhibition réduisant les effets immunopathologiques

Tableau 1. Effecteurs moléculaires communs affectés pendant le choc cytokinique [47]. † Tableau traduit de l'anglais (original sous licence CC BY 4.0, <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>). IL : interleukine ; LT : lymphocyte T ; LTreg : lymphocyte T régulateur ; LTeff : lymphocyte T effecteur ; LTC : lymphocyte T cytotoxique ; lymphocyte NK : lymphocyte natural killer ; LT helper : lymphocyte T auxiliaire ; LB : lymphocyte B ; IFN : interféron ; TNF : facteur de nécrose tumorale ; TGF : facteur de croissance transformant ; CCL : ligand de chimiokine ; CXCL : ligand de chimiokine à motif C-X-C ; CRP : protéine C-réactive.

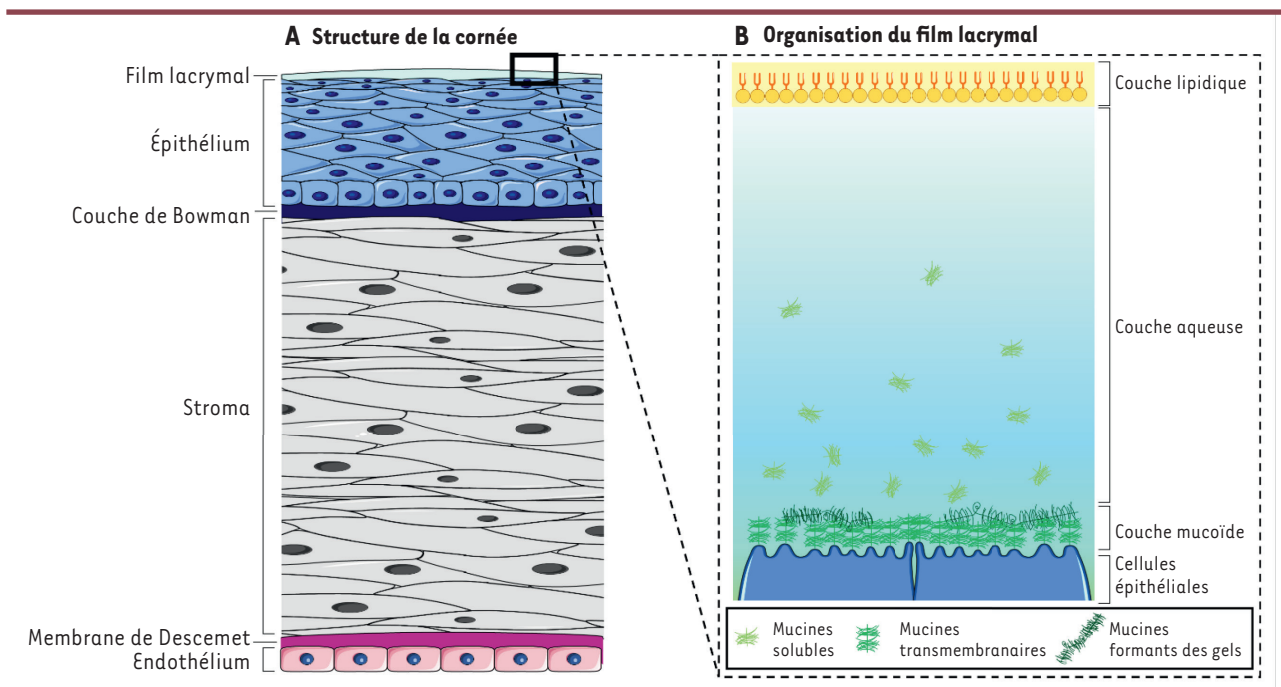


Figure 1. La structure de la surface oculaire de l'humain. **A.** La cornée est composée de 5 couches distinctes, dont 3 couches cellulaires (l'épithélium, le stroma et l'endothélium) et 2 couches acellulaires (la couche de Bowman et la membrane de Descemet). **B.** L'organisation du film lacrymal est sous forme de couches. Les mucines transmembranaires et formant des gels sont adjacentes aux cellules de l'épithélium cornéen, alors que la couche aqueuse contient des mucines et d'autres protéines solubles. Une mince couche lipidique se trouve à la surface du film lacrymal [48]. Figure traduite de l'anglais (figure originale sous licence CC BY 4.0).

Description de la surface oculaire

Le segment antérieur de l'œil est la partie directement en contact avec l'environnement externe et elle comprend plusieurs structures, dont le film lacrymal et la cornée (Figure 1). Le film lacrymal est l'interface entre la cornée et l'environnement. Le film lacrymal a une épaisseur d'environ 3 µm [6]. Il s'agit d'un mélange complexe de protéines, de lipides, de métabolites et d'électrolytes avec des fonctions et des rôles distincts. Il est organisé en trois couches : la couche lipidique, la couche aqueuse et la couche mucoïde [7]. La couche la plus externe est la couche lipidique et sa fonction principale est de réduire la tension de surface du film lacrymal. Cette réduction de la tension superficielle permet la stabilisation du film lacrymal à la surface de l'épithélium cornéen. De plus, la couche lipidique du film lacrymal retarde l'évaporation de l'eau, elle prévient des débordements de fluide lacrymal à la périphérie des paupières et assure le lissage de la surface du film lacrymal. La couche lipidique du film lacrymal peut être divisée en une phase de lipides apolaires et une sous-phase de lipides polaires. Les lipides apolaires constituent environ 82 % des lipides de la couche lipidique du film lacrymal et forment un mélange de cérides (esters d'acides gras), d'esters de cholestérol, de triacylglycérols, de cholestérol libre et de squalènes³ [8]. Les lipides

polaires et amphiphiles⁴, formant la mince sous-phase, représentent environ 18 % des lipides de la couche lipidique et sont constitués principalement par des phospholipides, des céramides⁵, des cérébrosides⁶, des acides gras libres, de la sphingomyéline et des acides gras (o-acyl)- ω -hydroxyle. La couche aqueuse constitue environ 90 % du volume total du film lacrymal. Ses fonctions principales consistent à lubrifier la surface oculaire, à retirer les corps étrangers, à fournir de l'oxygène, des protéines, du glucose et des sels à la cornée et à participer à la réfraction de la lumière [9]. Les larmes humaines contiennent plus de 1800 protéines et la concentration en protéines des larmes basales est environ de 6 à 11 mg/ml. Les fonctions de ces nombreuses protéines sont multiples ; elles sont impliquées dans les mécanismes de défense innée, de guérison des plaies, de croissance, d'homéostasie, d'inflammation et d'oxydation [10]. La couche mucoïde est composée de mucines (glycoprotéines complexes), d'immunoglobulines, de sels, d'urée, de glucose, de

³ Le nom du composé provient du fait qu'il ait été isolé pour la première fois (1916), dans le foie de requins, dont l'Aiguillat épinette (*Squalus mitsukurini*). Le squalène est le précurseur biochimique de toute la famille des stéroïdes. C'est un lipide de composition hydrocarbonée (ndlr).

⁴ Les molécules amphiphiles possèdent à la fois des parties hydrophiles et lipophiles.

⁵ Un céramide est un sphingolipide formé d'un acide gras et de la sphingosine (un aminoalcool).

⁶ Les cérébrosides sont des glycosphingolipides.

leucocytes, de débris cellulaires et d'enzymes [11]. Les fonctions de la couche mucoïde consistent à lubrifier et à protéger la cornée, à ancrer la couche aqueuse du film lacrymal à l'épithélium cornéen et à le protéger des forces de cisaillement, ce qui permet de prévenir l'assèchement et la contamination bactérienne de la cornée. La couche mucoïde, étant hydrophile, elle permet un étalement homogène de la couche aqueuse sur l'épithélium cornéen qui est hydrophobe. Elle adhère au glycocalyx⁷ à la surface de l'épithélium cornéen ce qui génère une certaine liberté de mouvement sur la surface cornéenne et prévient des dommages à l'épithélium lors du clignement des paupières.

La cornée est la structure transparente sur laquelle le film lacrymal repose. Son diamètre longitudinal moyen est de 11,7 mm et son diamètre vertical moyen est de 10,5 mm chez l'être humain. Son épaisseur n'est pas homogène sur toute sa longueur ; le centre a une épaisseur d'environ 0,5 mm alors que l'épaisseur en périphérie peut aller jusqu'à 1 mm. Les sources de nutriments majoritaires de la cornée sont le film lacrymal et l'humeur aqueuse. La cornée est ainsi impliquée dans la protection du reste du globe oculaire et permet le passage de la lumière. La cornée est composée de trois couches cellulaires (épithélium, stroma, endothélium) et de deux couches acellulaires qui les séparent (couche de Bowman, membrane de Descemet) [12]. L'épithélium cornéen est un épithélium pavimenteux stratifié, non-kératinisé et composé de 5 à 6 couches de cellules. Des microvillosités se trouvent au pôle apical de la membrane plasmique des cellules, où le glycocalyx interagit et intervient dans la stabilisation du film lacrymal. L'adhésion des cellules épithéliales est maintenue grâce à une membrane basale, qui ancre l'épithélium à la couche de Bowman grâce à un réseau de fibrilles d'ancrage [13]. Le stroma constitue l'essentiel structurel de la cornée, mesurant environ 500 µm d'épaisseur chez l'homme et représentant environ 90 % de l'épaisseur de la cornée. La membrane de Descemet est une membrane acellulaire située sous le stroma cornéen. La cinquième couche de la cornée consiste en une monocouche de cellules endothéliales pavimenteuses essentielle pour le maintien des concentrations d'ions dans le stroma et pour la nutrition du stroma et de l'épithélium [14].

Maladies oculaires inflammatoires du segment antérieur de l'œil

Plusieurs maladies complexes touchant les parties antérieures et postérieures du globe oculaire ont une composante inflammatoire. Afin d'étudier l'impact de chacun des acteurs impliqués dans ces maladies complexes, plusieurs modèles cellulaires ont été développés [15]. Il est ainsi possible de reproduire en deux dimensions, mais aussi en trois dimensions, certains stades de ces maladies complexes et de comprendre le rôle de l'inflammation. Cette synthèse porte principalement sur la description des modèles cellulaires employés qui miment l'inflammation dans l'œil, et sur les mécanismes associés, visant à mieux comprendre deux maladies touchant la partie antérieure de l'œil : la sécheresse oculaire et les lésions cornéennes.

Modèles de maladies oculaires inflammatoires

Sécheresse oculaire

La sécheresse oculaire est une maladie multifactorielle caractérisée par une sécrétion insuffisante de larmes ou une évaporation excessive du film lacrymal [16]. Ces phénomènes déséquilibrent l'osmolarité et la lubrification de la surface oculaire, favorisant l'inflammation et les dommages aux cellules épithéliales, aux tissus conjonctifs et aux fibres nerveuses. L'évaporation du film lacrymal varie en fonction de facteurs environnementaux tels que le débit d'air, la température et l'humidité, car la surface oculaire est exposée à l'environnement extérieur. La santé de la surface oculaire dépend d'une couche mucoïde fonctionnelle et d'une lubrification continue, nécessitant une production et un renouvellement efficaces des larmes. Cette régulation est assurée par l'unité fonctionnelle lacrymale, comprenant les glandes lacrymales, les glandes de Meibomius⁸, les cellules sécrétoires de la surface oculaire, les voies d'écoulement lacrymal, et les épithéliums cornéen et conjonctival, qui agissent ensemble pour préserver la transparence de la cornée et l'intégrité de la surface oculaire [17].

Il existe deux catégories principales de sécheresse oculaire : la sécheresse par déficience du film lacrymal et celle par évaporation, avec des formes mixtes combinant ces deux types (Figure 2) [18]. La sécheresse par déficience du film lacrymal est liée à une dysfonction des glandes lacrymales, entraînant une hyperosmolarité due à un volume réduit de larmes. Dans le syndrome de Gougerot-Sjögren⁹, un processus auto-immun cible les glandes lacrymales et salivaires, causant une infiltration lymphocytaire, la destruction des cellules glandulaires et une hyposécrétion [19]. En revanche, la sécheresse non liée à ce syndrome exclut les caractéristiques auto-immunes. La sécheresse oculaire par évaporation peut être qualifiée d'extrinsèque, lorsqu'elle provient par exemple du port de verres de contact, ou bien d'intrinsèque, lorsqu'elle est issue d'un dysfonctionnement ou de la raréfaction des glandes de Meibomius qui sont responsables de la production de la phase lipidique du film lacrymal [20].

La sécheresse oculaire est une forme d'inflammation chronique impliquant le système immunitaire adaptatif. L'activation du système immunitaire adaptatif débute

⁸ Les glandes de Meibomius ou glandes tarsiennes (ou tarsales) (à ne pas confondre avec les glandes lacrymales) sont des glandes sébacées situées dans l'épiderme des paupières (ndlr).

⁹ Maladie auto-immune rare touchant principalement les femmes entre 40 et 60 ans, caractérisée par une sécheresse des muqueuses (yeux, bouche) (ndlr).

⁷ Un revêtement fibreux de glucides autour de la membrane cellulaire.

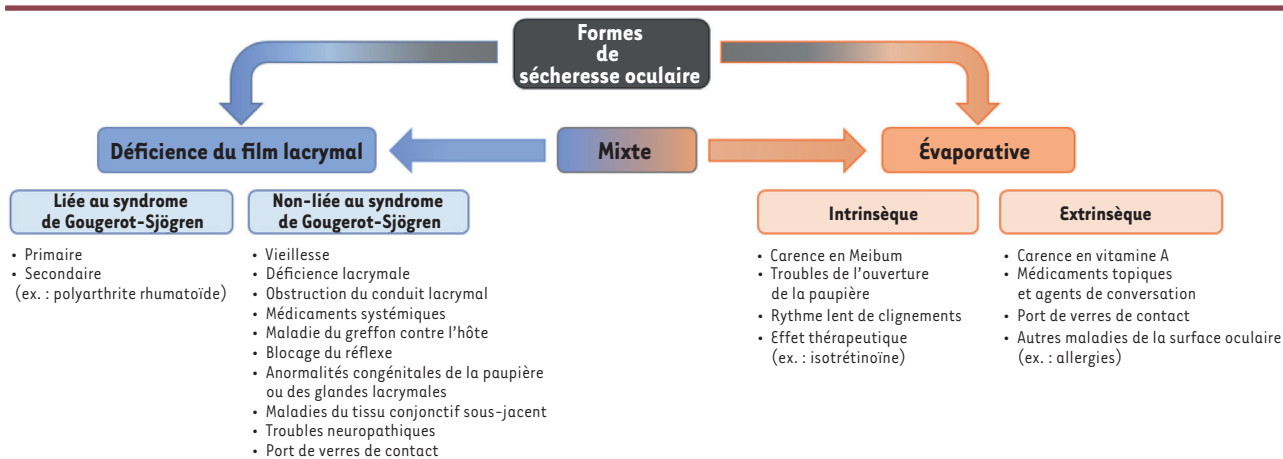


Figure 2. Les deux principales classifications de sécheresse oculaire [48]. Figure traduite de l'anglais (figure originale sous licence CC BY 4.0).

par la reconnaissance des agents pathogènes ou des dommages tissulaires par les cellules dendritiques et les macrophages, qui phagocytent les pathogènes et présentent les antigènes aux lymphocytes T. Dans la cornée, bien que dépourvue de lymphocytes T ou B, des cellules myéloïdes, incluant des macrophages, des cellules dendritiques et des cellules de Langerhans, jouent un rôle clé [21]. Sous l'effet d'un environnement inflammatoire, comme dans la sécheresse oculaire, ces cellules migrent vers les ganglions lymphatiques drainants grâce à l'expression de récepteurs et de molécules de co-stimulation. Elles y activent des lymphocytes T spécifiques, notamment des lymphocytes T CD4⁺ et CD8⁺, et favorisent la différenciation vers des Th17 autoréactifs¹⁰. Ces lymphocytes T effecteurs reviennent ensuite dans les tissus oculaires via le système vasculaire, provoquant une inflammation pouvant entraîner des lésions similaires au syndrome de Gougerot-Sjögren au niveau de la cornée, de la conjonctive et des glandes lacrymales [22].

Les cellules endommagées de la surface oculaire libèrent des DAMPs (*damage-associated molecular patterns*) [23], ainsi que d'autres cytokines et chimiokines pro-inflammatoires, qui exacerbent et entretiennent l'inflammation de la surface oculaire. Des études sur le syndrome de Gougerot-Sjögren suggèrent qu'il y aurait une augmentation des niveaux d'un DAMP et de la protéine HMGB-1 (*high mobility group protein B1*) au niveau de la surface oculaire endommagée. Le syndrome de Gougerot-Sjögren sévère est donc causé par un cycle croissant d'inflammation accompagné de lésions de la surface oculaire dues à des dommages collatéraux [24].

Des modèles cellulaires préétablis mimant la sécheresse oculaire ont déjà été mis en place, tels que les cellules 1-5c-4 (dérivées de la lignée cellulaire conjonctivale Chang) [25, 26], la lignée cellulaire IOBA-NHC (cellules conjonctivales humaines immortalisées) [25, 27], des cellules épithéliales cornéennes humaines, une lignée de cellules épithéliales cornéennes humaines immortalisées [28] et diverses cellules humaines conjonctivales [29]. Des modèles *in vitro* emploient égale-

ment des cellules primaires : des cellules épithéliales humaines [30], des cellules épithéliales de lapin ou des cellules acineuses¹¹ de glandes lacrymales de lapin [15]. Des symptômes mimant la sécheresse oculaire peuvent être induits en ajoutant du chlorure de sodium dans le milieu de culture, créant un environnement hyperosmotique pour les cellules qui déclenche une réaction inflammatoire [25, 26, 28, 30]. Le chlorure de benzalkonium est aussi employé pour induire des cascades inflammatoires. De plus, l'ajout d'IL-1 β (interleukine 1 β), ou de TNF- α (*tumor necrosis factor α*) peut aussi induire des cascades inflammatoires 24 ou 48 heures après ajout dans le milieu de culture [15]. L'utilisation de cellules primaires de l'épithélium cornéen en choc hyperosmotique, dans lesquelles l'intégrité jonctions serrées et adhérentes est extrêmement perturbée, a permis de démontrer une nouvelle voie de signalisation pour la cytokine anti-inflammatoire IL-37 [31]. Cette cytokine préviendrait la perturbation de la barrière épithéliale dans les conditions hyperosmotiques mimant la sécheresse oculaire par la suppression de TNF- α et de l'expression de CTSS (cathepsine S).

Des modèles 3D sont aussi employés, où le génie tissulaire permet de reconstruire un épithélium humain immunocompétent avec des cellules THP-1 (lignée cellulaire monocyttaire de leucémie humaine) [32], ou même des organoïdes formés à partir d'iPSCs (*induced pluripotent stem cells*), qui peuvent former des organoïdes de cornées, de conjonctives ou de glandes lacrymales [33]. Il existe quatre modèles d'épithélium reconstruit humain reconnus par les lignes directrices

¹⁰ Ces cellules produisent des cytokines pro-inflammatoires comme l'IL-17.

¹¹ Le terme acinus (du latin *acinus*, grain de raisin) désigne une cavité épithéliale arrondie bordée par des cellules sécrétrices qui débouche dans le canal excréteur d'une glande (ndlr).

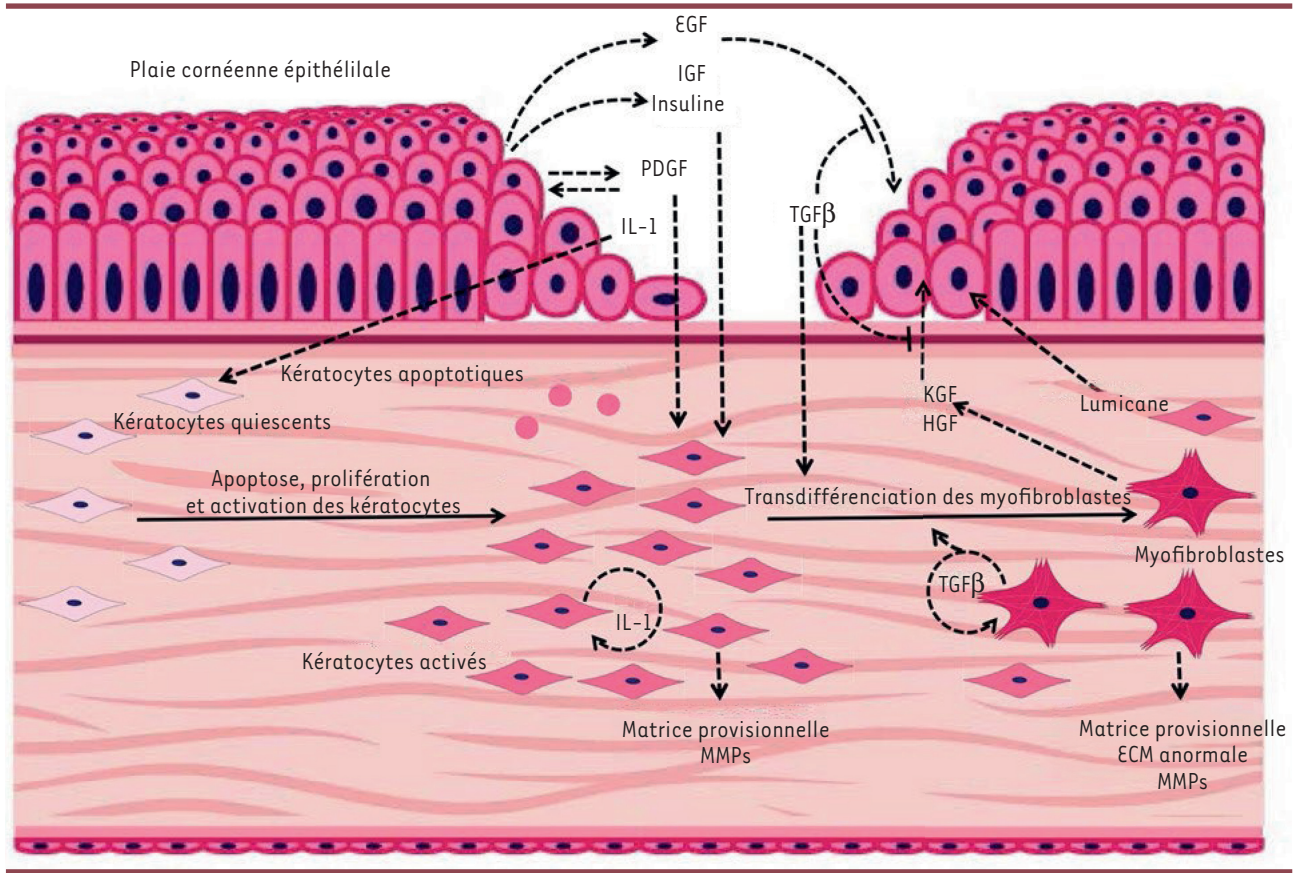


Figure 3. Cicatrisation de plaie au niveau de l'épithélium cornéen accompagnée d'interactions stroma-épithélium. Une fois que l'épithélium est blessé, les cellules épithéliales perdent leur adhésion, changent de forme, prolifèrent et migrent rapidement pour couvrir la région lésée. L'EGF est la voie de signalisation principale initiant la prolifération et la migration cellulaire. ECM : matrice extracellulaire ; MMP : métalloprotéinase matricielle. Figure traduite de l'anglais (originale sous les termes d'Elsevier).

de l'OCDE (Organisation de coopération et de développement économique) pour des tests d'irritation et d'inflammation oculaire [34] : *EpiOcular™* (MatTek, Ashland, MA USA ; kératinocytes épidermiques humains normaux), *SkinEthic Human Corneal Epithelium (HCE)™* (SkinEthic, Lyon, France ; cellules épithéliales cornéennes humaines immortalisées), *LabCyte CORNEA-MODEL24* (Japan Tissue Engineering Co. Ltd., Miyakitadori, Aichi, Japan ; cellules cornéennes humaines primaires), et *MCTT HCE™* (cellules épithéliales limbiques humaines primaires) [35].

Blessure cornéenne

La cornée est la couche transparente et non-vascularisée à la surface du globe oculaire qui fournit environ les deux tiers du pouvoir réfractif de l'œil et qui est nécessaire à la vision. La cornée protège le reste du globe oculaire des diverses conditions environnementales [36]. La cicatrisation des plaies dans le stroma est une cascade complexe. En résumé, la première réponse du stroma blessé est l'apoptose immédiate des kératocytes¹², sous l'épithélium cornéen dans la zone lésée. Quelques

kératocytes subissent également une nécrose. Les kératocytes adjacents vont proliférer, migrer, acquérir le phénotype de kératocytes activés (fibroblastes) et vont se transformer en myofibroblastes. Les fibroblastes et myofibroblastes sécrètent un échafaudage matriciel provisoire. Des chimiokines pro-inflammatoires produites par les cellules épithéliales et stromales provoquent un influx de cellules inflammatoires. Cet influx va aider à retirer les débris provenant de l'apoptose et de la nécrose des cellules lésées [37]. Les blessures stromales subissent une réparation et un remodelage de la matrice extracellulaire (ECM) par diverses métalloprotéinases collagénolytiques sécrétées par les cellules épithéliales, les fibroblastes, les myofibroblastes et les cellules inflammatoires (Figure 3)[49]. La forme et la fonction normales du stroma vont être lentement restaurées par la résorption de la matrice extracellulaire anormale, par l'apoptose ou par une inversion du phénotype myofibroblastique. Il arrive souvent que la cascade cicatricielle

¹² Le kératocyte est une cellule cornéenne de type conjonctif ou fibrocyte (ndlr).

des plaies stromales ne mène pas à un retour complet de la transparence de la cornée [36].

Les connaissances acquises concernant la guérison des plaies cornéennes et l'infiltration des cellules dans la cornée proviennent en grande partie des modèles de souris et de lapins [38]. Concernant les modèles cellulaires d'inflammation dans le contexte de blessure à la surface oculaire, il a été démontré que le recrutement des cellules immunitaires est médié par des cytokines pro-inflammatoires sécrétées par les cellules épithéliales et par les kératocytes au niveau du site lésé. Plus spécifiquement, les médiateurs importants sont l'IL-1, l'IL-6 et le TNF- α [39-41]. Ces expériences ont été réalisées avec des cellules cornéennes épithéliales humaines et des kératocytes en culture exposés à des doses croissantes d'IL-1 β ou de TNF- α [39], des cellules primaires de fibroblastes stromales exposées à l'IL-1 α et au TNF- α [40], et des fibroblastes cornéens humains traités avec le sur-nageant obtenu de cellules épithéliales cornéennes nécrotiques [41]. Des modèles tridimensionnels sont aussi employés afin d'étudier *in vitro* le processus de cicatrisation des plaies cornéennes. Le TGF- β (*tumor growth factor* β) jouerait un rôle majeur dans la promotion de la différenciation des myofibroblastes associée à une expression accrue des collagènes de type I et de type III, et à une modification de la distribution des protéoglycanes compatibles avec le développement d'une cicatrice suite à une blessure [42]. Ainsi, ces modèles peuvent être utiles pour étudier le rôle des facteurs de croissance dans le dépôt et le remodelage de la matrice extracellulaire au cours de la cicatrisation des plaies et de la régénération des tissus. Conformément aux études utilisant des fibroblastes cornéens, il a été démontré que les cellules souches stromales cornéennes humaines cultivées dans des boîtes de Pétri en plastique traitées avec des biomatériaux tels que des gels de fibrine, sécrètent des quantités relativement faibles de matrice extracellulaire, comparées à des cultures sans échafaudage¹³, où les cellules sont stimulées à sécréter une matrice extracellulaire [43].

Des modèles auto-assemblés obtenus par l'addition d'acide ascorbique pour promouvoir la sécrétion de matrice extracellulaire native sont utilisés pour étudier la fermeture des plaies [44, 45]. Le rôle des sphingolipides et leurs interactions avec le TGF- β ont été étudiés dans le contexte de fermeture de plaies cornéennes sur un modèle tridimensionnel dans le but de développer de nouvelles thérapies non-invasives. Des fibroblastes cornéens humains stimulés par la vitamine C et par le TGF- β semblent générer un modèle qui ressemble aux processus observés dans la fibrose cornéenne humaine [46]. Ce modèle devrait être utile pour examiner le dépôt et l'assemblage de matrices dans une situation de cicatrisation.

¹³ La culture cellulaire sans échafaudage est la culture de cellules dans des plaques de culture sans support et sans insert. Pour obtenir une structure tridimensionnelle en culture cellulaire sans échafaudage, d'autres types de techniques sont requises pour contrôler la croissance des cellules et des tissus vers l'autoassemblage (des milieux de culture avec différents facteurs de croissance, des types de cellules et leurs densités d'ensemencement).

Conclusion

Les modèles cellulaires jouent un rôle crucial dans la compréhension des mécanismes sous-jacents des maladies ophtalmologiques telles que la sécheresse oculaire et la guérison des plaies cornéennes. En fournissant une plateforme *in vitro* pour étudier les réponses cellulaires aux stimuli pathologiques, ces modèles permettent aux équipes de recherche de démêler les voies de signalisation complexes impliquées dans le développement et la progression de ces maladies. De plus, les modèles cellulaires offrent une flexibilité expérimentale précieuse en permettant la manipulation contrôlée de divers paramètres environnementaux. Cette caractéristique est particulièrement utile pour tester l'efficacité de nouvelles thérapies potentielles, pour découvrir de nouvelles cibles thérapeutiques et pour étudier les interactions entre différents types cellulaires et des facteurs moléculaires.

Les modèles cellulaires *in vitro* représentent ainsi un outil essentiel dans l'étude des maladies oculaires inflammatoires, offrant une compréhension approfondie de leur physiopathologie et ouvrant la voie à de nouvelles approches thérapeutiques prometteuses. En combinant ces modèles avec des approches cliniques et translationnelles, il devient possible de développer des traitements plus efficaces et ciblés, d'améliorer les stratégies de prévention et de personnaliser les approches thérapeutiques en fonction des caractéristiques des patients. \diamond

SUMMARY

Cellular models used to study the pathogenesis associated with ocular inflammation in the anterior part of the eye

Several multifactorial pathologies in ophthalmology that affect the anterior segment of the eye are partly inflammatory. To better understand the role and impact of inflammation in dry eye and corneal healing, many research teams have used *in vitro* models to mimic different aspects of these diseases. Several *in vitro* models have been developed to elucidate the signaling cascades involved in pathogenesis. They also offer the experimental flexibility to adjust environmental parameters, facilitating the validation of innovative therapies and the identification of new pharmacological targets. This review focuses on two-dimensional *in vitro* models, but also highlights the progress made in 3D models obtained by tissue engineering, which mimic inflammation in these ocular pathologies. The origin of the cells (human or animal), their tissue source, the type of cells (epithelial, endothelial, vascular, conjunc-

tival), as well as the various experimental conditions used to mimic an inflammatory aspect according to the stages of progression of these pathologies, are thoroughly reported in this review of the literature. ♦

REMERCIEMENTS

G. Raïche-Marcoux remercie les Fonds de Recherche du Québec-Santé (FRQS), la Fondation du CHU de Québec-Desjardins, la Fondation des maladies de l'œil et le Réseau de recherche en sciences de la vision (RRSV). S. Guérin est membre du RRSV et du Centre de recherche en organogénèse expérimentale de l'Université Laval (LOEX). É. Boisselier est chercheur Junior 2 du Fonds de Recherche du Québec-Santé (FRQS) et membre du regroupement québécois de recherche sur la fonction, l'ingénierie et les applications des protéines (PROTEO), du Centre québécois sur les matériaux fonctionnels (CQMF), du Centre de recherche sur les matériaux avancés (CERMA) et du RRSV.

LIENS D'INTÉRÊTS

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêt en relation avec cet article.

RÉFÉRENCES

- Soares CLR, Wilairatana P, Silva LR, et al. Biochemical aspects of the inflammatory process: A narrative review. *Biomed Pharmacother* 2023 ; 168 : 115764.
- Wei Y, Asbell PA. The core mechanism of dry eye disease is inflammation. *Eye & Contact Lens* 2014 ; 40 : 248-56.
- Tu H, Li Y-L. Inflammation balance in skeletal muscle damage and repair. *Front Immunol* 2023 ; 14 : 1133355.
- Tarek H, Cho SS, Hossain MS, Yoo JC. Attenuation of oxidative damage via upregulating Nrf2/HO-1 signaling pathway by protease SH21 with exerting anti-inflammatory and anticancer properties in vitro. *Cells* 2023 ; 12 : 2190.
- Bekassy Z, Lopatko Fagerström I, Bader M, et al. Crosstalk between the renin-angiotensin, complement and kallikrein-kinin systems in inflammation. *Nature Rev Immunol* 2022 ; 22 : 411-28.
- Dartt DA, Willcox MDP. Complexity of the Tear Film: Importance in Homeostasis and Dysfunction During Disease. *Exp Eye Res* 2013 ; 117 : 1-3.
- Masoudi S. Biochemistry of human tear film: A review. *Exp Eye Res*. 2022 ; 220 : 109101.
- Butovich IA. On the lipid composition of human meibum and tears: comparative analysis of nonpolar lipids. *IOVS* 2008 ; 49 : 3779-89.
- Stahl U, Willcox M, Stapleton F. Osmolality and tear film dynamics. *Clin Exp Optom* 2012 ; 95 : 3-11.
- Pflugfelder SC, Stern ME. Biological functions of tear film. *Exp Eye Res* 2020 ; 197 : 108115.
- Gipson IK, Argueso P. Role of mucins in the function of the corneal and conjunctival epithelia. *Int Rev Cytol* 2003 ; 231 : 1-49.
- Espana EM, Birk DE. Composition, structure and function of the corneal stroma. *Exp Eye Res* 2020 ; 198 : 108137.
- Forrester JV, Dick AD, McMenamin PG, et al. Anatomy of the eye and orbit. In: Forrester JV, Dick AD, McMenamin PG, Roberts F, Pearlman E, eds. *The Eye* (Fourth Edition) Edinburgh : W.B. Saunders ; 2016. p. 1-102.e2.
- Van den Bogerd B, Dhubghail SN, Koppen C, et al. A review of the evidence for in vivo corneal endothelial regeneration. *Surv Ophthalmol* 2018 ; 63 : 149-65.
- Lu Q, Yin H, Grant MP, Elisseff JH. An in vitro model for the ocular surface and tear film system. *Sci Rep* 2017 ; 7 : 6163.
- Craig JP, Nelson JD, Azar DT, et al. TFOS DEWS II report executive summary. *Ocul surf* 2017 ; 15 : 802-12.
- Calonge M, Enriquez-de-Salamanca A, Diebold Y, et al. Dry eye disease as an inflammatory disorder. *Ocul Immunol Inflamm* 2010 ; 18 : 244-53.
- Hakim FE, Farooq AV. Dry Eye Disease: An Update in 2022. *JAMA* 2022 ; 327 : 478-9.
- Fox RL. Sjögren's syndrome. *The Lancet*. 2005 ; 366 : 321-31.
- Bron AJ. The definition and classification of dry eye disease. In: Chan C, editor. *Dry Eye: A Practical Approach*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg ; 2015. p. 1-19.
- Hattori T, Takahashi H, Dana R. Novel Insights Into the Immunoregulatory Function and Localization of Dendritic Cells. *Cornea* 2016 ; 35 : S49-S54.
- Niederhorn JY, Stern ME, Pflugfelder SC, et al. Desiccating stress induces T cell-mediated Sjogren's Syndrome-like lacrimal keratoconjunctivitis. *J Immunol* 2006 ; 176 : 3950-7.
- Alven A, Lema C, Redfern RL. Impact of low humidity on damage-associated molecular patterns at the ocular surface during dry eye disease. *Optom Vis Sci* 2021 ; 98 : 1231-8.
- Caban M, Omulecki W, Latecka-Krajewska B. Dry eye in Sjögren's syndrome – characteristics and therapy. *Eur J Ophthalmol* 2022 ; 32 : 3174-84.
- Brasnu E, Brignole-Baudouin F, Riancho L, et al. In vitro effects of preservative-free tafluprost and preserved latanoprost, travoprost, and bimatoprost in a conjunctival epithelial cell line. *Curr Eye Res* 2008 ; 33 : 303-12.
- Clouzeau C, Godefroy D, Riancho L, et al. Hyperosmolarity potentiates toxic effects of benzalkonium chloride on conjunctival epithelial cells in vitro. *Mol Vis*. 2012 ; 18 : 851.
- Diebold Y, Calonge M, de Salamanca AE, et al. Characterization of a spontaneously immortalized cell line (IOBA-NHC) from normal human conjunctiva. *IOVS* 2003 ; 44 : 4263-74.
- Ma B, Zhou Y, Liu R, et al. Pigment epithelium-derived factor (PEDF) plays anti-inflammatory roles in the pathogenesis of dry eye disease. *Ocul Surf* 2021 ; 20 : 70-85.
- Park B, Jo K, Lee TG, et al. Polydatin inhibits NLRP3 inflammasome in dry eye disease by attenuating oxidative stress and inhibiting the NF-κB pathway. *Nutrients* 2019 ; 11 : 2792.
- Liu Z, Chen D, Chen X, et al. Autophagy activation protects ocular surface from inflammation in a dry eye model in vitro. *Int J Mol Sci*. 2020 ; 21 : 8966.
- Zhang Y, Li J-M, Lu R, et al. Imbalanced IL-37/TNF-α/CTSS signaling disrupts corneal epithelial barrier in a dry eye model in vitro. *Ocul Surf*. 2022 ; 26 : 234-43.
- Meloni M, Carriero F, Ceriotti L, et al. Development of a novel in vitro immuno-competent model of dry eye disease and its use to evaluate the efficacy of an ocular surface modulator. *Ocul Immunol Inflamm*. 2022 ; 30 : 1816-24.
- Ma S-c, Xie Y-l, Wang Q, et al. Application of eye organoids in the study of eye diseases. *Exp Eye Res* 2024 ; 247 : 110068.
- OECD. Test No. 492: Reconstructed human cornea-like epithelium (RhCE) test method for identifying chemicals not requiring classification and labelling for eye irritation or serious eye damage. 2019.
- García-Posadas L, Diebold Y. Three-dimensional human cell culture models to study the pathophysiology of the anterior eye. *Pharmaceutics* 2020 ; 12 : 1215.
- Meek KM, Knupp C. Corneal structure and transparency. *Prog Retin Eye Res*. 2015 ; 49 : 1-16.
- Liu CY, Kao WW. Corneal epithelial wound healing. *Prog Mol Biol Trans Sci*. 2015 ; 134 : 61-71.
- Bukowiecki A, Hos D, Cursiefen C, Eming SA. Wound-healing studies in cornea and skin: parallels, differences and opportunities. *Int J Mol Sci* 2017 ; 18 : 1257.
- Tran MT, Tellaetxe-Isusi M, Elnar V, et al. Proinflammatory cytokines induce RANTES and MCP-1 synthesis in human corneal keratocytes but not in corneal epithelial cells. Beta-chemokine synthesis in corneal cells. *IOVS* 1996 ; 37 : 987-96.
- Hong J-W, Liu JJ, Lee J-S, et al. Proinflammatory chemokine induction in keratocytes and inflammatory cell infiltration into the cornea. *IOVS* 2001 ; 42 : 2795-803.
- Ebihara N, Matsuda A, Nakamura S, et al. Role of the IL-6 classic- and trans-signaling pathways in corneal sterile inflammation and wound healing. *IOVS* 2011 ; 52 : 8549-57.
- Funderburgh JL, Funderburgh ML, Mann MM, et al. Proteoglycan expression during transforming growth factor β-induced keratocyte-myofibroblast transdifferentiation. *J Biol Chem* 2001 ; 276 : 44173-8.
- Du Y, SundarRaj N, Funderburgh ML, et al. Secretion and organization of a cornea-like tissue in vitro by stem cells from human corneal stroma. *IOVS* 2007 ; 48 : 5038-45.
- Carrier P, Deschambeault A, Talbot M, et al. Characterization of wound reepithelialization using a new human tissue-engineered corneal wound healing model. *IOVS* 2008 ; 49 : 1376-85.
- Couture C, Zaniolo K, Carrier P, et al. The tissue-engineered human cornea as a model to study expression of matrix metalloproteinases during corneal wound healing. *Biomaterials*. 2016 ; 78 : 86-101.
- Karamichos D, Guo XQ, Hutcheon AEK, Zieske JD. Human corneal fibrosis: an in vitro model. *IOVS* 2010 ; 51 : 1382-8.
- Jarczak D, Nierhaus A. Cytokine storm—definition, causes, and implications. *Int J Mol Sci* 2022 ; 23 : 11740.
- Loiseau A, Raïche-Marcoux G, Maranda C, et al. Animal models in eye research: focus on corneal pathologies. *Int J Mol Sci* 2023 ; 24 : 16661.
- Kamil S, Mohan RR. Corneal stromal wound healing: Major regulators and therapeutic targets. *Ocul Surf*. 2021 Jan;19:290-306. doi: 10.1016/j.jtos.2020.10.006.

TIRÉS À PART
É. Boisselier