

N011

CULTURE ET DÉLIVRANCE AU NIVEAU DU TISSU CARDIAQUE DE CARDIOMYOCYTES ISSUS DE CELLULES SOUCHES EMBRYONNAIRES HUMAINES AU MOYEN DE MATRICES TRIDIMENSIONNELLES POREUSES À BASE DE POLYSACCHARIDESS. HAMIDI ¹, C. LEVISAGE ², Y. FROMES ³, R. ISNARD ⁴, W. VAINCHENKER ¹, D. LETOURNEUR ², F. NOROL ^{1,5}¹ Inserm U790, Institut Gustave Roussy, AP-HP, Villejuif, France² Inserm U698, Cardiovascular Bioengineering, CHU X. Bichat, Paris, France³ Institut de Myologie, UPMC, Inserm U974, CNRS UMRs 7215, Paris, France⁴ Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Cardiology Unit, Paris, France⁵ Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Department of Biotherapy, Paris, France

Un intérêt particulier a été porté ces dernières années à la thérapie cellulaire réparatrice cardiaque. Les cellules souches embryonnaires humaines (hES) sont une source prouvée de cardiomyocytes et les premières données in vivo suggèrent leurs capacités fonctionnelles à type d'effet pacemaker ou réparatrices d'infarctus du myocarde. Nous avons étudié un mode de délivrance des cellules hES dans le tissu cardiaque basé sur une matrice 3D servant de support à la fois pour la culture des cellules et pour leur implantation au contact du myocarde.

Des matrices poreuses de polysaccharides (pullulane et dextrane) ont été préparées par réticulation chimique permettant de réaliser des films avec des pores de 100 à 200 microns. Les matrices ont été recouvertes de différentes protéines ; les cellules hES indifférenciées ont été cultivées sur fibroblastes murins, en milieu supplémenté avec du sérum knock-out et du FGF2. Dans une première partie in vitro, nous avons mis en évidence par q-RT-PCR, observation microscopique et imagerie confocale, la différenciation en cardiomyocytes de cellules hES directement cultivées dans les matrices en présence d'un milieu inducteur de différenciation ; les matrices permettaient aussi la culture, l'expansion et la survie à long terme de parties battantes obtenues à partir de corps embryoides issus d'hES et isolées manuellement. Nous avons ensuite étudié le devenir des cellules hES dans un modèle de lésions cardiaques par dépôt de films poreux cellularisés sur les cœurs infarcis de souris NOD SCID. L'identification est confirmée pour les cardiomyocytes issus d'ES d'une lignée de cellules hES H9 GFP+ ainsi que d'une lignée de cellules hES dans laquelle l'expression de la GFP est sous contrôle d'un promoteur spécifique du tissu cardiaque, Nkx2.5. Nous avons ainsi mis en évidence la migration des cellules ES à différents stades de différenciation à partir des matrices 3D vers les souris NOD SCID ainsi que leur différenciation en cardiomyocytes. Les données de PCR quantitative sur la base du transgène GFP mettent en évidence une meilleure survie des ES délivrées par l'intermédiaire des matrices 3D en comparaison avec une administration directe. Une étude fonctionnelle comparative est en cours.

N012

ENDOVASCULAR GINGIVAL FIBROBLAST CELL THERAPY REDUCED THE SIZE OF ANEURYSMS IN A RABBIT MODEL OF ELASTASE-INDUCED CAROTID INJURYE. DURAND ¹, N. REINALD ¹, B. FOURNIER ¹, C. BRASSELET ¹, L. COUTY ¹, M. LEMITRE ¹, B. COULOMB ¹, B. GOGLY ¹, A. LAFONT ¹
¹ Inserm U849, Paris, France

Background – Aortic abdominal aneurysm is characterized by excessive enlargement remodeling secondary to medial elastin destruction, and the severity of the disease has been correlated with metalloproteinase-9 (MMP-9). We aimed to evaluate whether embryo-like healing potential of a tissue (i.e., the gum) could be transposed to another tissue (i.e., the artery wall).

Methods and Results – Porcine pancreatic elastase was incubated during 15 minutes in rabbit carotid arteries (n=30). Four to 6 weeks later, carotid arteries were seeded endoluminally at the site of aneurysm with either rabbit gingival fibroblasts (n = 12) or culture medium only which served as control (n = 11). Vessel diameter and elastin density were assessed 4 weeks after cell therapy. Carotid diameter was similar before cell therapy in both group (3.4±0.5mm vs 3.1 ± 0.37mm, p=0.30). In contrast, carotid diameters were significantly decreased in aneurysmal arteries seeded with rabbit gingival fibroblasts as compared to control aneurysmal arteries (2.7 ± 0.64mm vs 3.60 ± 0.52, p=0.003). Moreover, elastin density was significantly higher in the media after endovascular gingival fibroblast than in controls (32.5 ± 4.7% vs 14.3 ± 8.2%, p=0.001). Four weeks after cell transplantation, gingival fibroblasts inhibited MMP-9 secretion via a significant increase of its inhibitor, TIMP-1.

Conclusions – Endovascular gingival fibroblast cell therapy improved elastin network and reduced the size of aneurysms in a rabbit model. This strategy may be attractive since gingival fibroblast are easily accessible are known to safely proliferate in culture medium.