



Disponible en ligne sur

ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France

EM|consulte
www.em-consulte.com



REVUE GÉNÉRALE

Régénération de l'épithélium des voies aériennes



Regeneration of airway epithelium

D. Adam^a, J.-M. Perotin^{a,b}, F. Lebargy^b,
P. Birembaut^{a,c}, G. Deslée^{a,b,*}, C. Coraux^a

^a Inserm UMRS 903, CHU de Reims, 45, rue Cognacq-Jay, 51092 Reims, France

^b Service des maladies respiratoires, CHU de Reims, 45, rue Cognacq-Jay, 51100 Reims, France

^c Laboratoire d'histologie Pol Bouin, CHU de Reims, 45, rue Cognacq-Jay, 51092 Reims, France

Reçu le 14 février 2013 ; accepté le 4 octobre 2013

Disponible sur Internet le 8 décembre 2013

MOTS CLÉS

Régénération ;
Épithélium des voies
aériennes ;
Cellules souches ;
BPCO ;
Mucoviscidose

Résumé

Introduction. — La régénération de l'épithélium respiratoire est un phénomène complexe qui peut, en conditions pathologiques (asthme, BPCO, mucoviscidose), aboutir à un remodelage chronique, altérant la fonctionnalité de l'épithélium.

État des connaissances. — Le développement de modèles d'étude in vivo et in vitro a permis d'étudier les mécanismes du remodelage bronchique. Les principaux acteurs de ce remodelage ont ainsi été mis en évidence : composants de la matrice extracellulaire, protéases, facteurs de croissance, cytokines. Les cellules progénitrices/souches de l'épithélium des voies aériennes ont également été étudiées dans ces modèles, leur identification restant toutefois difficile.

Conclusion. — L'identification et la caractérisation des cellules souches/progénitrices de l'épithélium des voies aériennes ainsi que la compréhension complète des mécanismes de la régénération devraient permettre l'élaboration de nouvelles stratégies thérapeutiques favorisant la reconstitution épithéliale.

© 2013 SPLF. Publié par Elsevier Masson SAS. Open access under [CC BY-NC-ND license](#).

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : gdeslee@chu-reims.fr (G. Deslée).

KEYWORDS

Regeneration;
Airway epithelium;
Stem-cells;
COPD;
Cystic fibrosis

Summary

Introduction. — Epithelial regeneration is a complex process. It can lead to the remodeling of the airway epithelium as in asthma, COPD or cystic fibrosis.

Background. — The development of in vivo and in vitro models has allowed the analysis of remodeling mechanisms and showed the role of components of extracellular matrix, proteases, cytokines and growth factors. Airway epithelial progenitors and stem cells have been studied in these models. However, their identification remains difficult.

Conclusion. — Identification and characterization of airway epithelial progenitor/stem-cells, and a better knowledge of the regeneration process may allow the development of new therapeutic strategies for airway epithelial reconstitution.

© 2013 SPLF. Published by Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Introduction

L'épithélium des voies aériennes, zone d'interface entre le milieu extérieur et le parenchyme sous-jacent, joue un rôle majeur de barrière physique et fonctionnelle. Son intégrité est assurée en conditions normales par un mécanisme de régénération. En conditions pathologiques, un remodelage épithélial peut survenir. Physiologique pendant la croissance ou après une lésion et/ou une inflammation, le remodelage, lorsqu'il devient chronique et survient dans un contexte inflammatoire, peut aboutir à une altération de la structure de la bronche : lésions épithéliales, épaississement de la membrane basale et du muscle lisse, hypertrophie glandulaire, augmentation de la vascularisation et du nombre de fibroblastes, augmentation de la production de collagène. Ces lésions sont à l'origine d'une altération de la fonction bronchique et épithéliale. De telles lésions ont été décrites dans de nombreuses pathologies inflammatoires comme la BPCO, l'asthme ou la mucoviscidose [1].

Épithélium des voies aériennes et remodelage

L'épithélium des voies aériennes joue un rôle de barrière physique et fonctionnelle entre l'hôte et l'environnement, assuré par plusieurs mécanismes de défense : le maintien de l'intégrité de la barrière épithéliale, la clairance mucociliaire et la sécrétion de molécules à activité antibactérienne, antioxydante et antiprotéasique [2].

La morphologie de l'épithélium des voies aériennes et sa composition cellulaire participent à la fonction de défense (Fig. 1). Ainsi, l'épithélium bronchique, de type mucociliaire, est composé principalement de cellules ciliées formant, avec les cellules basales et une faible composante de cellules caliciformes, une structure pseudostratifiée. Les cellules ciliées occupent la majorité de la surface en contact avec la lumière bronchique, les cellules basales couvrant la presque totalité de la membrane basale [3]. L'épithélium bronchiolaire comprend des cellules ciliées, des cellules basales et des cellules de Clara (cellules sécrétoires non ciliées bronchiolaires ou Club cells) [4], les bronchioles les plus distales présentant un épithélium constitué uniquement de cellules de Clara [5]. Le maintien de l'intégrité de cette barrière épithéliale est assuré par un système de jonctions intercellulaires : jonctions serrées au niveau apical de la

membrane basolatérale des cellules, jonctions adhérentes et desmosomes au niveau des membranes latérales.

La clairance mucociliaire est un phénomène complexe et régulé. Elle nécessite, d'une part, une production de mucus par les cellules caliciformes et les cellules sécrétoires des glandes sous-muqueuses, et, d'autre part, une sécrétion de fluide périciliaire, comprenant une structure dense de macromolécules appelée « brosse », émanant de la surface des cils et de la membrane des cellules apicales et fixées à la surface cellulaire par des domaines transmembranaires. Ce modèle de « gel sur brosse » a récemment été décrit avec le mucus « gel » recouvrant la « brosse » composée des mucines et mucopolysaccharides [6,7]. Un battement ciliaire rythmé et coordonné permet, pendant sa phase active, la mobilisation du mucus et des particules et bactéries qui y sont piégés [2,8,9]. Pendant la phase de relaxation, les cils relâchent le mucus, permettant sa propulsion ascendante par une action « tapis roulant » [2]. La viscosité du mucus joue ainsi un rôle majeur dans l'efficacité de la clairance mucociliaire.

Enfin, l'épithélium, en réponse à une agression toxique ou infectieuse, peut sécréter dans la lumière des voies aériennes des substances antimicrobiennes (β -défensine, cathélicidine LL-37, lysosyme, lactoferrine, *secretory leukocyte proteinase inhibitor* [SLPI], élafine, phospholipase A2), principalement produites par les cellules séreuses des glandes sous-muqueuses, et dont certaines ont également un rôle antiprotéasique [10–13]. L'épithélium des voies aériennes peut également sécréter des chimiokines et cytokines, permettant d'initier la réaction inflammatoire [14]. La sécrétion de lactoperoxidase protégeant la surface épithéliale par la production de radicaux oxydants [15,16], la libération d'IgA sécrétoires [17] ou de protéines particulières comme l'utéroglobine, CCSP ou CC10 [18–20] permettent également d'assurer la fonction de défense de l'épithélium. Enfin, l'implication de métalloprotéases matricielles (MMP) a été montrée, en particulier la MMP7 (matrilysine), exprimée de façon constitutive par les cellules épithéliales des voies aériennes, et capable d'activer la forme latente de peptides antimicrobiens comme les défensines [21].

L'ensemble de ces mécanismes concourt au maintien de la fonction de l'épithélium normal. En conditions pathologiques, ils peuvent être diversement altérés. En effet, une anomalie de la clairance mucociliaire liée à des pathogènes, des aérocontaminants, à une pathologie inflammatoire chronique comme l'asthme ou la BPCO ou génétique

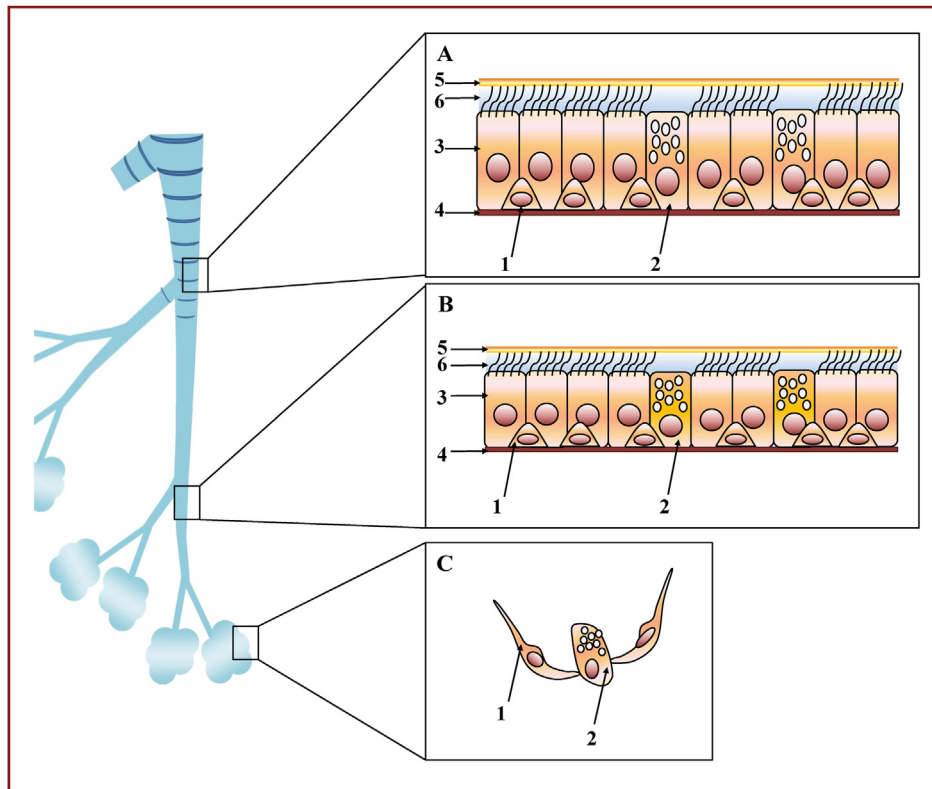


Figure 1. Structure de l'épithélium des voies respiratoires. A. L'épithélium bronchique est constitué de cellules basales (1), de cellules caliciformes (2) et de cellules ciliées (3), reposant sur une membrane basale (4). Le mucus bordant cet épithélium est composé de deux phases : la phase gel (5), superficielle et viscoélastique, et la phase sol (6), plus fluide et où baignent les cils. B. Les bronchioles, sans cartilage ni glandes, présentent un épithélium bronchiolaire, plus fin, constitué de cellules basales (1), de cellules sécrétrices non ciliées (cellules Club ou cellules de Clara) (2) de cellules ciliées (3). C. L'épithélium alvéolaire est constitué des pneumocytes de type I (1) et de type II (2).

comme la mucoviscidose, aboutit à une modification plus ou moins étendue de l'architecture de l'épithélium des voies aériennes. Le développement de modèles expérimentaux, xénotransgreffe dans la souris *nude* de cellules de patients pour la mucoviscidose ou modèles animaux d'exposition chronique à des aérocontaminants, ovalbumine pour l'asthme, tabac pour la BPCO, ont permis de mettre en évidence et d'étudier les différentes composantes du remodelage des voies aériennes. Il a ainsi été décrit des modifications épithéliales de type lésion épithéliale, métaplasie malpighienne, hyperplasie des cellules basales et sécrétrices,

hyperplasie des glandes sous-muqueuses, ainsi que des modifications sous-épithéliales de type prolifération et activation des fibroblastes, synthèse dérégulée des composants de la matrice extracellulaire, angiogenèse, hyperplasie et hypertrophie des cellules musculaires lisses [22–45]. Ces modifications sont associées différemment dans l'asthme, la BPCO et la mucoviscidose (Tableau 1) [46–48], leur corrélation avec les symptômes ou l'évolution de la maladie n'étant toutefois pas clairement établie. En effet, une métaplasie malpighienne de l'épithélium des petites voies aériennes et une hypersécrétion muqueuse semblent être associées à

Tableau 1 Éléments du remodelage de l'épithélium des voies respiratoires décrits dans l'asthme, la BPCO et la mucoviscidose.

	Asthme	BPCO	Mucoviscidose
Lésions épithéliales	X [1,22,23]		X [24–26]
Métaplasie malpighienne		X [1,27,28,41,42]	X [25,29,30]
Hyperplasie des cellules caliciformes	X [31]	X [1,22,32–34,40]	X [24–26,29]
Hyperplasie des cellules basales			X [24–26]
Hypertrophie des glandes sous-muqueuses	X [22,30,32,35]	X [22,32]	X [36–38]
Augmentation de la hauteur épithéliale			X [24]
Épaississement de la lame basale	X [1,22]	X [1,39]	X [25,26,44]
Fibrose de la paroi des voies aériennes	X [1,35]	X [1,22,32]	X [43]
Hypertrophie du muscle lisse	X [22,35]	X [22,32]	X [45]

la sévérité de l'obstruction bronchique dans la BPCO, alors qu'une métaplasie malpighienne des voies aériennes proximales n'est pas corrélée au degré d'obstruction ou à la présence d'une bronchite chronique [49]. Le remodelage épithélial dans l'asthme ne semble pas corrélé à la fonction respiratoire (VEMS, VEMS/CVF) ni au degré d'hyperréactivité bronchique [50].

Les modèles expérimentaux ont également permis d'étudier plus spécifiquement le rôle de différentes cellules, molécules de jonctions et médiateurs dans le remodelage bronchique, et plus récemment d'analyser le profil d'expression génique de l'épithélium remodelé dans la BPCO [51]. Des modèles d'exacerbation infectieuse (virale, bactérienne ou fongique) associée au remodelage ont également été mis au point. Enfin, ces modèles ont permis de récemment mettre en évidence le concept d'unité trophique épithélio-mésenchymateuse, soulignant le rôle de l'épithélium respiratoire dans les processus de développement, réparation et remodelage pulmonaire et bronchique [47,52].

- La fonctionnalité de l'épithélium des voies aériennes est assurée par le maintien de l'intégrité de la barrière épithéliale, la clairance mucociliaire et la capacité sécrétoire de l'épithélium.

Réparation – régénération de l'épithélium des voies aériennes

Étapes de réparation et régénération de l'épithélium des voies aériennes

Suite à différents types d'agression (inhalation de particules polluantes, de produits toxiques, de microorganismes) ou dans des pathologies inflammatoires chroniques comme la BPCO, la mucoviscidose ou l'asthme, l'épithélium des voies aériennes peut présenter une desquamation plus ou moins importante. Différents modèles de lésion/réparation/régénération *in vivo* et *in vitro* ont permis de mettre en évidence quatre étapes dans la reconstitution de l'architecture épithéliale : l'étalement puis la migration des cellules bordant la zone de lésion, la prolifération et enfin la différenciation des cellules épithéliales aboutissant à un épithélium pseudostratifié mucociliaire fonctionnel [53,54]. En effet, le processus de réparation débute par une dédifférenciation des cellules épithéliales bordant la zone de lésion : les cellules basales, qui sont également les cellules progénitrices de l'épithélium bronchique [55], s'étalement puis migrent [56], recouvrant ainsi la membrane basale dénudée et restituant une barrière physique épithéliale [57]. Lorsque la zone lésée est réépithélialisée, la majorité des cellules sont entrées en phase de prolifération et expriment des cytokératines telles que les cytokératines 13, 14 et 18 [53]. Ces cellules forment, de manière transitoire, une structure épithéliale stratifiée, similaire à une métaplasie malpighienne, composée de plusieurs couches de cellules cuboïdales couvertes d'une couche de cellules étalées morphologiquement squameuses. La phase proliférative cellulaire diminue ensuite et les cellules épithéliales

entrent dans une phase de différenciation provoquant le remaniement de la structure épithéliale squameuse. Deux grands mécanismes sont alors mis en jeu, d'une part, la différenciation sécrétoire et, d'autre part, l'activation de la ciliogenèse. Les premières cellules ciliées apparaissent, l'épithélium n'est alors plus stratifié mais acquiert un aspect architectural pseudostratifié, avec des cellules pyramidales recouvrant la quasi-totalité de la lame basale, et des cellules ayant une morphologie cylindrique (Fig. 2).

Processus de ciliogenèse

La ciliogenèse est un processus de différenciation terminale des cellules de l'épithélium des voies aériennes nécessaire à la mise en place de la clairance mucociliaire. Ce processus permettant de développer les structures centriolaires à l'origine de l'architecture des cils présents à la surface des cellules ciliées nécessite l'expression préalable du facteur de transcription de la ciliogenèse FOXJ1, facteur exprimé en amont de l'apparition des cils [58]. Le mécanisme de ciliogenèse requiert la polarisation préalable des cellules épithéliales. Les corps basaux ciliaires migrent en effet vers la surface de la cellule à l'aide du cytosquelette d'actine [59]. Les protéines ezrine et RhoA, régulées par le facteur de transcription FOXJ1, sont impliquées dans le processus de la ciliogenèse en modulant le cytosquelette d'actine ce qui va permettre la migration vers la surface apicale de la cellule des corps basaux ciliaires, dont l'origine proviendrait de la transformation des centrioles, [60–63].

Jain et al. ont montré la présence de cils primaires au niveau des cellules bronchiques murines et humaines en culture. L'étude de l'évolution temporelle de ces cils indique que ces cellules bronchiques ont la capacité d'acquérir des cils motiles, suggérant que le cil primaire serait à l'origine des cils motiles apparaissant lors de la différenciation terminale des cellules ciliées. Leur absence dans l'épithélium bronchique mature ainsi que leur apparition lors de la régénération post-lésions semblent impliquer les cils primaires dans les processus de réparation et de différenciation épithéliale [64].

Modèles d'étude

Modèles de réparation/régénération *in vivo*

Différents modèles d'étude *in vivo* chez des petits mammifères : furet, souris, cochon d'Inde [65–68] ont été développés afin de reproduire les conditions de lésions et de régénération observées chez l'homme. Ces modèles permettent d'étudier les mécanismes de la régénération épithéliale en conditions physiologiques, ainsi que le rôle de l'inflammation et l'implication d'autres facteurs dans le processus de réparation/régénération épithéliale.

Le modèle *in vivo* expérimental le plus utilisé pour l'étude de la régénération épithéliale humaine est le modèle chimérique de xénogreffe dans la souris *nude*. Il consiste en l'implantation sous-cutanée chez la souris d'une trachée de rat déplétée de son épithélium, dans laquelle sont ensemencées les cellules épithéliales de voies aériennes humaines issues principalement de polypes nasaux ou de bronches [69]. Ce modèle expérimental a l'avantage de

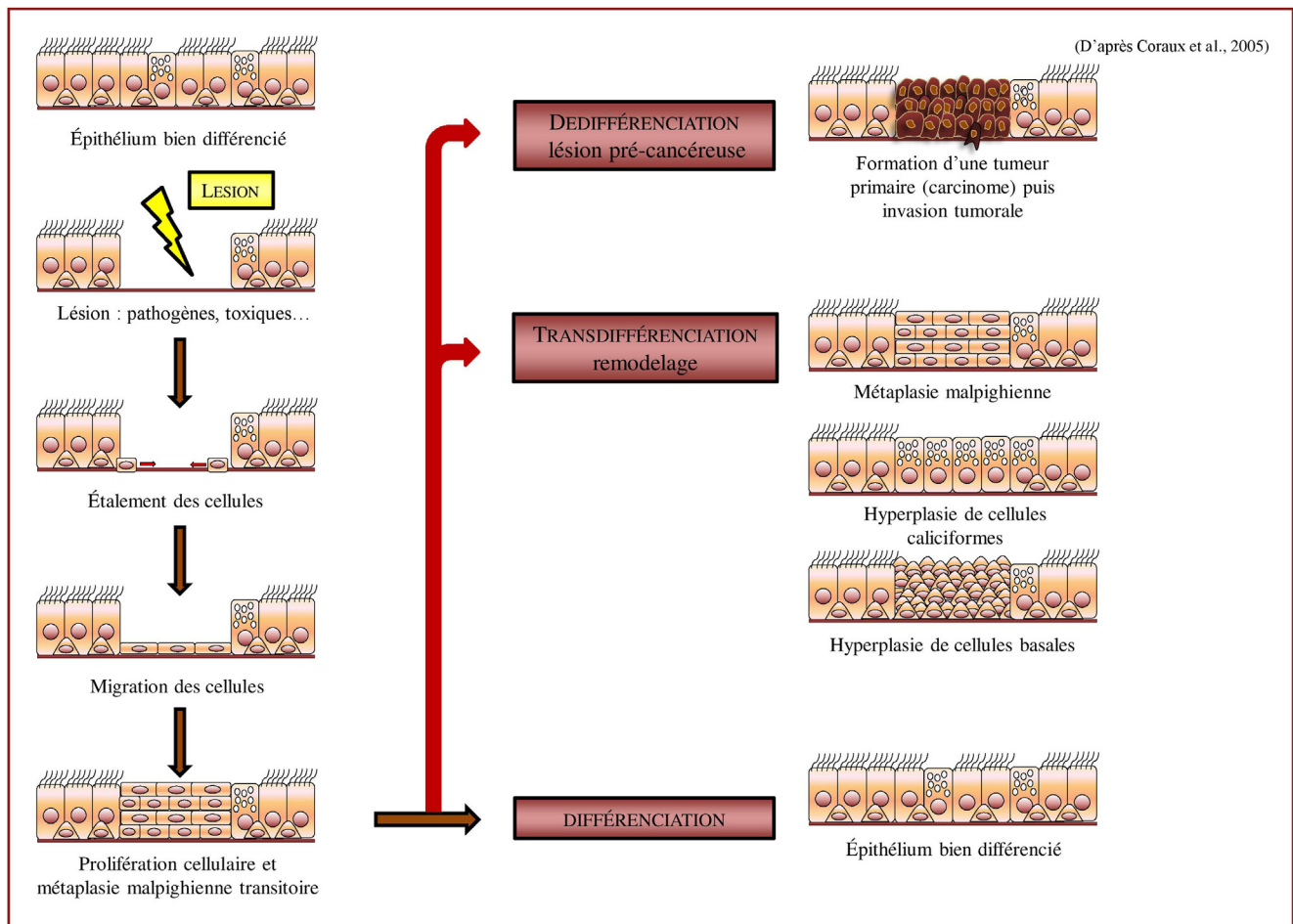


Figure 2. Régénération normale et pathologique de l'épithélium des voies aériennes. Suite à une lésion, les cellules bordant les plaies se dédifférencient, s'étalent et migrent puis prolifèrent pour former une métaplasie transitoire, progressivement remplacée par un épithélium différencié mature. Une réparation/régénération anormale de l'épithélium peut aboutir à une dédifférenciation avec le développement de lésions précancéreuses, ou à une transdifférenciation, avec un remodelage épithélial (métaplasie malpighienne, hyperplasie de cellules sécrétoires, hyperplasie de cellules basales).

permettre l'analyse des étapes successives de la régénération, le recueil des sécrétions épithéliales et l'étude de la modulation de l'expression des molécules matricielles, des facteurs de croissance et des cytokines au cours de la régénération [70].

Modèles de réparation/régénération in vitro

L'accessibilité cellulaire et l'observation des différents événements de la réparation épithéliale restent toutefois limitées dans les modèles d'étude in vivo, des modèles de lésions in vitro ont été mis au point. Des lésions chimiques [71] ou mécaniques [72] permettent d'obtenir une desquamation épithéliale localisée, les étapes successives de la réparation pouvant alors être étudiées. Ces modèles permettent d'analyser les sécrétions de facteurs épithéliaux impliqués dans la réparation de l'épithélium respiratoire, mais aussi de moduler l'environnement dans lequel se déroule ce processus.

Plusieurs modèles de réparation et de régénération in vitro de l'épithélium des voies aériennes à partir de cellules humaines en culture primaire – issues de polypes

nasaux, de bronches, de brossages bronchiques – ou de lignées cellulaires ont été décrits [73,74].

Afin d'étudier les différentes étapes de la régénération épithéliale et en particulier la phase de différenciation cellulaire, un modèle in vitro de culture bidimensionnelle en interface air-liquide a été mis au point, qui permet d'obtenir un épithélium différencié et fonctionnel (Fig. 3). Ce modèle de régénération consiste à ensemencer des cellules épithéliales primaires de voies aériennes dans une chambre bicompartimentale formée par un filtre poreux. Les cellules sont tout d'abord cultivées en présence de milieu dans les deux compartiments jusqu'à obtention d'une monocouche cellulaire confluite. Elles sont alors cultivées en condition air-liquide par suppression du milieu du compartiment apical. Ce contact des cellules avec l'air ainsi que la présence d'acide rétinolique dans le milieu de culture va permettre la formation d'un épithélium mucociliaire fonctionnel [75].

D'autres modèles in vitro existent, comme les modèles de régénération épithéliale en trois dimensions. Les cellules primaires issues de voies aériennes humaines forment alors des structures 3D, appelées organoïdes, obtenues par agrégation des cellules maintenues en suspension dans le milieu de culture. Suite à une dé-différenciation rapide

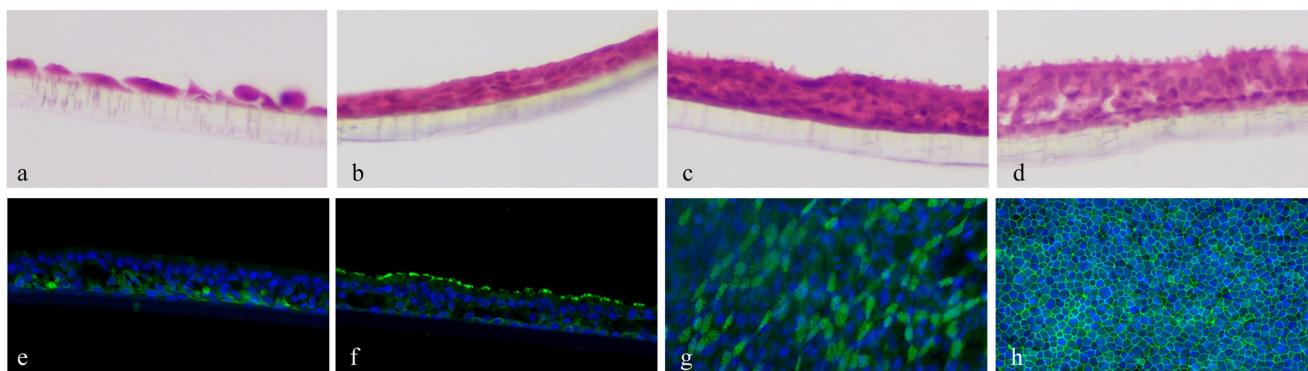


Figure 3. Les différentes étapes de la régénération épithéliale observées en culture en interface air-liquide (a–d). Les cellules forment tout d'abord une monocouche de cellules indifférenciées (a), puis une métaplasie malpighienne transitoire va se développer (b), avant la pseudostratification épithéliale et l'apparition des premières cellules ciliées (c), puis la différenciation complète de l'épithélium pseudostratifié (d). La détection en immunofluorescence sur coupes de cultures (e, f) ou sur cultures entières (g, h) de différents marqueurs montre la présence de cellules basales exprimant la cytokératine 13 (e) et de cellules ciliées exprimant la tubuline- α (f, g). L'épithélium reconstitué présente un réseau de jonctions serrées (détection de la protéine ZO-1) sous la forme caractéristique en nid d'abeille (h). Grossissement $\times 20$.

marquée par la perte de cellules ciliées et du complexe CFTR-ezrin-ZO1, les cellules épithéliales vont se redifférencier pour former un épithélium polarisé et fonctionnel. L'intérêt majeur de ces structures épithéliales est lié à leur capacité à maintenir une différenciation cellulaire pendant plusieurs mois [76].

Effecteurs de la réparation/régénération

L'utilisation des différents modèles disponibles a permis de mettre en évidence de nombreux facteurs impliqués dans la réparation et la régénération de l'épithélium des voies aériennes : des composants de la matrice extracellulaire, des systèmes protéolytiques tels que les MMP et leurs inhibiteurs ou les activateurs du plasminogène, des cytokines pro-inflammatoires et des facteurs de croissance.

La matrice extracellulaire

Durant les phases précoces de réparation épithéliale caractérisées par des phénomènes d'étalement et de migration des cellules afin de réépithélialiser la surface dénudée, les cellules interagissent avec les protéines de la matrice extracellulaire via des structures transitoires appelées contacts focaux et primordiaux [54]. Les mouvements cellulaires impliquent la formation de sites d'adhérence à la matrice extracellulaire au pôle antérieur des cellules migrantes et la libération de sites d'adhérence au pôle postérieur de ces cellules. La fibronectine, ainsi que les principaux composants de la lame basale (laminines, collagène de type IV), sont utilisés comme support pour la migration, par l'intermédiaire de récepteurs cellulaires membranaires spécifiques dont les intégrines. Pour exemple, l'utilisation d'anticorps bloquants a permis de montrer que l'intégrine $\alpha 5 \beta 1$ est nécessaire à une migration rapide des cellules épithéliales de voies aériennes sur de la fibronectine [77].

La synthèse des protéines matricielles, en particulier la fibronectine, est régulée par des médiateurs inflammatoires (TGF- β et histamine) au cours de la migration et de la

prolifération cellulaire [78,79]. Ces derniers sont probablement libérés par les cellules épithéliales elles-mêmes ou par les cellules inflammatoires : neutrophiles, éosinophiles et mastocytes.

Les systèmes protéolytiques

Les MMPs sont impliquées dans de nombreux processus pathologiques comme la progression tumorale [80,81]. Elles jouent également un rôle dans les processus physiologiques tels la réparation de l'épithélium des voies aériennes, en particulier via le remodelage de la matrice provisoire sécrétée par les cellules réparatrices. Ainsi, la MMP-9 (gélatinase B) joue un rôle clé dans la migration des cellules épithéliales bronchiques durant la réparation de la lésion : surexprimée par les cellules basales migratoires au niveau de la plaie, l'inhibition de son activation induit une diminution voire une inhibition totale de la réparation [82,83]. D'autres MMPs, telles que les stromélysines 1 et 3 (MMP3 et MMP-11, respectivement) semblent être impliquées dans la migration cellulaire et le remodelage de la matrice extracellulaire durant les phénomènes de réparation. Elles sont en effet exclusivement exprimées par les cellules basales réparatrices qui acquièrent un phénotype mésenchymateux avec expression de vimentine, filament intermédiaire impliqué dans la migration des cellules [84].

Contrairement à la plupart des MMPs, la MMP-7 est constitutivement exprimée par les cellules épithéliales des voies aériennes, avec pour principale fonction l'activation de la forme latente des défensines, jouant ainsi un rôle majeur dans la défense de l'hôte [21]. La MMP-7 présente également un rôle important dans la régénération épithéliale. En effet, la MMP-7 est surexprimée par les cellules réparatrices d'épithéliums bronchiques lésés et est modulée par le *tissue inhibitor of metalloproteinases-1* (TIMP-1) [85]. Un blocage de la réépithélialisation de trachées de souris mutées pour la MMP-7 a été décrit [86] et l'utilisation d'inhibiteurs chimiques de la MMP-7 mais aussi de la MMP-9 a entraîné un défaut de la différenciation des cellules

épithéliales de voies aériennes humaines dans le modèle de régénération en xélogreffe [70].

La métalloprotéinase matricielle membranaire de type 1 (MT-1-MMP ou MMP-14), produite par les cellules épithéliales bronchiques, joue également un rôle dans la réparation épithéliale : après une lésion des petites bronches par le naphthalène, les cellules mutées pour la MT1-MMP présentent une diminution de la réparation épithéliale. Son activité passe par le récepteur au *keratinocyte growth factor* (KGF) [87].

L'implication d'un autre système protéolytique a été mise en évidence dans de récents travaux : le système activateur du plasminogène. Stewart et al. ont montré l'implication d'uPAR (récepteur de l'urokinase – activateur du plasminogène) dans la réparation de cellules épithéliales bronchiques chez des patients asthmatiques. Il a été observé chez ces patients, une augmentation de l'expression d'uPAR via des modifications de la voie des MAP kinases (Erk1/2, p38MAPK) et la voie de survie cellulaire (Akt), avec pour conséquence une séquestration d'uPAR et une augmentation du taux d'uPAR soluble, conduisant à une diminution de la réparation épithéliale et à un remodelage de l'épithélium [88].

Facteurs de croissance, cytokines et autres effecteurs

Différents facteurs sécrétés par les cellules épithéliales et modulant les phases de la réparation épithéliale que sont la migration et la prolifération, mais également régulant la différenciation cellulaire ont été décrits.

L'*epidermal growth factor* (EGF), via le récepteur EGFR, stimule et accélère la réparation épithéliale en modulant la migration cellulaire [88–91]. À l'inverse, un inhibiteur de la voie EGFR *tyrosine kinase* entraîne un blocage de la réépithélialisation [89–93]. Trinh et al. ont également montré que l'EGF avait la capacité de stimuler certains canaux potassiques, leurs actions combinées potentialisant la migration et la prolifération des cellules épithéliales respiratoires [94,95]. De plus, il a été montré que l'EGF et le *platelet-derived growth factor* (PDGF) influencent la régénération de l'épithélium bronchique, en modulant la prolifération et la différenciation des cellules épithéliales [93]. Des peptides trifoliés (TFF), en particulier TFF2 et TFF3, peuvent également agir en synergie avec l'EGF dans la réparation de l'épithélium des voies aériennes, via l'activation de la protéine kinase C et de *extracellular signal-related protein kinase 1/2* (ERK 1/2) [96], et stimuler la différenciation des cellules ciliées [97]. L'*hepatocyte growth factor* (HGF), le KGF et les interleukines IL-1 α et β interviennent également lors du processus de réparation épithéliale en régulant la migration, mais également en stimulant la prolifération cellulaire [98–100].

D'autres facteurs peuvent réguler de manière indirecte les mécanismes de réparation/régénération : l'IL-8 stimule l'expression des MMPs [70] et l'IL-13 favorise la sécrétion de facteurs de croissance impliqués dans la migration et la différenciation cellulaires ainsi que des peptides de défense antimicrobienne [101]. Des travaux laissent penser que l'HGF pourrait non seulement réguler la migration et la prolifération des cellules épithéliales, mais également

induire, suite à l'activation de son récepteur c-met, la différenciation des cellules ciliées [98,101]. Différentes études montrent que l'EGF et l'IL-13 joueraient un rôle inhibiteur de la différenciation des cellules ciliées quand l'EGF, l'IL-4, l'IL-9, l'IL-13, l'élastase ou les défensines (HNP1-3) du neutrophile seraient inducteurs de la différenciation des cellules calciformes [102–105]. Le *nerve growth factor* (NGF), facteur impliqué dans l'inflammation pulmonaire, est également régulateur de la réparation épithéliale : dans des cultures cellulaires et des modèles murins, il augmente la prolifération cellulaire et stimule la synthèse de la fibronectine et du collagène de type I [106].

Maille et al. ont observé que le TNF α augmente la réparation de l'épithélium de surface en amplifiant le taux de migration. Les mécanismes cellulaires induits par le TNF α sont une sécrétion de la MMP-9, une libération du facteur EGF et une transactivation de l'EGFR, induisant une stimulation des canaux potassiques dont les canaux KvLQT1 et K_{ATP}, également impliqués dans les processus de réparation [107]. Il a été également montré que le TNF α et l'IL-1 β favorisent la transition épithélio-mésenchymateuse induite par le TGF- β 1 et dérèglent la réparation des lésions de l'épithélium respiratoire [108]. Le TGF- β contribuerait également au remodelage de l'épithélium par sa capacité à limiter la différenciation des cellules sécrétoires et ciliées [109]. En outre, dans des travaux publiés en 2011, Ito et al. ont montré que le TGF- β 1 et le TGF- β 2 augmentent la réparation de l'épithélium bronchique en favorisant l'activation du récepteur EGFR par phosphorylation [110].

Enfin, une récente publication a rapporté que le canal chlore CFTR, muté dans la mucoviscidose, pouvait jouer un rôle important dans les phases précoces de régénération. En effet, l'inhibition de CFTR par un composé chimique ou par des ARN interférents diminue la vitesse de migration et la prolifération de cellules humaines nasales et bronchiques [25].

- Le processus de régénération épithéliale comporte quatre étapes (étalement, migration, prolifération et différenciation cellulaire). Il implique différents facteurs : composants de la matrice extracellulaire (fibronectine, laminines, collagène de type IV), protéases (MMPs, uPAR), facteurs de croissance (EGF), cytokines (IL-8, IL-13), TNF α .

Cellules souches/progénitrices de l'épithélium des voies aériennes humaines

Qu'est-ce qu'une cellule souche ?

Les cellules souches (CS) sont des cellules immatures qui possèdent deux principales capacités spécifiques propres : leur propriété d'auto-renouvellement et leur degré de plasticité. Ainsi, une CS est capable de se diviser indéfiniment pour donner deux cellules « filles », permettant de maintenir en permanence un pool de CS, qui peut être rapidement mobilisé en cas de lésions tissulaires [111]. Il faut cependant noter que les CS se divisent de manière asymétrique, donnant une CS « fille » identique génétiquement

à la cellule mère et une cellule progénitrice ou cellule d'amplification transitoire, qui va pouvoir initier un programme de différenciation [112]. La cellule progénitrice présente une forte capacité de prolifération mais qui reste limitée dans le temps. Elle est à l'origine des cellules matures et fonctionnelles spécifiques d'un tissu donné [111]. Ainsi, après la simple division d'une CS, les deux cellules qui en résultent vont présenter des propriétés de prolifération et de différenciation différentes, soit par ségrégation de facteurs intrinsèques différents après la séparation cellulaire, soit par la position de ces cellules dans des micro-environnements distincts appelés niches. Les CS sont indispensables à l'homéostasie des tissus en assurant le renouvellement des cellules les composant et à la régénération tissulaire. C'est pourquoi l'identification et la caractérisation des CS de l'épithélium des voies aériennes humaines restent des objectifs majeurs afin de pouvoir mettre en place des thérapies favorisant la réparation et la régénération de l'épithélium lésé.

Cellules souches respiratoires endogènes

Les CS endogènes résident au sein des épithéliums trachéo-bronchique, bronchiolaire et alvéolaire. En 1995, Zepeda et al. ont identifié grâce à un modèle de xénogreffe trachéale chez la souris, une population de cellules épithéliales bronchiques humaines présentant des propriétés d'auto-renouvellement important, de différenciation multipotente, et capable de reconstituer l'épithélium de surface et de générer un réseau de glandes respiratoires. Cette population cellulaire n'a toutefois pas été identifiée [113]. Tout au long de l'arbre respiratoire, différentes populations cellulaires présentant un potentiel souche/progénéateur ont été décrites chez le rongeur : les cellules basales des canaux glandulaires et de l'épithélium de surface trachéobronchique dans les zones inter-cartilagineuses [114], une sous-population de cellules de Clara dans l'épithélium bronchiolaire et à la jonction bronchiolo-alvéolaire [115,116], des cellules souches capables de se différencier en cellules bronchiolaires et alvéolaires, localisées à la jonction bronchiolo-alvéolaire [117], une sous-population de pneumocytes de type II au sein de l'épithélium alvéolaire [118], ainsi qu'une population de cellules souches spécifiques appelée *side population* pulmonaire [119]. Cependant, les différences histologiques existant entre l'épithélium des voies aériennes humaines et murines rendent difficilement extrapolables les résultats de ces études à l'homme [3,120].

Chez l'homme, l'identification et la caractérisation des cellules souches de l'épithélium des voies aériennes restent difficiles en raison du faible taux de renouvellement cellulaire. Toutefois, il est désormais admis que les cellules basales des voies trachéobronchiques peuvent être considérées, sinon comme les cellules souches, tout au moins comme les cellules progénitrices de l'épithélium des voies aériennes humaines [121]. Isolées par cytométrie en flux grâce à différents marqueurs membranaires tels que le CD151 et le Facteur tissulaire [55], le *nerve growth factor receptor* et l'intégrine $\alpha 6$ [122] ou l'aquaporine 3 [123], ces cellules ont montré leur capacité à restaurer un épithélium mucociliaire pseudostratifié fonctionnel et un réseau de glandes respiratoires matures dans différents modèles in vivo et in vitro. Cependant, dans un travail récent de

Kajstura et al., une population de cellules exprimant le marqueur c-kit a été isolée du poumon humain et caractérisée. Cette population, qui n'est pas d'origine épithéliale, endothéliale, hématopoïétique, mésenchymateuse ou musculaire, présente une capacité d'auto-renouvellement, de différenciation multipotente et d'intégration dans le tissu pour participer à sa régénération, et pourrait donc être maintenant considérée comme une population de cellules souches pulmonaires chez l'homme [124].

Potentiel des cellules souches embryonnaires

Les cellules souches embryonnaires (CSE), de par leurs propriétés uniques d'auto-renouvellement illimité in vitro, à l'état indifférencié, et de pluripotence, représentent une source cellulaire prometteuse pour de nombreuses applications en recherche fondamentale, thérapeutique, et en ingénierie tissulaire. Leur capacité à se différencier en cellules épithéliales de voies aériennes a été peu décrite. Il a été démontré que les CSE murines ont la capacité de générer un épithélium fonctionnel, composé de cellules basales, ciliées, intermédiaires et de Clara, similaire à un épithélium trachéobronchique murin natif lorsqu'elles sont cultivées en interface air-liquide [125]. En 2009, l'équipe de De Rycke a rapporté l'obtention de différents types de cellules épithéliales des voies aériennes et des alvéoles à partir de CSE humaines [126]. Enfin, en s'inspirant du développement embryonnaire pulmonaire humain afin de mettre au point une méthode récapitulant les processus séquentiel qui vont restreindre séquentiellement les cellules progénitrices de l'endoderme en lignages cellulaires spécifiques des voies aériennes proximales, une étude très récente a proposé un protocole complexe permettant la différenciation de cellules épithéliales de voies aériennes et la possibilité de reconstitution d'épithélium in vitro à partir des CSE humaines [127].

- Les cellules basales peuvent être considérées comme les cellules progénitrices de l'épithélium des voies aériennes humaines.

Conclusion

Le développement de modèles originaux in vivo et in vitro a permis une nette avancée dans la compréhension des mécanismes de la régénération de l'épithélium respiratoire, tout en soulignant leur complexité. Ils ont également permis l'étude du rôle de différents stimuli pro-inflammatoires [104,128] et de l'action de molécules à visée thérapeutique dans les pathologies inflammatoires bronchiques [129,130] ou la mucoviscidose [131]. L'identification et la caractérisation des cellules progénitrices/souches de l'épithélium des voies aériennes restent actuellement l'objet de nombreux travaux. Différentes approches ont été proposées, avec pour objectif final commun la mise au point de thérapies cellulaires et pro-régénératrices pour les pathologies pulmonaires. Cependant, malgré des avancées importantes dans le domaine, la compréhension complète des mécanismes de la régénération de l'épithélium des voies aériennes est loin d'être acquise.

POINTS ESSENTIELS

- La régénération épithéliale bronchique est un processus physiologique de maintien de l'intégrité des bronches mais peut être responsable de remodelage bronchique dans des conditions pathologiques.
- Le processus de régénération épithéliale comporte quatre étapes : étalement, migration, prolifération et différenciation cellulaire.
- De nombreux facteurs interviennent dans la régénération épithéliale bronchique : composants de la matrice extracellulaire, protéases, facteurs de croissance et cytokines.

Déclaration d'intérêts

Les auteurs déclarent ne pas avoir de conflits d'intérêts en relation avec cet article.

Références

- [1] Jeffery PK. Comparison of the structural and inflammatory features of COPD and asthma. Giles F. Filley lecture. *Chest* 2000;117:251S–60S.
- [2] Thompson AB, Robbins RA, Romberger DJ, et al. Immunological functions of the pulmonary epithelium. *Eur Respir J* 1995;8:127–49.
- [3] Jeffery PK. Morphologic features of airway surface epithelial cells and glands. *Am Rev Respir Dis* 1983;128:S14–20.
- [4] Winkelmann A, Noack T. The Clara cell: a "Third Reich eponym"? *Eur Respir J* 2010;36:722–7.
- [5] Plopper CG, Mariassy AT, Wilson DW, et al. Comparison of nonciliated tracheal epithelial cells in six mammalian species: ultrastructure and population densities. *Exp Lung Res* 1983;5:281–94.
- [6] Antunes MB, Cohen NA. Mucociliary clearance – a critical upper airway host defense mechanism and methods of assessment. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2007;7:5–10.
- [7] Button B, Cai LH, Ehre C, et al. A periciliary brush promotes the lung health by separating the mucus layer from airway epithelia. *Science* 2012;337:937–41.
- [8] Knowles MR, Boucher RC. Mucus clearance as a primary innate defense mechanism for mammalian airways. *J Clin Invest* 2002;109:571–7.
- [9] Lamblin G, Aubert JP, Perini JM, et al. Human respiratory mucins. *Eur Respir J* 1992;5:247–56.
- [10] Schutte BC, McCray Jr PB. β -defensins in lung host defense. *Annu Rev Physiol* 2002;64:709–48.
- [11] Bals R, Wang X, Zasloff M, et al. The peptide antibiotic LL-37/hCAP-18 is expressed in epithelia of the human lung where it has broad antimicrobial activity at the airway surface. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:9541–6.
- [12] Travis SM, Singh PK, Welsh MJ. Antimicrobial peptides and proteins in the innate defense of the airway surface. *Curr Opin Immunol* 2001;13:89–95.
- [13] Ganz T. Antimicrobial proteins and peptides in host defense. *Semin Respir Infect* 2001;16:4–10.
- [14] Bals R, Hiemstra PS. Innate immunity in the lung: how epithelial cells fight against respiratory pathogens. *Eur Respir J* 2004;23:327–33.
- [15] Wijkstrom-Frei C, El-Chemaly S, Ali-Rachedi R, et al. Lactoperoxidase and human airway host defense. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2003;29:206–12.
- [16] Forteza R, Salathe M, Miot F, et al. Regulated hydrogen peroxide production by Duox in human airway epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2005;32:462–9.
- [17] Pilette C, Ouadrhiri Y, Godding V, et al. Lung mucosal immunity: immunoglobulin-A revisited. *Eur Respir J* 2001;18:571–88.
- [18] Crouch EC. Collectins and pulmonary host defense. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1998;19:177–201.
- [19] Hawgood S, Brown C, Edmondson J, et al. Pulmonary collectins modulate strain-specific influenza A virus infection and host responses. *J Virol* 2004;78:8565–72.
- [20] Mukherjee AB, Kundu GC, Mantile-Selvaggi G, et al. Uteroglob: a novel cytokine? *Cell Mol Life Sci* 1999;55:771–87.
- [21] Parks WC, López-Boado YS, Wilson CL. Matrilysin in epithelial repair and defense. *Chest* 2001;120:365–415.
- [22] Jeffery PK. Remodeling in asthma and chronic obstructive lung disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:S28–38.
- [23] Djukanovic R, Roche WR, Wilson JW, et al. Mucosal inflammation in asthma. *Am Rev Respir Dis* 1990;142:434–57.
- [24] Voynow JA, Fischer BM, Roberts BC, et al. Basal-like cells constitute the proliferating cell population in cystic fibrosis airways. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;172:1013–8.
- [25] Trinh NTN, Bardou O, Privé A, et al. Improvement of defective cystic fibrosis airway epithelial wound repair after CFTR rescue. *Eur Respir J* 2012;40:1390–400.
- [26] Hubeau C, Lorenzato M, Couetil JP, et al. Quantitative analysis of inflammatory cells infiltrating the cystic fibrosis airway mucosa. *Clin Exp Immunol* 2001;124:69–76.
- [27] Cosio M, Ghezzi H, Hogg JC, et al. The relations between structural changes in small airways and pulmonary-function tests. *N Engl J Med* 1978;298:1277–81.
- [28] Araya J, Cambier S, Markovics JA, et al. Squamous metaplasia amplifies pathologic epithelial-mesenchymal interactions in COPD patients. *J Clin Invest* 2007;117:3551–62.
- [29] Leigh MW, Kylander JE, Yankaskas JR, et al. Cell proliferation in bronchial epithelium and submucosal glands of cystic fibrosis patients. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1995;12:605–12.
- [30] Piorunek T, Marszalek A, Biczysko W, et al. Correlation between the stage of cystic fibrosis and the level of morphological changes in adult patients. *J Physiol Pharmacol* 2008;59:565–72.
- [31] Fahy JV. Remodeling of the airway epithelium in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:S46–51.
- [32] Jeffery PK. Histological features of the airways in asthma and COPD. *Respiration* 1992;59:13–6.
- [33] Saetta M, Turato G, Baraldo S, et al. Goblet cell hyperplasia and epithelial inflammation in peripheral airways of smokers with both symptoms of chronic bronchitis and chronic airflow limitation. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:1016–21.
- [34] Kim V, Kelemen SE, Abuel-Haija M, et al. Small airway mucosa metaplasia and inflammation in chronic obstructive pulmonary disease. *COPD* 2008;5:329–38.
- [35] Vignola AM, Gagliardo R, Siena A, et al. Airway remodeling in the pathogenesis of asthma. *Curr Allergy Asthma Rep* 2001;1:108–15.
- [36] Sturgess J. Morphological characteristics of the bronchial mucosa in cystic fibrosis. In: Quinton P, Martinez JR, Hopfer U, editors. Fluid and electrolyte abnormalities in exocrine glands in cystic fibrosis. San Francisco: San Francisco Press, Inc.; 1982. p. 254–70.
- [37] Welsh MJ, Smith AE. Cystic fibrosis. *Sci Am* 1995;273:52–9.
- [38] Oppenheimer EH, Esterly JR. Pathology of cystic fibrosis review of the literature and comparison with 146 autopsied cases. *Perspect Pediatr Pathol* 1975;2:241–78.

- [39] Liesker JJ, Ten Hacken NH, Zeinstra-Smith M, et al. Reticular basement membrane in asthma and COPD: similar thickness, yet different composition. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2009;4:127–35.
- [40] Lapperre TS, Sont JK, van Schadewijk A, et al. Smoking cessation and bronchial epithelial remodelling in COPD: a cross-sectional study. *Respir Res* 2007;26:85.
- [41] Vachier I, Vignola AM, Chiappara G, et al. Inflammatory features of nasal mucosa in smokers with and without COPD. *Thorax* 2004;59:303–7.
- [42] Chiappara G, Gjomarkaj M, Virzi A, et al. The role of p21 Waf1/Cip1 in large airway epithelium in smokers with and without COPD. *Biochim Biophys Acta* 2013;1832:1473–81.
- [43] Durieu I, Peyrol S, Gindre D, et al. Subepithelial fibrosis and degradation of the bronchial extracellular matrix in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158:580–8.
- [44] Hilliards TN, Regamey N, Shute JK, et al. Airway remodelling in children with cystic fibrosis. *Thorax* 2007;62:1074–80.
- [45] Tiddens HAWM, Koopman LP, Lambert RK, et al. Cartilaginous airway wall dimensions and airway resistance in cystic fibrosis lungs. *Eur Respir J* 2000;15:735–42.
- [46] Man SPF, Hulbert WC. Airway repair and adaptation to inhalation injury. In: Loke J, editor. *Pathophysiology and treatment of inhalation injuries. Lung biology in health and diseases*. New York: Marcel Dekker; 1998. p. 1–47.
- [47] McNulty RJ. Models and approaches to understand the role of airway remodelling in disease. *Pulm Pharmacol Ther* 2011;24:478–86.
- [48] Hajj R, Lesimple P, Nawrocki-Raby B, et al. Human airway surface epithelial regeneration is delayed and abnormal in cystic fibrosis. *J Pathol* 2007;211:340–50.
- [49] Kim V, Criner GJ. Chronic bronchitis and chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2013;187:228–37.
- [50] Baraldo S, Turato G, Bazzan E, et al. Noneosinophilic asthma in children: relation with airway remodelling. *Eur Respir J* 2011;38:575–83.
- [51] Chung A, Tai H, Coulthard T, et al. Cigarette smoke drives small airway remodeling by induction of growth factors in the airway wall. *Am J Respir Crit Care Med* 2006;174:1327–34.
- [52] Davies DE. The role of the epithelium in airway remodeling in asthma. *Proc Am Thorac Soc* 2009;6:678–82.
- [53] Dupuit F, Gaillard D, Hinnrasky J, et al. Differentiated and functional human airway epithelium regeneration in tracheal xenografts. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000;278:165–76.
- [54] Coraux C, Hajj R, Lesimple P, et al. Repair and regeneration of the airway epithelium. *Med Sci (Paris)* 2005;21:1063–9.
- [55] Hajj R, Baranek T, Le Naour R, et al. Basal cells of the human adult airway surface epithelium retain transit-amplifying cell properties. *Stem Cells* 2007;25:139–48.
- [56] Erjefält JS, Erjefält I, Sundler F, et al. In vivo restitution of airway epithelium. *Cell Tissue Res* 1995;281:305–16.
- [57] Erjefält JS, Sundler F, Persson CG. Epithelial barrier formation by airway basal cells. *Thorax* 1997;52:213–7.
- [58] Blatt EN, Yan XH, Wuerffel MK, et al. Forkhead transcription factor HFH-4 expression is temporally related to ciliogenesis. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999;21:168–76.
- [59] Boisvieux-Ulrich E, Lainé MC, Sandoz D. Cytochalasin D inhibits basal body migration and ciliary elongation in quail oviduct epithelium. *Cell Tissue Res* 1990;259:443–54.
- [60] Huang T, You Y, Spoor MS, et al. Foxj1 is required for apical localization of ezrin in airway epithelial cells. *J Cell Sci* 2003;116:4935–45.
- [61] Pan J, You Y, Huang T, et al. RhoA-mediated apical actin enrichment is required for ciliogenesis and promoted by Foxj1. *J Cell Sci* 2007;120:1868–76.
- [62] Gomperts BN, Gong-Cooper X, Hackett BP. Foxj1 regulates basal body anchoring to the cytoskeleton of ciliated pulmonary epithelial cells. *J Cell Sci* 2004;117:1329–37.
- [63] Hoyer-Fender S. Centriole maturation and transformation to basal body. *Semin Cell Dev Biol* 2010;21:142–7.
- [64] Jain R, Pan J, Driscoll JA, et al. Temporal relationship between primary and motile ciliogenesis in airway epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2010;43:731–9.
- [65] Carson JL, Collier AM, Gambling TM, et al. An autoradiographic assessment of epithelial cell proliferation and post-natal maturation of the tracheal epithelium in infant ferrets. *Anat Rec* 1999;256:242–51.
- [66] Voter KZ, Leigh MW, Boat TF, et al. Development of mucociliary transport in the postnatal ferret trachea. *J Appl Physiol* 1992;73:1500–3.
- [67] Snyder JC, Zemke AC, Stripp BR. Reparative capacity of airway epithelium impacts deposition and remodeling of extracellular matrix. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2009;40:633–42.
- [68] Kim JS, McKinnis VS, Adams K, et al. Proliferation and repair of guinea pig tracheal epithelium after neuropeptide depletion and injury in vivo. *Am J Physiol* 1997;273:1235–41.
- [69] Escotte S, Catusse C, Coraux C, et al. Reconstitution of human airway tissue in the humanized xenograft model. *J Cyst Fibrosis* 2004;52:63–5.
- [70] Coraux C, Martinella-Catusse C, Nawrocki-Raby B, et al. Differential expression of matrix metalloproteinases and interleukin-8 during regeneration of human airway epithelium in vivo. *J Pathol* 2005;206:160–9.
- [71] Zahm JM, Chevillard M, Puchelle E. Wound repair of human surface respiratory epithelium. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1991;5:242–8.
- [72] Zahm JM, Kaplan H, Hérard AL, et al. Cell migration and proliferation during the in vitro wound repair of the respiratory epithelium. *Cell Motil Cytoskeleton* 1997;37:33–43.
- [73] Hérard AL, Zahm JM, Pierrot D, et al. Epithelial barrier integrity during in vitro wound repair of the airway epithelium. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1996;15:624–32.
- [74] Dorscheid DR, Wojcik KR, Yule K, et al. Role of cell surface glycosylation in mediating repair of human airway epithelial cell monolayers. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001;281:982–92.
- [75] De Jong PM, van Sterkenburg MA, Hesseling SC, et al. Ciliogenesis in human bronchial epithelial cells cultured at the air-liquid interface. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1994;10:271–7.
- [76] Castillon N, Hinnrasky J, Zahm JM, et al. Polarized expression of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator and associated epithelial proteins during the regeneration of human airway surface epithelium in three-dimensional culture. *Lab Invest* 2002;82:989–98.
- [77] Hérard AL, Pierrot D, Hinnrasky J, et al. Fibronectin and its alpha 5 beta 1-integrin receptor are involved in the wound repair process of airway epithelium. *Am J Physiol* 1996;271:726–33.
- [78] Noah TL, Paradiso AM, Madden MC, et al. The response of a human bronchial epithelial cell line to histamine: intracellular calcium changes and extracellular release of inflammatory mediators. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1991;5:484–92.
- [79] Romberger DJ, Beckmann JD, Claassen L, et al. Modulation of fibronectin production of bovine bronchial epithelial cells by transforming growth factor-beta. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1992;7:149–55.
- [80] Toupance S, Brassart B, Rabenoelina F, et al. Elastin-derived peptides increase invasive capacities of lung cancer cells by post-transcriptional regulation of MMP-2 and uPA. *Clin Exp Metastasis* 2012;29:511–22.

- [81] Polette M, Birembaut P. Membrane type metalloproteinases in tumor invasion. *Int J Biochem Cell Biol* 1998;30:1195–202.
- [82] Buisson AC, Zahm JM, Polette M, et al. is involved in the in vitro wound repair of human respiratory epithelium. *J Cell Physiol* 1996;166:413–26.
- [83] Legrand C, Gilles C, Zahm JM, et al. Airway epithelial cell migration dynamics. MMP-9 role in cell-extracellular matrix remodeling. *J Cell Biol* 1999;146:517–29.
- [84] Buisson AC, Gilles C, Polette M, et al. Wound repair-induced expression of a stromelysins is associated with the acquisition of a mesenchymal phenotype in human respiratory epithelial cells. *Lab Invest* 1996;74:658–69.
- [85] Chen P, McGuire JK, Hackman RC, et al. Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 moderates airway re-epithelialization by regulating matrilysin activity. *Am J Pathol* 2008;172:1256–70.
- [86] Dunsmore SE, Saarialho-Kere UK, Roby JD, et al. Matrilysin expression and function in airway epithelium. *J Clin Invest* 1998;102:1321–31.
- [87] Atkinson JJ, Toennies HM, Holmbeck K, et al. Membrane type 1 matrix metalloproteinase is necessary for distal airway epithelial repair and keratinocyte growth factor receptor expression after acute injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2007;293:600–10.
- [88] Stewart CE, Nijmeh HS, Brightling CE, et al. uPAR regulates bronchial epithelial repair in vitro and is elevated in asthmatic epithelium. *Thorax* 2012;67:477–87.
- [89] Puddicombe SM, Polosa R, Richter A, et al. Involvement of the epidermal growth factor receptor in epithelial repair in asthma. *FASEB J* 2000;14:1362–74.
- [90] Zahm JM, Pierrot D, Puchelle E. Epidermal growth factor promotes wound repair of human respiratory epithelium. *Wound Repair Regen* 1993;1:175–80.
- [91] Schnackenberg BJ, Jones SM, Pate C, et al. The beta-agonist isoproterenol attenuates EGF-stimulated wound closure in human airway epithelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2006;290:485–91.
- [92] White SR, Dorscheid DR, Rabe KF, et al. Role of very late adhesion integrins in mediating repair of human airway epithelial cell monolayers after mechanical injury. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999;20:787–96.
- [93] Barrow RE, Wang CZ, Evans MJ, et al. Growth factors accelerate epithelial repair in sheep trachea. *Lung* 1993;171:335–44.
- [94] Trinh NTN, Privé A, Kheir L, et al. Involvement of KATP and KvLQT1 K⁺ channels in EGF-stimulated alveolar epithelial cell repair processes. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2007;293:870–82.
- [95] Trinh NTN, Privé A, Maillé E, et al. EGF and K⁺ channel activity control normal and cystic fibrosis bronchial epithelia repair. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2008;295:866–80.
- [96] Chwieralski CE, Schnurra I, Thim L, et al. Epidermal growth factor and trefoil factor family 2 synergistically trigger chemotaxis on BEAS-2B cells via different signaling cascades. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2004;31:528–37.
- [97] LeSimple P, van Seuninghen I, Buisine MP, et al. Trefoil factor family 3 peptide promotes human airway epithelial ciliated cell differentiation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2007;36:296–303.
- [98] Zahm JM, Debordeaux C, Raby B, et al. Motogenic effect of recombinant HGF on airway epithelial cells during the in vitro wound repair of the respiratory epithelium. *J Cell Physiol* 2000;185:447–53.
- [99] Waters CM, Savla U. Keratinocyte growth factor accelerates wound closure in airway epithelium during cyclic mechanical strain. *J Cell Physiol* 1999;181:424–32.
- [100] Hicks Jr W, Hall 3rd LA. Interleukin-1 facilitates airway epithelial migration in response to injury. *Laryngoscope* 2003;113:243–7.
- [101] Shen BQ, Panos RJ, Hansen-Guzmán K, et al. Hepatocyte growth factor stimulates the differentiation of human tracheal epithelia in vitro. *Am J Physiol* 1997;272:1115–20.
- [102] Clark AB, Randell SH, Nettesheim P, et al. Regulation of ciliated cell differentiation in cultures of rat tracheal epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1995;12:329–38.
- [103] Burgel PR, Nadel JA. Roles of epidermal growth factor receptor activation in epithelial cell repair and mucin production in airway epithelium. *Thorax* 2004;59:992–6.
- [104] Laoukili J, Perret E, Willems T, et al. IL-13 alters mucociliary differentiation and ciliary beating of human respiratory epithelial cells. *J Clin Invest* 2001;108:1817–24.
- [105] Aarbiou J, Verhoosel RM, Van Wetering S, et al. Neutrophil defensins enhance lung epithelial wound closure and mucin gene expression in vitro. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2004;30:193–201.
- [106] Sonar SS, Schwinge D, Kilic A, et al. Nerve growth factor enhances Clara cell proliferation after lung injury. *Eur Respir J* 2010;36:105–15.
- [107] Maille E, Trinh NTN, Prive A, et al. Regulation of normal and cystic fibrosis airway epithelial repair processes by TNF α after injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2011;301:945–55.
- [108] Borthwick LA, McIlroy EI, Gorowiec MR, et al. Inflammation and epithelial to mesenchymal transition in lung transplant recipients: role in dysregulated epithelial wound repair. *Am J Transplant* 2010;10:498–509.
- [109] Lazard DS, Moore A, Hupertan V, et al. Mucociliary differentiation of nasal epithelial cells is decreased after wound healing in vitro. *Allergy* 2009;64:1136–43.
- [110] Ito J, Harada N, Nagashima O, et al. Wound-induced TGF- β 1 and TGF- β 2 enhance airway epithelial repair via HB-EGF and TGF- α . *Biochem Biophys Res Commun* 2011;412:109–14.
- [111] Smith A. A glossary for stem-cell biology. *Nature* 2006;441:1060.
- [112] Lajtha LG. Stem-cell concepts. *Differentiation* 1979;14:23–34.
- [113] Zepeda ML, Chinoy MR, Wilson JM. Characterization of stem-cells in human airway capable of reconstituting a fully differentiated bronchial epithelium. *Somat Cell Mol Genet* 1995;21:61–73.
- [114] Borthwick DW, Shahbazian M, Krantz QT, et al. Evidence for stem-cell niches in the tracheal epithelium. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001;24:662–70.
- [115] Hong KU, Reynolds SD, Giangreco A, et al. Clara cell secretory protein-expressing cells of the airway neuroepithelial body microenvironment include a label-retaining subset and are critical for epithelial renewal after progenitor cell depletion. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001;24:671–81.
- [116] Giangreco A, Reynolds SD, Stripp BR. Terminal bronchioles harbor a unique airway stem-cell population that localizes to the bronchoalveolar duct junction. *Am J Pathol* 2002;161:173–82.
- [117] Kim CF, Jackson EL, Woolfenden AE, et al. Identification of bronchioalveolar stem-cells in normal lung and lung cancer. *Cell* 2005;121:823–35.
- [118] Reddy R, Buckley S, Doerken M, et al. Isolation of a putative progenitor subpopulation of alveolar epithelial type 2 cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004;286:L658–67.
- [119] Reynolds SD, Shen H, Reynolds PR, et al. Molecular and functional properties of lung SP cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2007;292:L972–83.
- [120] Liu X, Engelhardt JF. The glandular stem/progenitor cell niche in airway development and repair. *Proc Am Thorac Soc* 2008;5:682–8.

- [121] Rock JR, Randell SH, Hogan BLM. Airway basal cells: a perspective on their roles in epithelial homeostasis and remodelling. *Dis Model Mech* 2010;3: 545–56.
- [122] Rock JR, Onaitis MW, Rawlins EL, et al. Basal cells as stem-cells of the mouse trachea and human airway epithelium. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106:12771–5.
- [123] Avril-Delplanque A, Casal I, Castillon N, et al. Aquaporin-3 expression in human fetal airway epithelial progenitor cells. *Stem Cells* 2005;23:992–1001.
- [124] Kajstura J, Rota M, Hall SR, et al. Evidence for human lung stem-cells. *N Engl J Med* 2011;364:1795–806.
- [125] Coraux C, Nawrocki-Raby B, Hinnrasky J, et al. Embryonic stem-cells generate airway epithelial tissue. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2005;32:87–92.
- [126] Van Haute L, De Block G, Liebaers I, et al. Generation of lung epithelial-like tissue from human embryonic stem-cells. *Respir Res* 2009;10:105.
- [127] Wong AP, Bear CE, Chin S, et al. Directed differentiation of human pluripotent stem-cells into mature airway epithelia expressing functional CFTR protein. *Nat Biotechnol* 2012;30:876–82.
- [128] Koff JL, Shao MX, Kim S, et al. Pseudomonas lipopolysaccharide accelerates wound repair via activation of a novel epithelial cell signaling cascade. *J Immunol* 2006;177:8693–700.
- [129] Zahm JM, Delavoie F, Toumi F, et al. Long acting beta2-agonist and corticosteroid restore airway glandular cell function altered by bacterial supernatant. *Respir Res* 2010;11:6.
- [130] Zahm JM, Milliot M, Bresin A, et al. The effect of hyaluronan on airway mucus transport and airway epithelial barrier integrity: potential application to the cytoprotection of airway tissue. *Matrix Biol* 2011;30:389–95.
- [131] Van Goor F, Hadida S, Grootenhuis PD, et al. Rescue of CF airway epithelial cell function in vitro by a CFTR potentiator, VX-770. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106:18825–30.