

Thérapie génique appliquée au génie tissulaire

François A. Auger
Lucie Germain

La reconstruction tissulaire cutanée ouvre la voie à des applications fascinantes (1). Ainsi, depuis plus de 15 ans, le génie tissulaire a permis de produire des substituts cutanés pour le traitement des grands brûlés, car c'est dans ce domaine que cette technique récolte les résultats les plus significatifs sur la morbidité et la mortalité de ces patients. Il existe bien sûr d'autres perspectives cliniques : nous ne les aborderons pas directement dans le présent article; il s'agit, par exemple, des greffes cutanées consécutives à une postchirurgie « mutilante » (étendue) en oncologie ou des transplantations à des fins esthétiques sur des sites affectés d'une cicatrisation anormale.

La thérapie génique cutanée dans le contexte de la régénération tissulaire revêt un grand intérêt médical pour au moins deux raisons. Dans un premier temps, elle devrait conduire au traitement de diverses pathologies cutanées et ainsi s'appliquer dans tous les cas où l'on voudrait garantir un résultat avantageux au patient : guérison des plaies, immunomodulation cutanée, traitement de désordres systémiques. L'article *Thérapie génique cutanée : acquis et perspectives* de nos collègues, décrit élégamment ces applications (voir page 7).

Dans un deuxième temps, et nous sommes ici en relation directe avec le champ de spécialisation de notre laboratoire, la thérapie génique pourrait favoriser une application originale dans l'amélioration des substituts cutanés. Cet aspect a été évoqué par notre groupe, ainsi que par d'autres chercheurs (2). En effet, si le génie tissulaire permet de créer des substituts tissulaires déjà utilisés ou en voie de l'être (Figure 1), la possibilité de réimplanter une

« pièce de rechange » améliorée ouvre des horizons très prometteurs. Trois cibles semblent prioritaires si l'on considère le génie tissulaire cutané sous cet angle.

En premier lieu, dans notre champ d'études, la thérapie génique pourrait permettre une revascularisation accélérée des substituts cutanés. Deuxièmement, la possibilité de stimuler le tissu reconstruit à produire les annexes (poils, glandes sébacées, glandes sudoripares, etc.) permettrait de créer des greffons beaucoup plus physiologiques.

Enfin, le troisième but pourrait être de favoriser une guérison plus harmonieuse.

Il faut préciser que nous limiterons notre analyse au domaine du traitement des grands brûlés, domaine auquel nous nous consacrons depuis plusieurs années (1). De plus, nous ne discuterons pas des aspects réglementaires voire juridiques qu'il faudra évidemment prendre en considération pour toute application chez l'humain.

ADRESSE

Laboratoire d'Organogénèse expérimentale
Hôpital du Saint-Sacrement du CHA
1050, chemin Sainte-Foy
Québec (Québec) Canada G1S 4L8
et professeurs titulaires à l'Université Laval
François.auger@chg.ulaval.ca,
Lucie.germain@chg.ulaval.ca,
Web : www.fmed.ulaval.ca/loex

Revascularisation des substituts cutanés

Le délai de néovascularisation pour tout substitut cutané, environ 10-14 jours, est néfaste à l'épiderme qui n'est nourri que grâce à la proximité des capillaires du tissu de granulation, une nécrose de cette couche s'ensuit lorsque la partie dermique du substitut est épaisse et avasculaire.

Notre approche aura consisté à créer des substituts ayant un réseau de capillaires produits *in vitro* à partir de l'ensemencement de cellules endothéliales dans les substituts cutanés (2). Ces greffons devraient permettre le phénomène d'inosculation de façon précoce après la greffe offrent ainsi un apport nutritif en temps approprié à la couche épidermique. Nos résultats chez l'animal sont des plus intéressants.

Cependant un apport additionnel de VEGF sécrété soit par les kératinocytes ou les fibroblastes *in vitro* pourrait mener à une reconstruction plus rapide peut-être même avec moins de cellules endothéliales. On se doit de noter que pour une application clinique, ces cellules vasculaires doivent être autologues, sinon elles deviendraient une cible pour le rejet.

Des expériences ayant une visée semblable, mais par un concept quelque peu différent, ont été évoquées par l'un de nos collègues américains (3). La transfection de kératinocytes par le VEGF *in vitro* les induirait à sécréter des quantités accrues de ce facteur de croissance dans les substituts cutanés. Ainsi, l'équipe de chercheurs a démontré que l'apparition du réseau capillaire cutané dermique post-greffe est plus précoce et son développement meilleur.

Induction des annexes

L'une des lacunes bien connues des substituts cutanés obtenus par gé-

nie tissulaire est l'absence d'annexes : follicules, glandes sudoripares et glandes sébacées. On se doit de remarquer tout de même que les substituts cutanés permettent la survie des patients car une fois greffés, ces substituts restaurent la fonction de barrière protectrice de l'épiderme, ainsi qu'une homéostasie salvatrice pour des patients qu'aurait irrémédiablement condamnés la gravité de leurs brûlures.

Toutefois, avec les progrès actuels dans le domaine de l'analyse des gènes régulateurs chez l'humain qui ont permis d'identifier certains des gènes impliqués dans la morphogénèse, il est fort possible que d'ici quelques années l'on puisse utiliser les régions codantes pour l'émergence de telles structures. Ainsi, *in vitro* puis *in vivo*, les signaux appropriés pourraient être induits, voire « régulés » de façon à obtenir une répartition et une densité adéquates de ces annexes.

Certes ce but est encore très éloigné mais il ne semble pas hors de portée si l'on considère l'immense effort que l'on déploie actuellement dans les domaines de la génomique (analyse du profil génétique humain) et de la protéomique (étude des protéines sécrétées).

Quelques avantages complémentaires

L'amélioration de la cicatrisation : voilà l'un des domaines où l'on pourrait tirer parti de la thérapie génique au bénéfice, instamment, des grands brûlés. Cependant, en ce qui concerne la guérison des plaies, les processus exacts et leur séquence précise ne sont pas entièrement élucidés (4). De nombreux facteurs entrent en jeu et leur expression varie dans le temps, ce qui pourrait compliquer les interventions par thérapie génique.

De plus, il n'est pas impossible que le déroulement de la guérison des

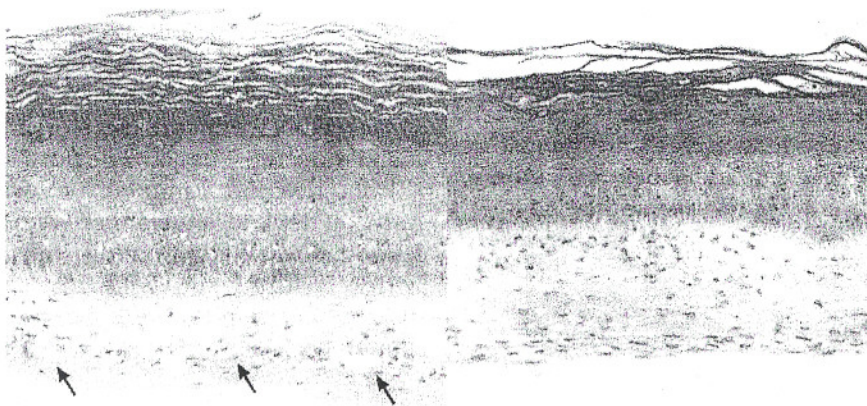
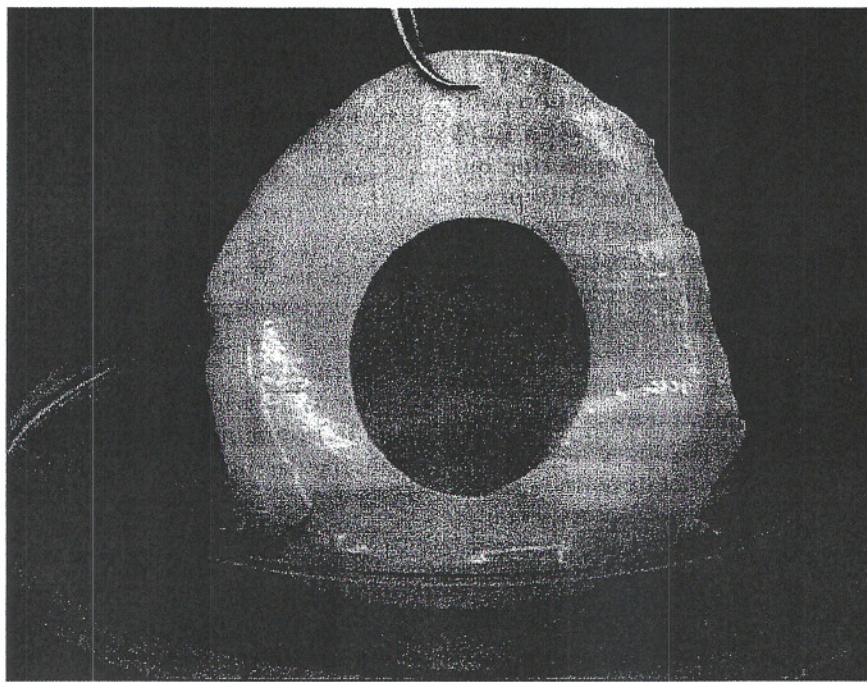


Figure 1
Aspect macroscopique (haut) et microscopique (bas) de la peau reconstruite *in vitro* par génie tissulaire. Coloration hématoxyline, éosine et safran de peaux reconstruites avec des capillaires (flèches, gauche) ou sans capillaire (droite). Les auteurs remercient Marie-Hélène Rochon de LOEX pour cette figure.

plaies ne soit pas rigoureusement semblable chez chaque être humain même si la finalité de guérison est la même. En effet, comme la carte génétique de chaque humain est unique, il semble fort plausible que les cascades d'événements physiologiques puissent avoir des composantes qui diffèrent d'un individu à l'autre.

Conclusion

Ainsi le génie tissulaire devrait être intimement lié à la thérapie génique dans les années à venir. Une telle synergie permettra d'améliorer les substituts cutanés mais aussi nous rapprocher des cellules souches qui jouent un rôle primordial dans toute reconstruction tissulaire. Ainsi, les

cellules souches cutanées nous intéressent certes de par leur nature mais aussi parce que toute thérapie génique à long terme par l'intermédiaire des substituts cutanés exigera leur isolement et leur transfection (5, 6).

Il en va ainsi car les cellules souches assurent l'homéostasie et le renouvellement constant de l'épiderme en raison de leur permanence. Les kératinocytes plus différenciés issus des cellules souches permettraient une sécrétion limitée dans le temps en raison de leur sort inéluctable : leur transformation en cornéocytes suivi de leur élimination par le processus normal de desquamation. En définitive, le mariage fascinant mais aussi audacieux du génie tissulaire et de la thérapie génique conduira fort probablement à des percées thérapeutiques dont bénéficieront évidemment de nombreux patients.

RÉFÉRENCES

1. Auger FA. Le génie tissulaire : du rêve à la réalité. *Médecine /Sciences* 2000; 16:1324-31.
2. Germain L, Rémy-Zolghadri M, Auger FA. Tissue engineering of the vascular system: from capillaries to larger blood vessels. *Med Biol Eng Comput* 2000; 38:232-40.
3. Supp DM, Supp AP, Bell SM and Boyce ST. Enhanced vascularization of cultured skin substitutes genetically modified to over express vascular endothelial growth factor. *J Invest Dermatol* 2000; 114(1): 5-13.
4. Moulin V. Growth factors in wound healing. *Eur J Cell Biol* 1995; 6: 1-7.
5. Germain L, Michel M, Fradette J, Xu W, Godbout MJ, Li Hui. Skin stem cell identification and culture: a potential tool for rapid epidermal sheet production and grafting. In: *Skin substitute production by tissue engineering: clinical and fundamental applications*. Rouahia M., Ed. R.G. Landes Publishers, Austin TX, USA.177-210, 1997.
6. Germain L, Fradette J, Robitaille H, Guignard R, Grondin G, Nadeau A, Blouin R. The Mixed Lineage Kinase Leucine-Zipper Protein Kinase exhibits a differentiation-associated localization in normal human skin and induces keratinocyte differentiation upon over expression. *J Invest Dermatol* 115:860-867, 2000.