



Association des Alumni et Amis de l'APHP
18 Avril 2019



Cellules Souches: leur utilisation pour les blessures de guerre

*Médecin Chef des Services LATAILLADE Jean-Jacques
Pr. Agrégé du Val de Grâce*

*Direction de la Formation, de la Recherche et de l'Innovation du SSA
Délégué à l'Innovation*

jean-jacques.lataillade@intradef.gouv.fr

Des Cellules Souches pour tous les âges

Personne âgée



Adulte



Enfant



Nouveau né

Fœtus



Embryon

CS **totipotentes** puis **pluripotentes**
De l'œuf fécondé à l'embryon

CS « **adultes multipotentes** »
Chez le fœtus et le nouveau-né

Dans chaque tissu, les CS **multipotentes** servent à remplacer les cellules qui meurent et à réparer une lésion pour assurer son bon fonctionnement

Cellules Souches Mésoenchymateuses: CS adultes multipotentes



Prolifération



Différenciation



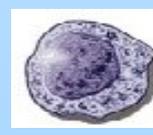
Chondrocytes



Ostéocytes



Myotubes



Stroma

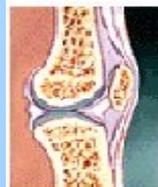


Fibroblastes



Cellule Endo

Maturation



Cartilage



Os



Muscle



Moelle



Tendon

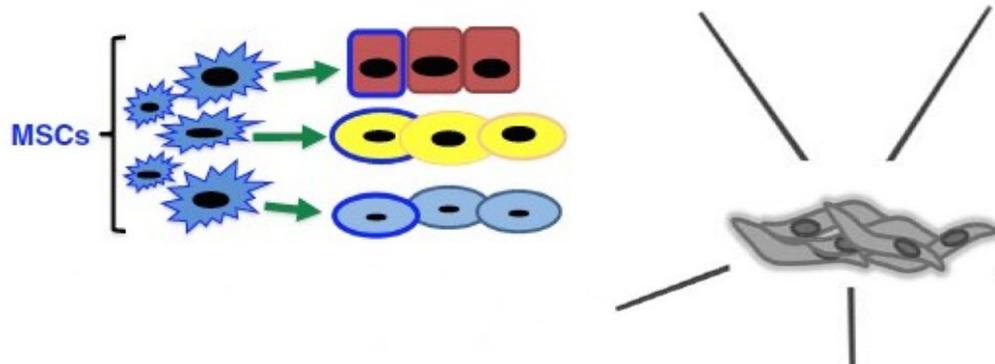


Endothélium

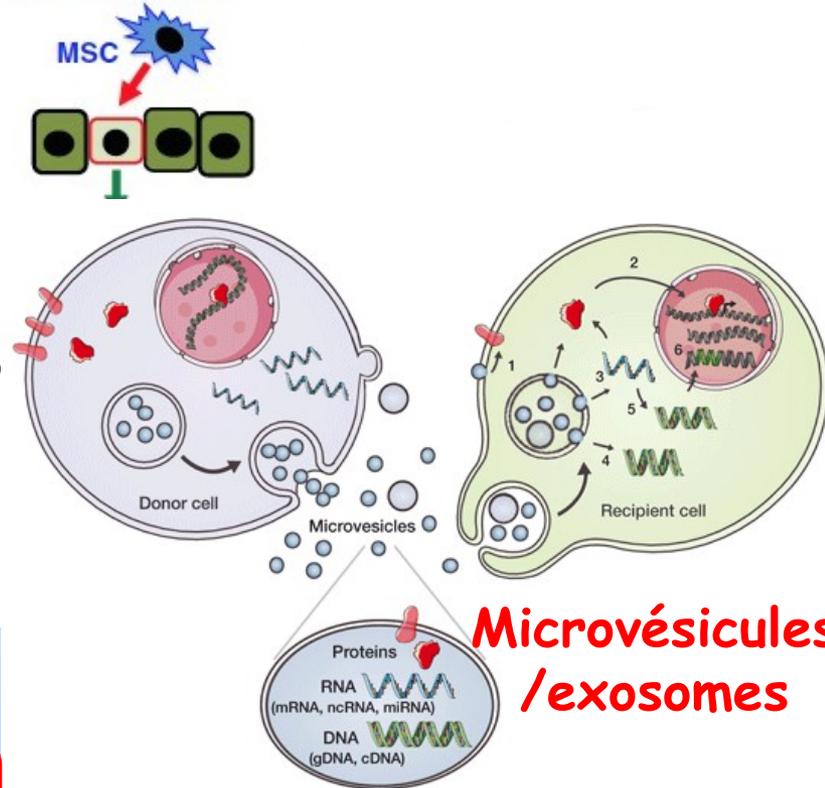
Cellules Stromales Mésoenchymateuses

Différenciation

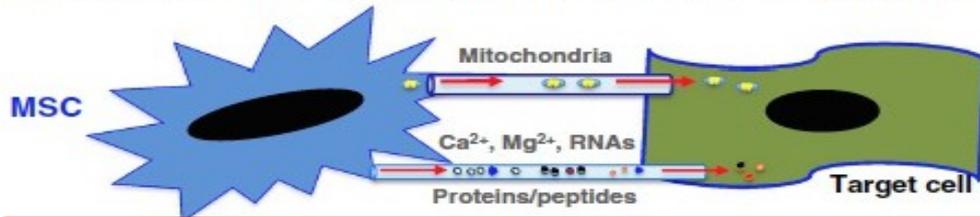
a. Differentiation of MSCs to replace cells.



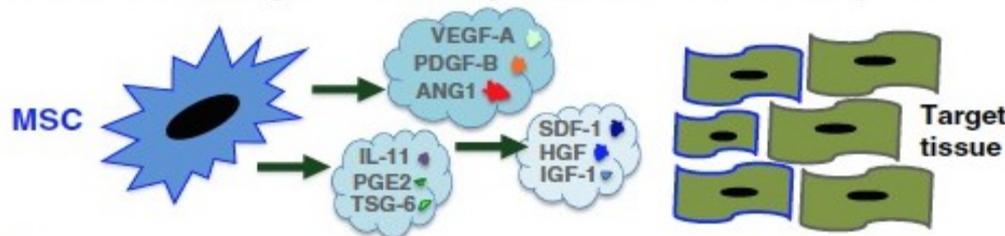
b. MSC/cell fusion.



d. MSC-mediated transfer of organelles and/or molecules by TNTs.



c. Paracrine activity of MSCs that promotes tissue rescue/repair.



Immunomodulation

Angiogenesis

Anti-apoptosis

Anti-oxidation

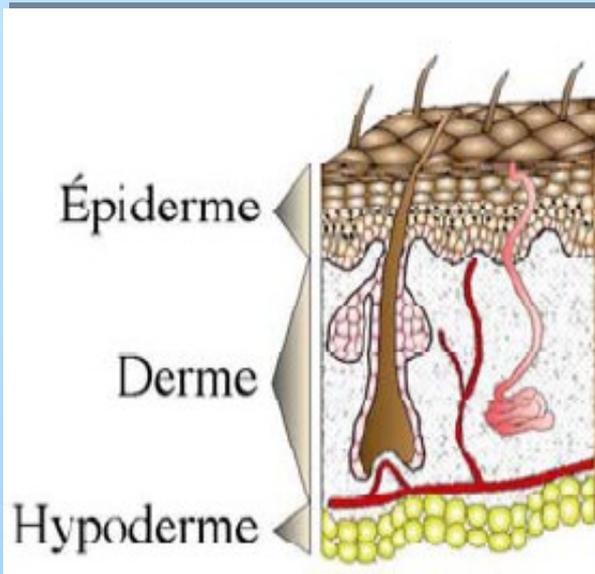
Cell migration & stimulation

Paracrinie

Arteriogenesis

From Liang. *Cell Transplantation* 2013
and Spees et al. *Stem Cell Research & Therapy* 2016

Différentes sources de CSM



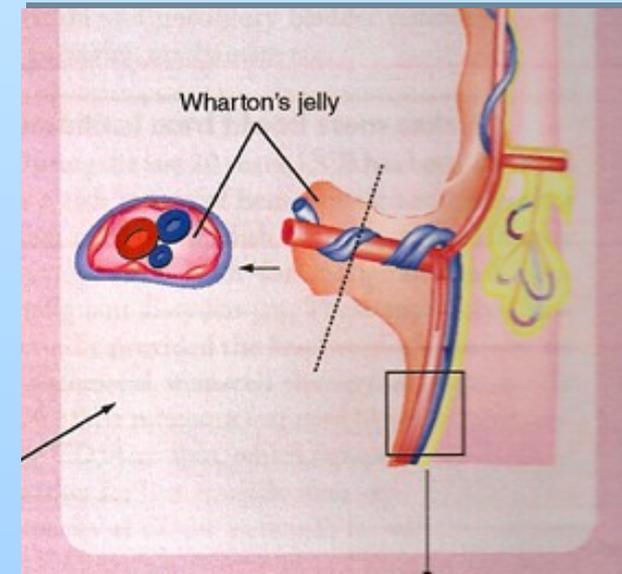
Peau

(Tissu adipeux)



Os

(Niche endostéale)



Tissus Fœtaux

(Gelée de Wharton, chorion, amnios)

Cellules Souches = Cellules Rares qui doivent être amplifiées en culture pour une utilisation thérapeutique

- Cytokines recombinantes
- Plaquettes
- Technologie des « Bioréacteurs »
- Salles blanches agréées par l'ANSM

Expansion des CSM par des facteurs de croissance plaquettaires (remplace le SVF)

J-J Lataillade et coll., J. Cell Physiol. 2005

Evolutions Réglementaires

Des produits de Thérapie Cellulaire vers les Médicaments de Thérapie Innovante (MTI)



1394/2007

- **Regulation (EC) No 1394/2007** of the European Parliament And of the Council of 13 November 2007 on advanced therapy medicinal products (**ATMPs**) and amending Directive 2001/83/EC and Regulation (EC) No 726/2004
- **MTI :**
 - des cellules qui ont fait l'objet d'une **manipulation substantielle** pour en modifier les caractéristiques biologiques ou fonctionnelles ou des cellules qui **ne sont pas** destinés à être **utilisées pour les mêmes fonctions** essentielles chez le receveur et le donneur.

Et

Qui possèdent des **propriétés permettant de traiter, prévenir ou diagnostiquer une maladie**

Prérequis pour une autorisation à produire des MTI

- **Preuve de sécurité et efficacité chez petit et gros animal:** Recherche amont solide
- **Définir la substance active:**
Suspension pure de CSM
- **L'Unité de production doit être agréée par l'ANSM et établissement pharmaceutique (classe A dans B)**
- **Procédé de production selon les BPF des médicaments**
- **Obtention d'une AMM:**
Comprend la mise en place d'un système de pharmacovigilance, management du risque, traçabilité...

Production de CSM de grade thérapeutique

1) Prélèvement de moelle (40 mL)



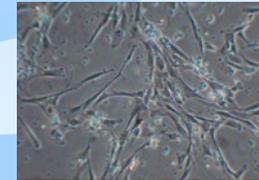
Safe closed system



2) Production de CSM

Unité de production MTI
(CTSA-Hôpital Percy)

3) Culture de CSM



4) contrôles de qualité
(Sterilité, Phénotype,
CFU-F, Numération, karyotype,
test fonctionnel)

21 jours

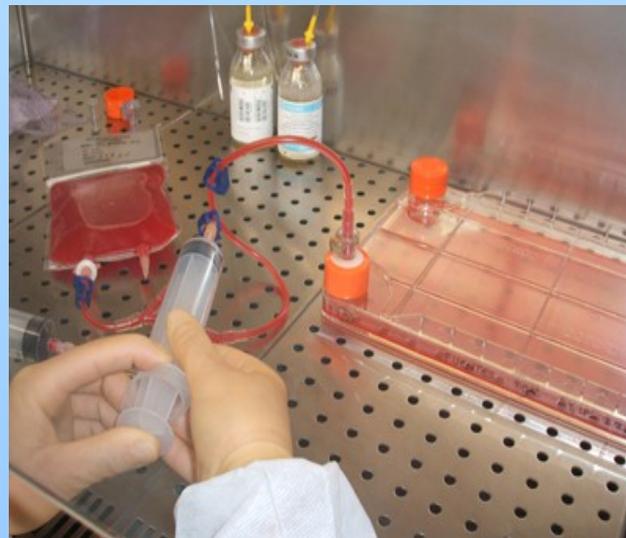


5) Injection de CSM



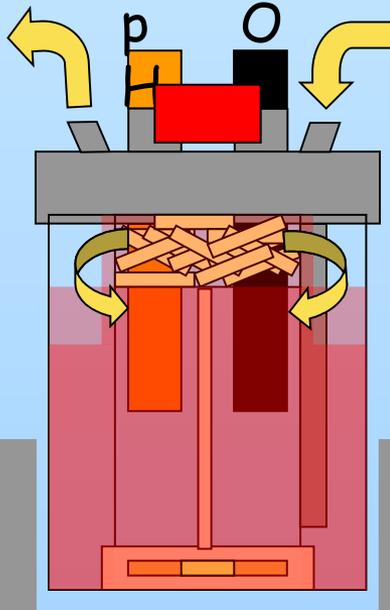
AMM MTI-PP
Octobre 2015
et Septembre
2018

Isolement et Mise en culture des CSM de Moelle



Bioréacteurs de culture: vers une standardisation industrielle/pharmaceutique

Gaz,
milieu de
culture
épuisé



O^2 , CO^2 , N^2 ,
NaOH,
Milieu de
culture frais,
cellules

Système thermostaté: $37^{\circ}C$



Applications cliniques: 750 essais en 2017

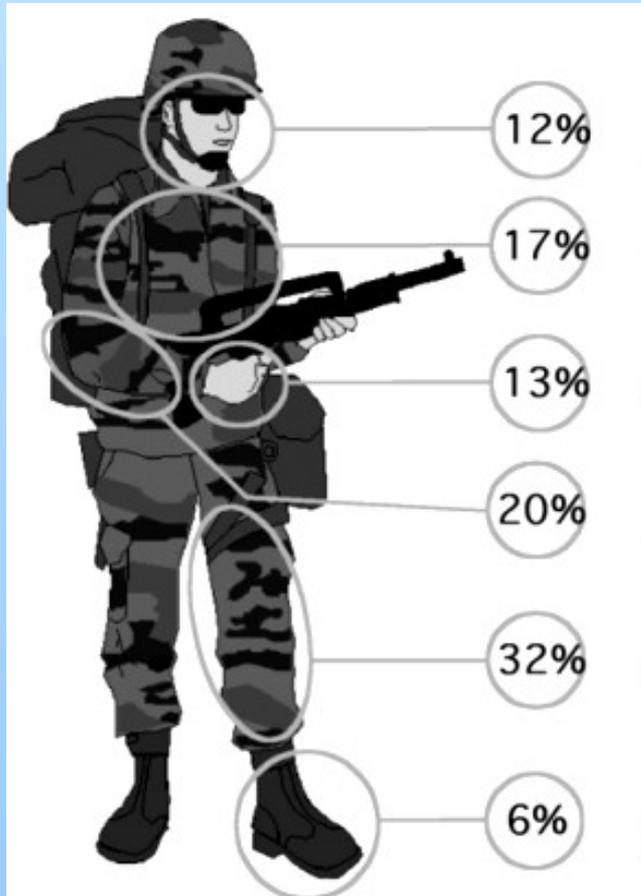
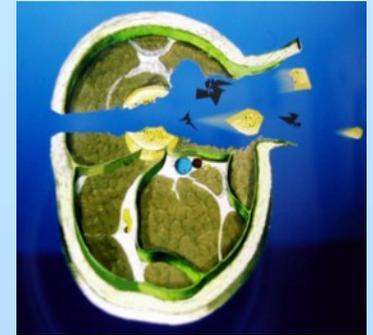
TABLE 1. Current status and enrollment of MSC clinical trials*

Targeted condition	Phases, number of studies [targeted enrollment]				
	I	II	III	IV/III	III
Bone/cartilage disorders					
Bone cysts	1 [6]	1 [10]			
Bone neoplasms					
Cartilage defect	1 [50]	2 [38]		1 [100]	1 [50]
Degenerative osteoarthritis		2 [30]			1 [25]
Distraction osteogenesis	1 [6]				
Fractures	2 [16]	1 [24]		1 [40]	
Ligament injury		1 [24]		1 [10]	
Meniscectomy		2 [110]			
Osteoarthritis	5 [42]	2 [45]		4 [222]	1 [104]
Osteodysplasia	1 [8]				
Osteogenesis imperfecta	1 [9]				
Osteonecrosis	1 [21]	2 [39]		1 [10]	
Osteoporosis				1 [290]	
Pseudoarthrosis				1 [50]	
Spinal fusion		1 [62]			
Hematologic disorders					
Aplastic anemia		2 [30]		1 [30]	
BLT	1 [125]	3 [40]		3 [125]	
GVHD	2 [59]	6 [130]		6 [288]	1 [100] 1 [240]
Myelodysplastic syndrome				1 [30]	
Diabetes					
Type 1	1 [24]	5 [168]		1 [60]	1 [80]
Type 2	1 [24]	3 [170]			
Liver diseases					
Autoimmune hepatitis		1 [100]			
Cirrhosis	3 [29]	7 [715]		5 [268]	
Hypercholesterolemia	1 [1]				
Liver failure		2 [228]		1 [120]	
Liver transplant		1 [40]		1 [60]	
Primary biliary cirrhosis		1 [100]			
Cardiovascular diseases					
Dilated cardiomyopathy		2 [66]		2 [80]	
Heart failure		3 [172]		4 [160]	
Myocardial infarction	1 [59]	2 [45]		2 [390]	1 [80] 2 [165]
Myocardial ischemia	2 [144]	3 [89]		1 [60]	
Gastrointestinal diseases					
Crohn's disease		3 [56]		1 [10]	4 [896]
Fistula in ano		1 [10]		1 [40]	
Ulcerative colitis		1 [50]			
Romberg's disease				1 [5]	
Spinal cord injury	4 [53]	2 [100]		2 [90]	1 [32]
Stroke	1 [30]	3 [209]		3 [100]	
Muscular dystrophy		1 [15]			
Neomyogenesis		1 [30]			

Ostéogénèse imparfaite

Réparation des blessures de guerre

Projectiles et engins explosifs



71% des blessures de guerre concernent les membres
(grave traumatisme avec fracture osseuse; brûlure; etc)

Trois tissus concernés par l'atteinte des membres:

- **Os**
- **Muscle**
- **Peau**

- **+ Blast**



Crédit photo: Prof. S. Rigal; Dr. P. Lainé (HIA Percy)

Après les attentats du 13 novembre 2015 ... tout le monde est concerné !!

M Police et justice

SOCIÉTÉ POLICE ET JUSTICE Antiterrorisme Faits divers Justice Police Prisons Procès

A l'hôpital Lariboisière, « c'était de la chirurgie de guerre »

Le Monde.fr | 14.11.2015 à 14h52 • Mis à jour le 14.11.2015 à 22h44 |

Professeur Sylvain Rigal : "De véritables blessures de guerre !"

Le chef du service d'orthopédie-traumatologie de l'hôpital militaire Percy raconte comment on accueille et soigne des blessés de guerre.

PAR JÉRÔME VINCENT

Publié le 15/11/2015 à 12:34 - Modifié le 15/11/2015 à 14:22 | Le Point.fr



L'OBS
ATTENTATS

Actualité Migrants Santé Education Justice-P

Actualités > Attentats terroristes à Paris > Attentats à Paris : "Des blessures similaires à celles de la Première Guerre mondiale"

Attentats à Paris : "Des blessures similaires à celles de la Première Guerre mondiale"



Par Gurvan Le Guellec
Voir tous ses articles

Publié le 14-11-2015 à 16h16



Christophe Prudhomme, médecin urgentiste au SAMU 93, était présent aux abords du Stade de France, et a suivi l'organisation des secours toute la nuit. Il raconte.



Intervention des secours à Paris, après les attentats du 13 novembre. (REVELLI-BEAUMONT/SIPA)

Les solutions thérapeutiques actuelles des fractures osseuses

Avec perte de substance:
autogreffe osseuse



Os crête iliaque
du patient



J0



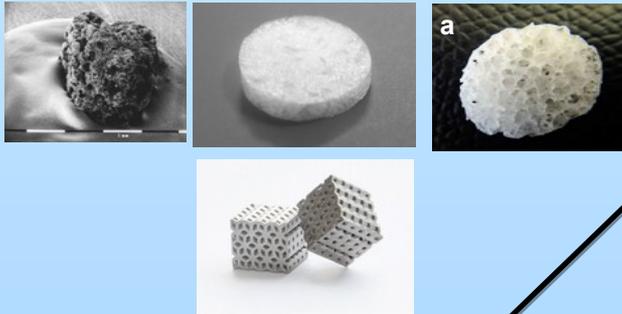
J0+15 mois



Problème de réparation/complications

Les stratégies d'amélioration de la réparation osseuse

Biomatériaux simples bioactivés



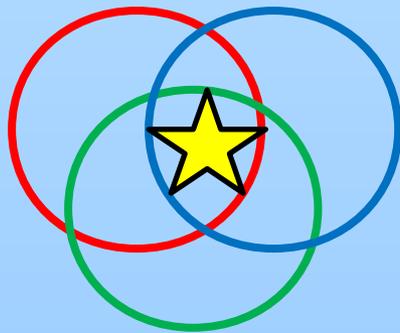
Modèle rat



Optimisation d'une technique chirurgicale orthopédique
« membrane induite de Masquelet »

- Patients
- Modèle rat

Biomatériau



Cellules
ostéogéniques
(= CSM)

Microenvironnement
favorable (= lysat plaquettaire)



PCL-U fonctionnalisé avec Lysat Plaquettaire: Modèle de fracture chez le rat

Défaut cavitaire fémoral 3 mm

Témoin (n=6)

PCLU (n=6)

PCLU + LP (n=6)



Sacrifice J7,
J15 ou J30

Opération J0



Microtomographie (μ CT), Numérations sanguines,
Cytométrie, Histologie, Dosages cytokines.....

Réparation osseuse
Angiogénèse

Inflammation
Effet LP?

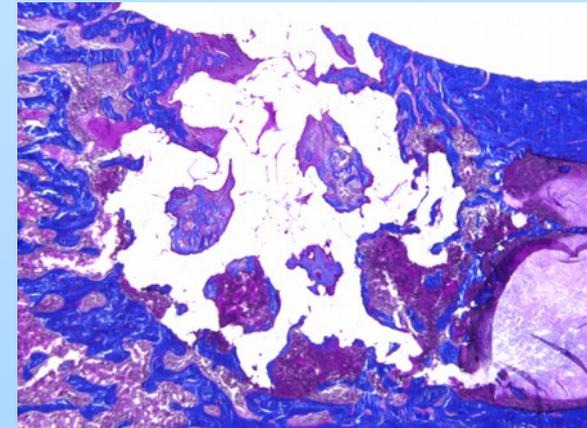
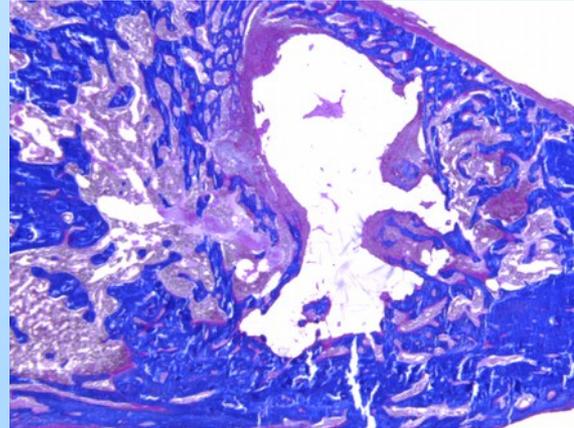
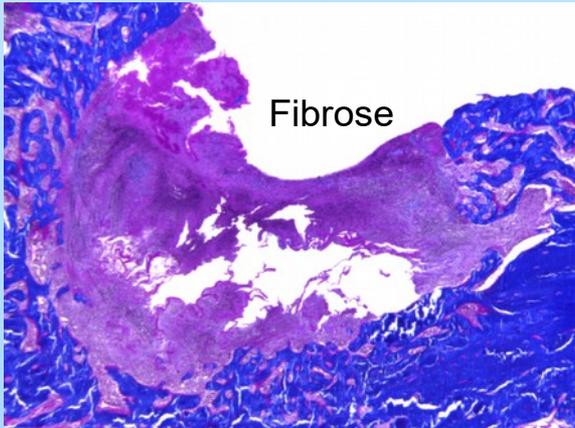
PCL-U fonctionnalisé avec Lysat Plaquettaire: Analyse histologique

Témoïn J15

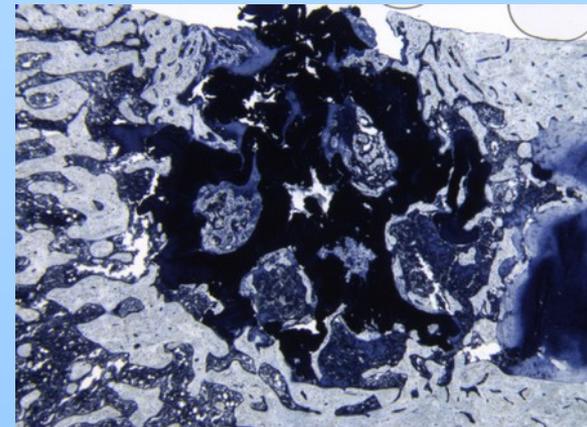
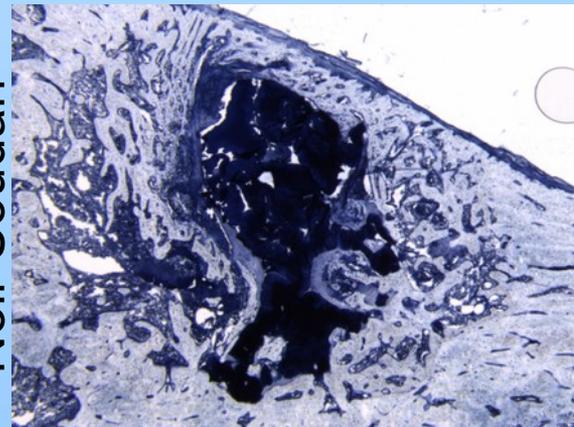
PCLU J15

PCLU-LP J15

Trichrome de Masson



Noir Soudan



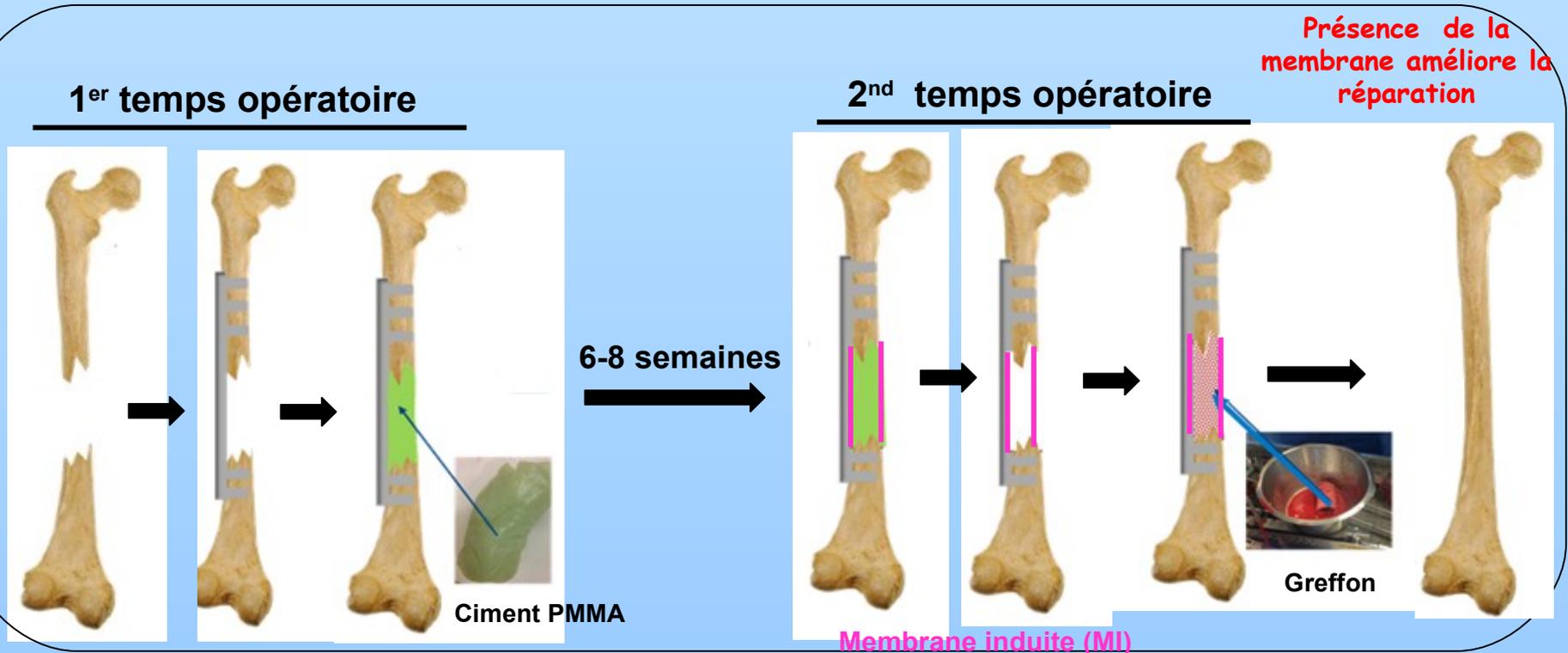
**PCLU et PCLU + LP
améliorent la réparation
osseuse (fermeture corticale
et remplissage cavité)**

Technique de la Membrane induite de Masquelet

- Bobigny, fin années 80 : technique chirurgicale par Pr. AC Masquelet
 - 1^{er} temps opératoire: insertion ciment PMMA (réaction à un corps étranger)

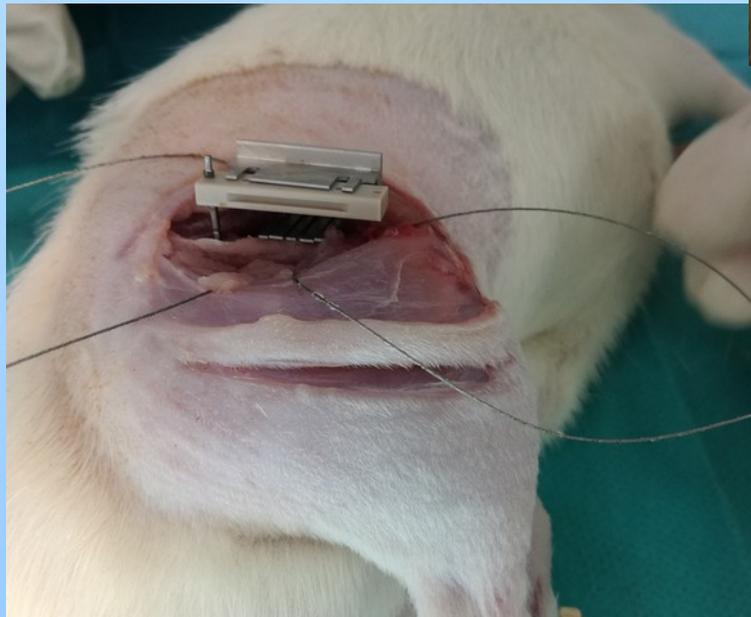
Création d'une membrane induite = incubateur biologique favorable à la réparation osseuse

- 2^{ème} temps opératoire: traitement habituel par greffon osseux autologue



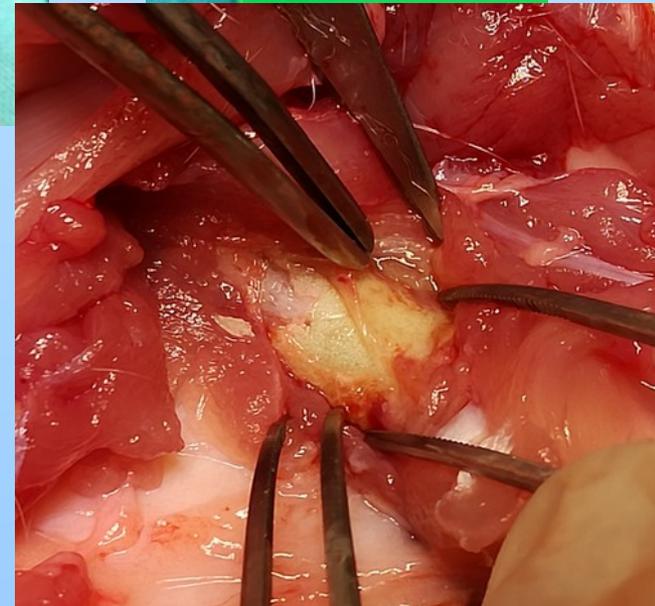
Amélioration de la technique de Masquelet

- Modèle de chirurgie de membrane induite chez le rat: analyse mécanistique
- Entretoises en différents matériaux (optimisation MI)
- Produire des membranes ex-vivo pour raccourcir à 1 temps opératoire?



**Biomatériaux
inducteurs
possibles:**

**PMMA (référence)
Verre
PVC**



Les brûlures cutanées

flamme



contact



électrique



radio-induite



liquides chauds



chimique



par frottement



Ces malades ont en commun d'avoir perdu tout ou partie de leur peau et ne seront guéris que lorsque cette peau sera reconstituée

Irradiation cutanée localisée

	Lesion characteristics					Clinical criterion of Mesenchymal Stem Cell therapy					
		localisation	severity Metrepol	surface > 20 - 25 Gy	dose (Gy)	route of injection	number of cell injected	MSC origin	number of injection	combined treatment	
Patient 1 (Chili 2005)		Left hand	IV	40 cm ²	31 ^a	Local	76. 10 ⁶	autologous	1	Skin autograft	
Patient 1 (Chili 2005)		Left buttock	IV	80 cm ²	2000 ^c	Local	386. 10 ⁶	autologous	2	Surgery	
Patient 2 (Sénégal 2007)		Left arm	IV	250 cm ²	53.5 ^a	Local	761. 10 ⁶	autologous	5	Surgery	
Patient 3 (Tunisie 2008)		Left hand	IV	100 cm ²	38 ^a	Local	406. 10 ⁶	autologous	2	Skin autograft	
Patient 4 (Equateur 2009)		Right leg	IV	400 cm ²	4200 ^c	Local	1238. 10 ⁶	autologous	6	Surgery	
Patient 5 (FJ) (Vénézuéla 2010)		Left and right hand	IV	100 cm ²	40 ^a	Local	260. 10 ⁶	autologous	5	Skin autograft	
Patient 6 (EB) (Gabon 2010)		Left hand	IV	30 cm ²	35 ^b	Local	76. 10 ⁶	autologous	2	Skin autograft	
Patient 7 (FR) (Chili 2011)		Right foot	IV	20 cm ²	23 ^a	Local	18. 10 ⁶	autologous	1	Surgery	

a: EPR dose evaluation (bone), b: EPR dose evaluation (nail), c: physical dose reconstruction (contact dose at the skin)

Autorisations compassionnelles (statut PTC)
1^{ère} mondiale utilisation CSM dans la brûlure (2005)

J-J lataillade et al. Regen Med 2007

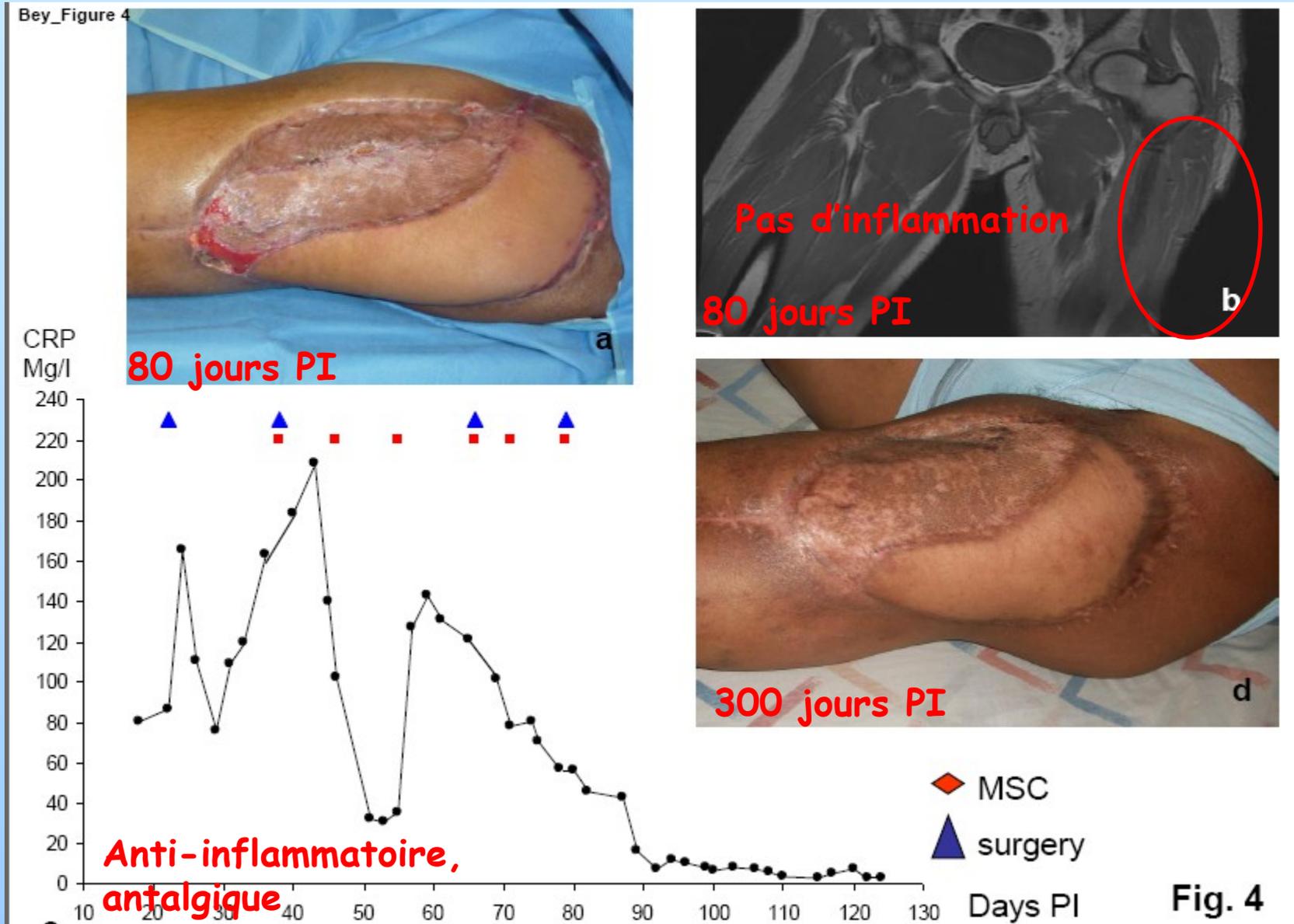
Brûlures cutanées radio-induites: Autogreffe musculo-cutanée + CSM



Accidental irradiation burn
(Venezuela 2010)

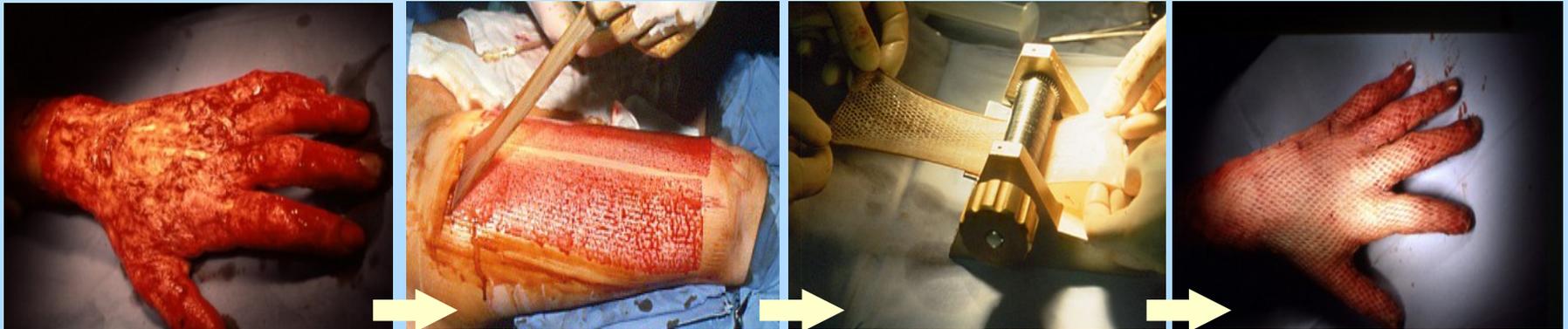


Brûlures cutanées radio-induites



Traitement chirurgical de la brûlure thermique étendue

- Utilisation d'Autogreffes: « Gold Standard »



Excision précoce

Prélèvement du site
donneur
0.2 à 0.4 mm
d'épaisseur

Expansion de la
surface prélevée
filet (x 1.5 à 8)

Grefe

Inconvénients immédiats:

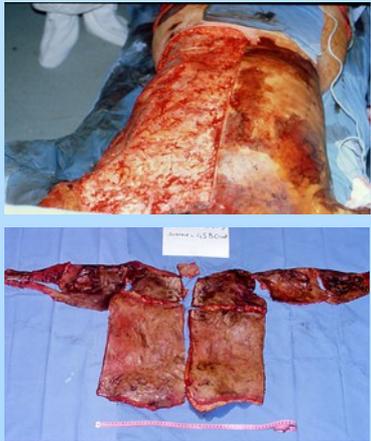
Saignement
Douleur
Zone de prélèvement problématique
pour un grand brûlé

Inconvénients lointains

Cicatrices en résilles sur la zone
greffés
Cicatrices de la zone prélevée

Technique de Cuono et utilisation de culture d'épiderme autologue (CEA)

Préparation du socle dermique : technique de « Cuono »



Avulsion des
tissus brûlés et
biopsie de peau
saine



Couverture
temporaire par
allogreffe ou
xenogreffe

ascularisation du derme



Abrasion de
l'épiderme de la
greffe

• Evite la réaction
inflammatoire de rejet
de l'épiderme de
l'allogreffe ou la
xenogreffe

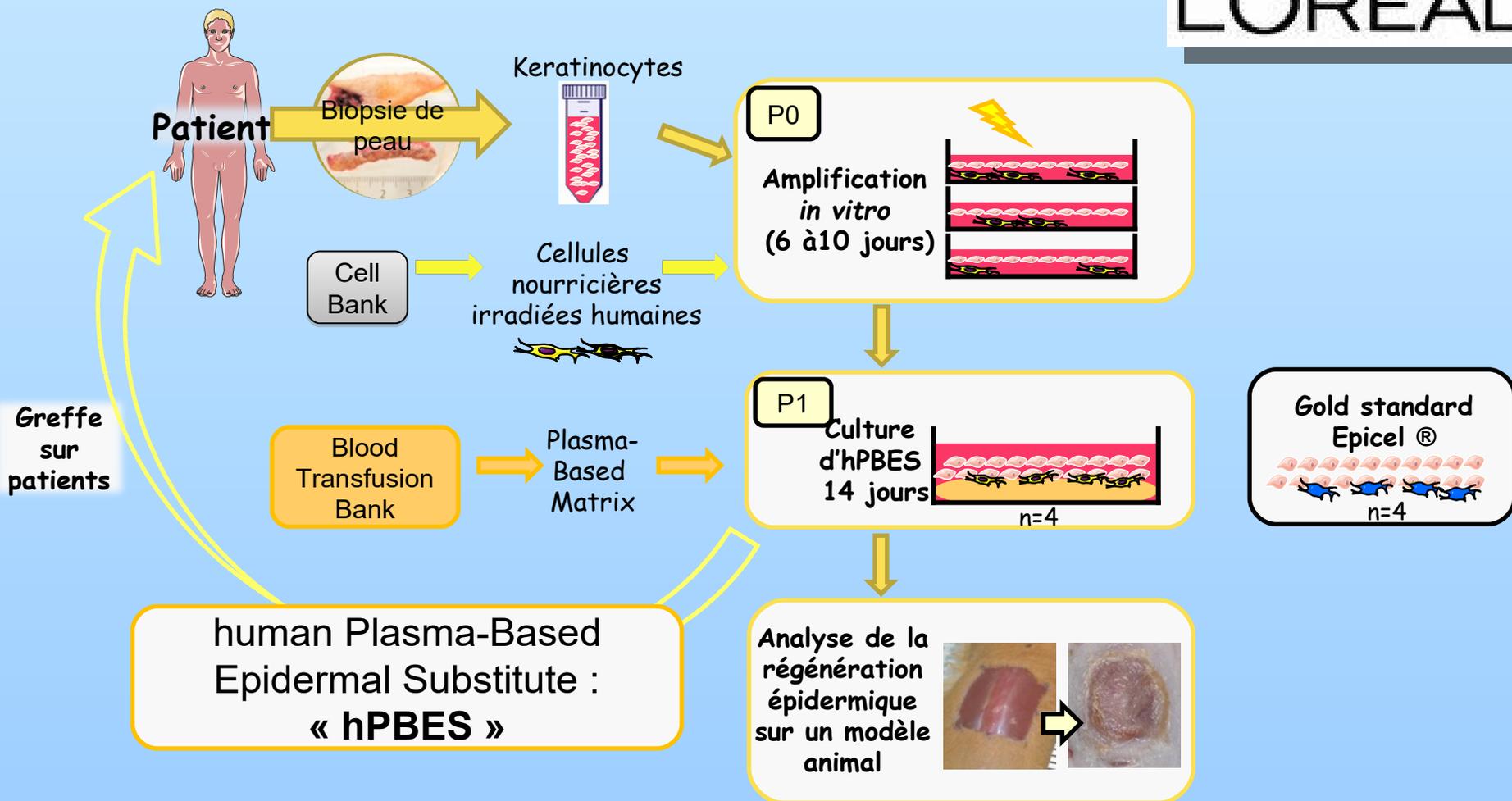


Pose de greffon
épidermique
autologue sur
un derme
régénéré

**Préparation en parallèle de feuilletts
épidermiques autologues**

Développement de substituts épidermiques: Protocole de culture

L'ORÉAL



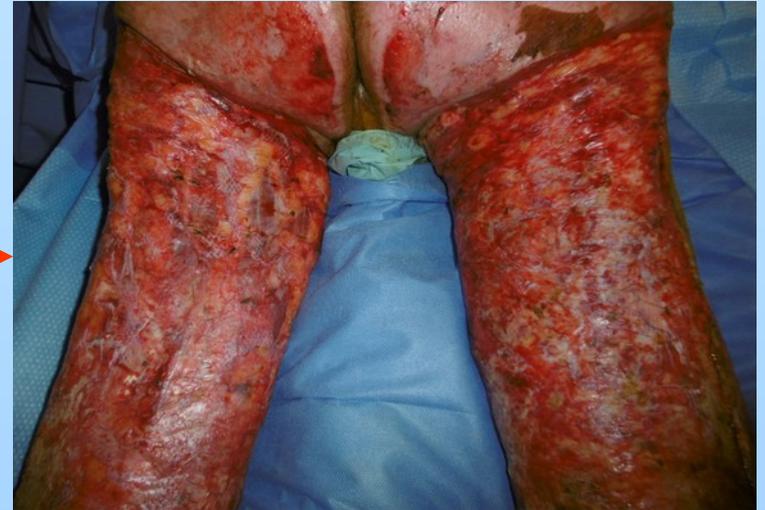
M. Alexaline et al. Stem Cell Translational Medicine 2015

Essai clinique multicentrique en préparation (APHP St Louis, HCL HEH)

Cellules Stromales Mésoenchymateuses et Brûlures Thermiques graves



Avulsion des tissus
brûlés et couverture
temporaire par
allogreffes



Préparation autogreffe
en pastille (Humeca) par
excision tangentielle

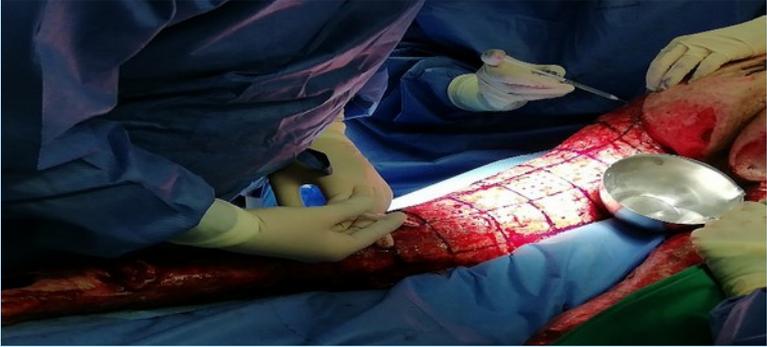
Autorisation MTI-PP 2018: 1^{er} patient

Cellules Stromales Mésoenchymateuses et Brûlures Thermiques graves



Couverture par autogreffes expansées en pastilles (Humeca)

+
CSM



(M+1)

+
Kéra



(M+1)

Autorisation MTI-PP 2018: 1^{er} patient