

Rôle des progéniteurs foetaux dans la cicatrisation maternelle

Sélim Aractingi



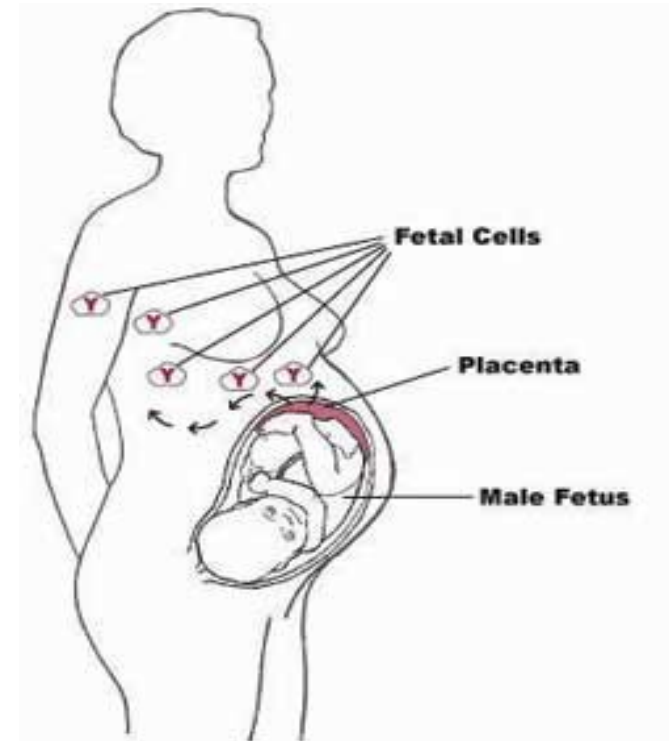
Service de dermatologie, hôpital Cochin,
Paris

Institut Cochin, Inserm UMR S 1016,
Paris.



Formes de microchimérisme

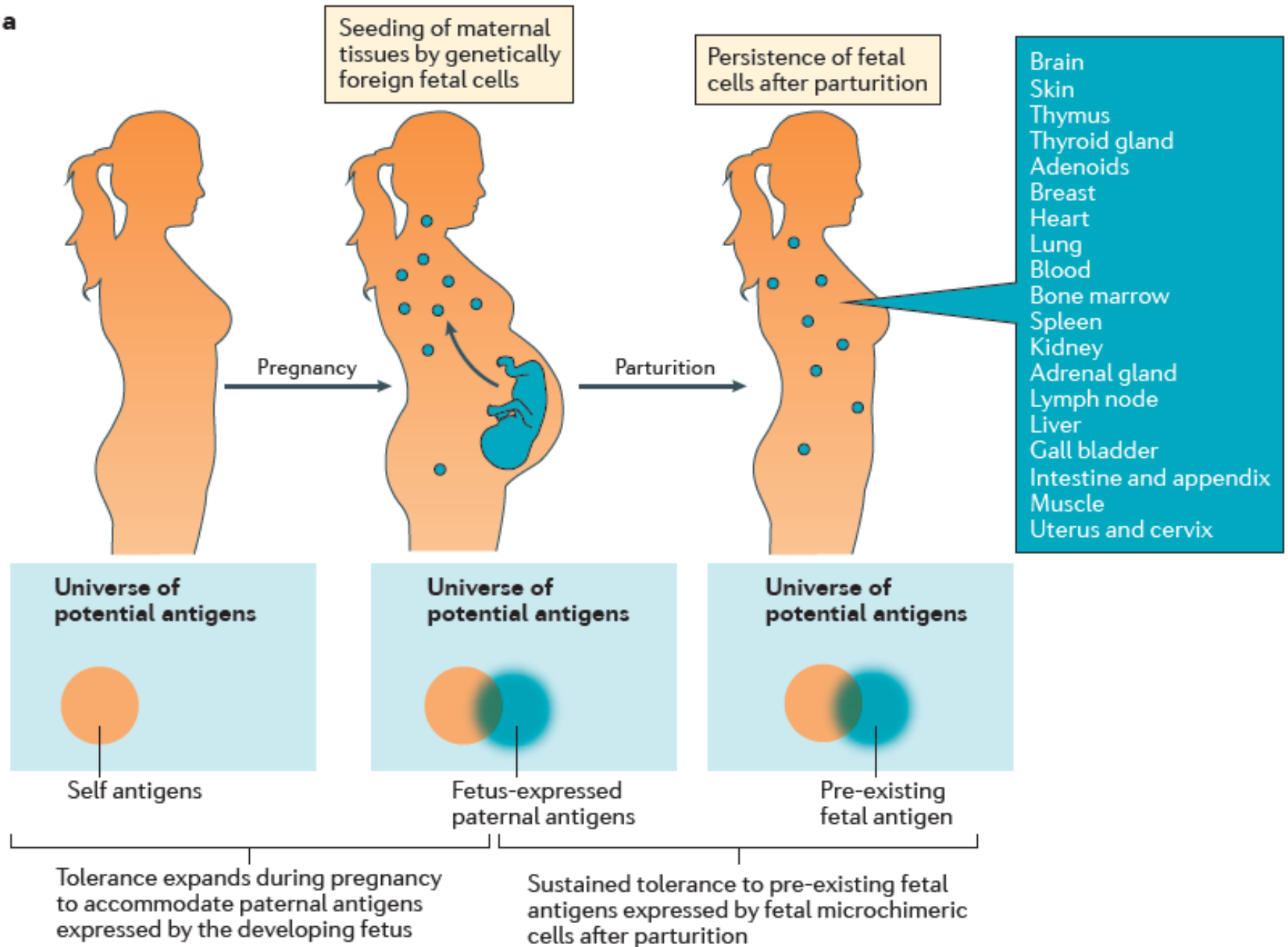
- Grossesse:
 - Maternel:
 - Donneur: mère, receveur: foetus
 - Foetal
 - Donneur: fœtus, receveur:mère
 - Jumeaux
- Transfusion sanguine
- Transplantation d'organe solide:
 - Donneur: rein, foie transplanté
 - Receveur: autres tissus du receveur



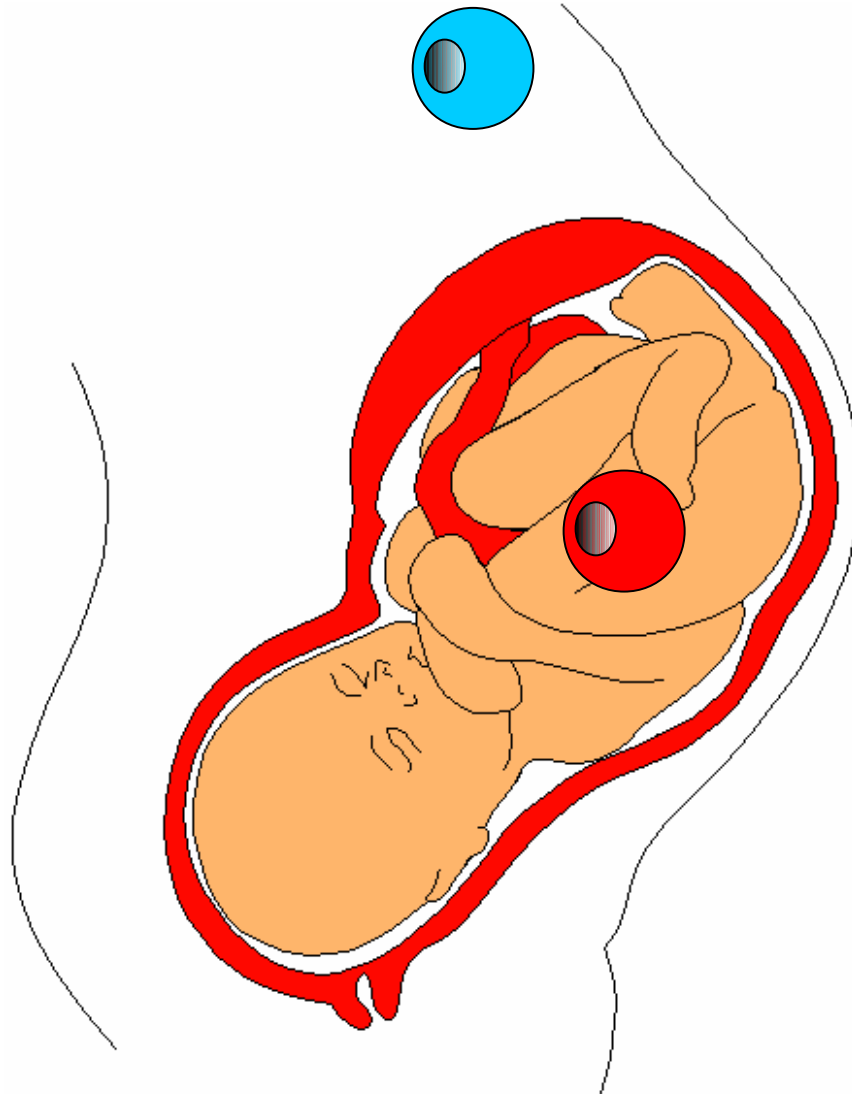
Microchimérisme fœto-maternel: :

- Après l'accouchement:
 - Persistance de cellules fœtales 27 ans après l'accouchement
Bianchi et al, PNAS, 1996
 - Avec une baisse du nombre des cellules circulantes par rapport à la grossesse
 - En post-partum, CFM détectables chez 23-64% (PBMC) en l'absence de toutes anomalies
(Bianchi et al., 1996; Evans et al., 1999; Kirschstein and Skirboll, 2001; Artlett et al., 2002; Lambert et al., 2002; Gilmore et al., 2008)

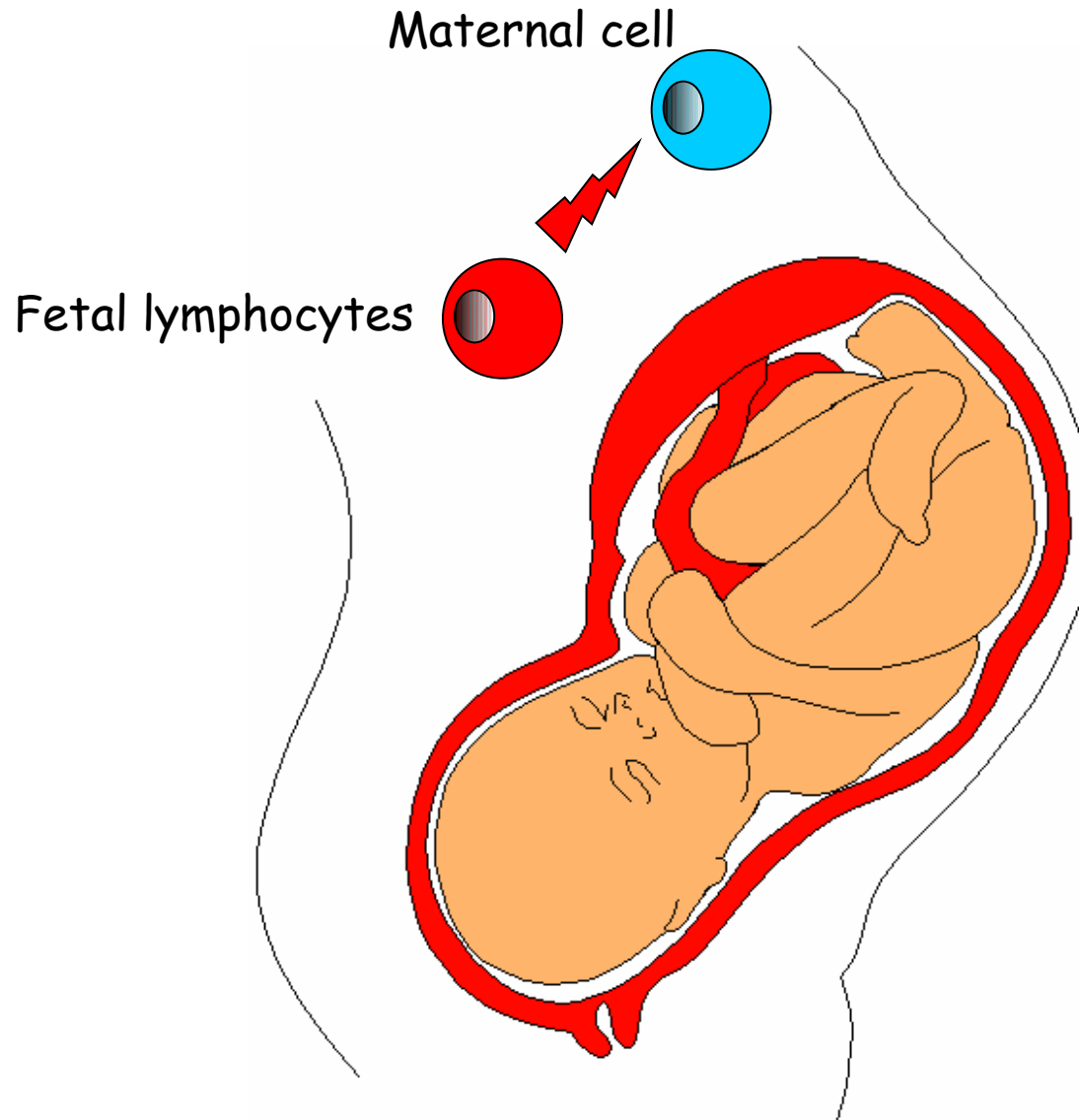
a



Est-ce que ces cellules sont des effecteurs immuns ?



Est-ce que ces cellules sont des effecteurs immuns ?



- Ces résultats indiquent que la présence de CFMs pendant ou après la grossesse n'est pas responsable du développement de manifestations immunes à l'encontre de tissus maternels et va à l'encontre du rôle de ces cellules comme impliquées dans l'élévation de l'incidence des maladies auto-immunes chez les femmes.
- Quel autre rôle exercent ces cellules ?

Nature souche des cellules foetales

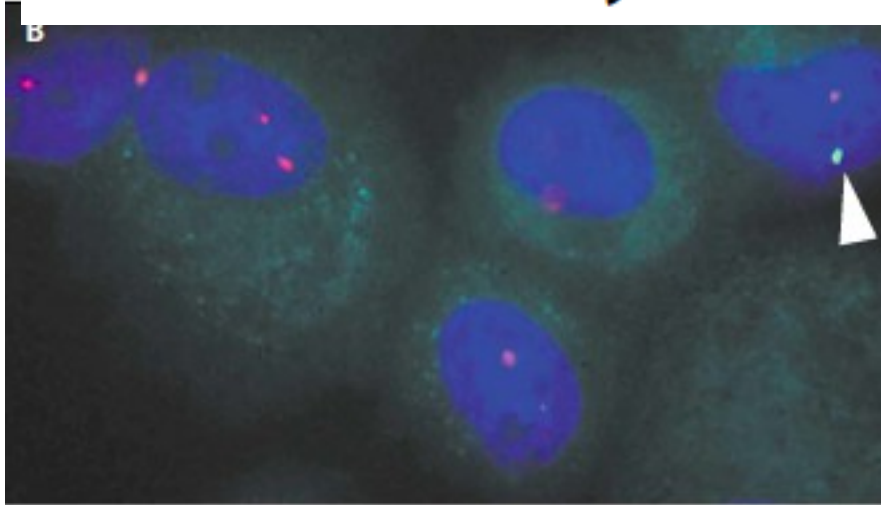
TABLE 2. Changes in number of colonies with time after delivery

Time after delivery	Number of cases	Total number of colonies per mL of maternal blood (mean $\pm$ SD)	Number of <u>fetus-derived</u> colonies per mL of maternal blood (mean $\pm$ SD)
Same day	15	96.5 $\pm$ 43.9	1.63 $\pm$ 0.93
4 days	4	80.0 $\pm$ 22.7	2.48 $\pm$ 0.95
1 month	7	67.7 $\pm$ 17.8	0.56 $\pm$ 0.41
6 months	3	75.3 $\pm$ 17.9	0.12 $\pm$ 0.11
1 year	3	56.7 $\pm$ 13.0	0

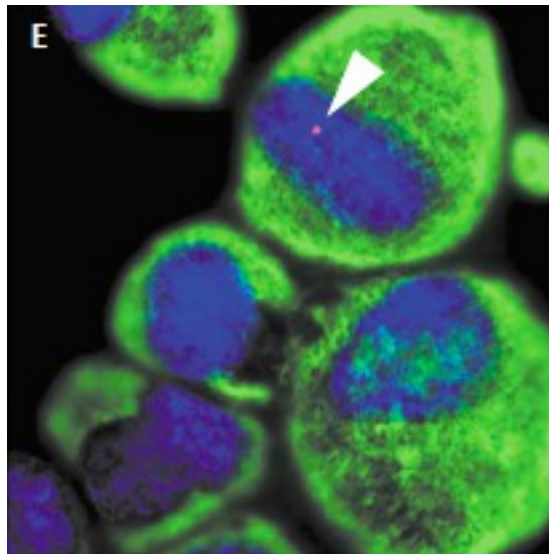
TABLE 3. Fetal colonies identified in different colony lineages

Case	Number of fetal colonies per number of colonies analyzed			
	Day of delivery		1 month after delivery	
	BFU-E	CFU-GM	BFU-E	CFU-GM
13	11/350	5/106	2/385	0/88
14	6/442	1/119	4/423	1/100
15	7/390	4/147	5/452	1/109
Total	24/1181 (2.03%)	10/373 (2.68%)	11/1259 (0.87%)	2/298 (0.67%)

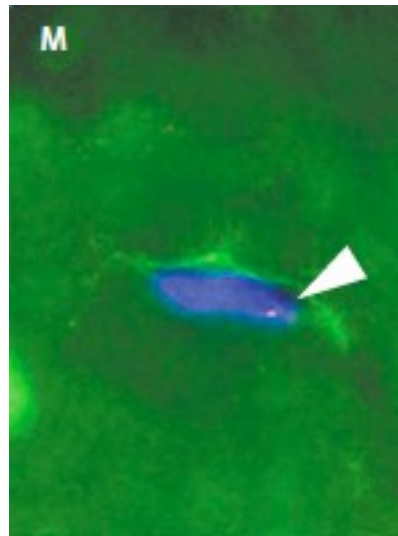
Microchimerism in female bone marrow and bone decades after fetal mesenchymal stem-cell trafficking in pregnancy



The microchimeric cells were identified as MSC by their morphology and immunophenotype (CD45-, CD14-, CD11a-, CD49b-, CD49d^{low}, SH2+, SH3+, Vimentin+, CD29+, CD49e+, CD106+, HLA-Class II-; determined by immunocytochemistry and flow cytometry), by their self-renewal in vitro and by osteogenic and adipogenic differentiation (figure, F–H).



Vimentin + fetal cells
in culture



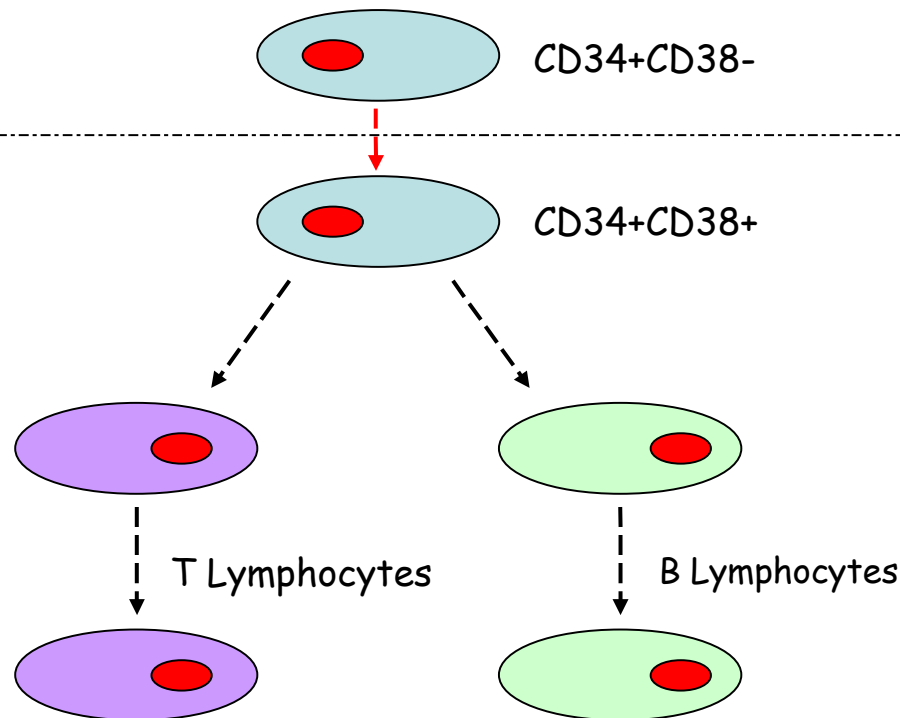
Laminin + fetal cells
In a in vivo female rib

Lancet 2004; 364: 179–82

Intervention de progéniteurs foetaux

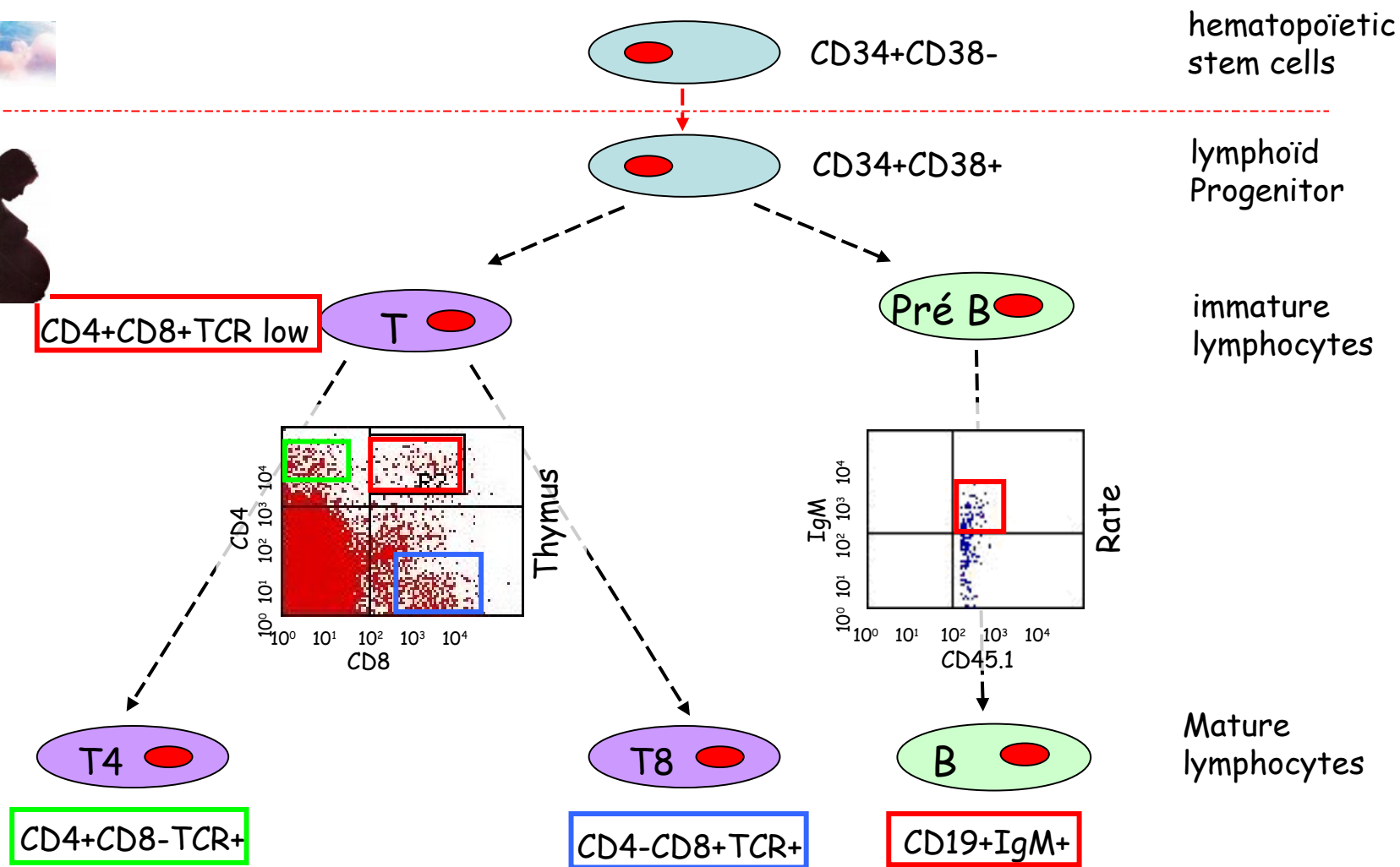
- Dans la réparation maternelle et l'inflammation tissulaire
- Dans les tumeurs pendant la grossesse

Can the transfer of fetal cell rescue maternal defects ?

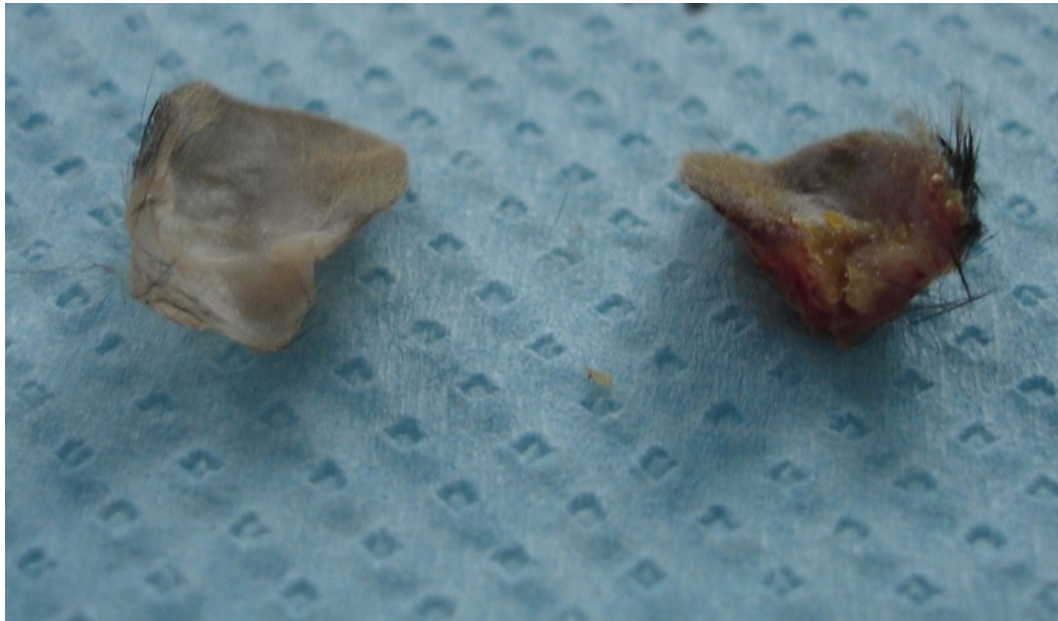
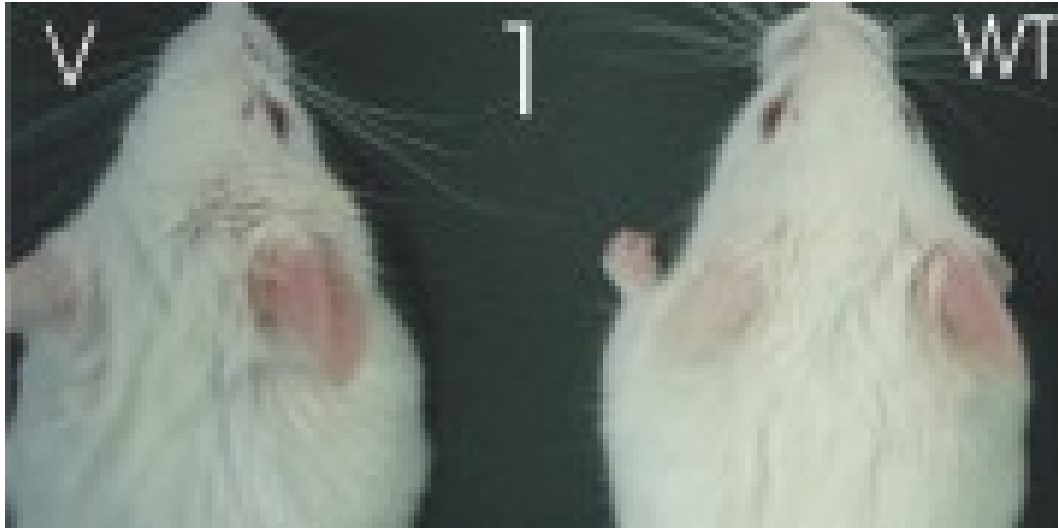


Fetal
progenitors

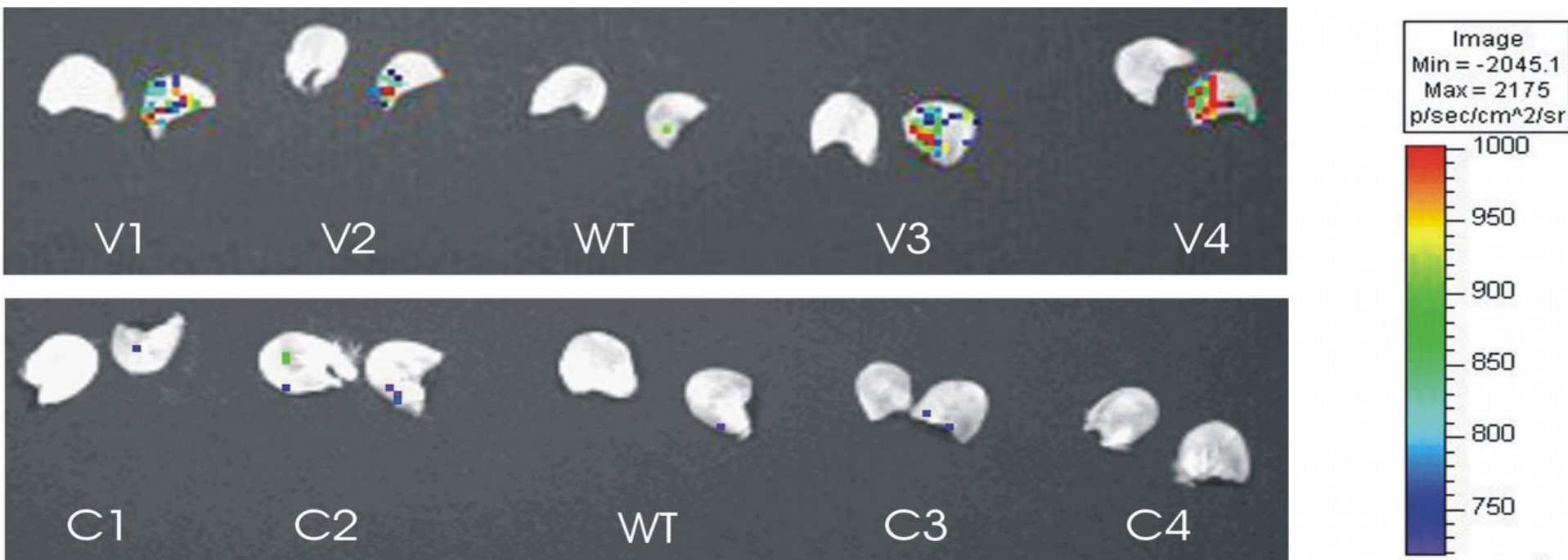
Mature and
functional cells



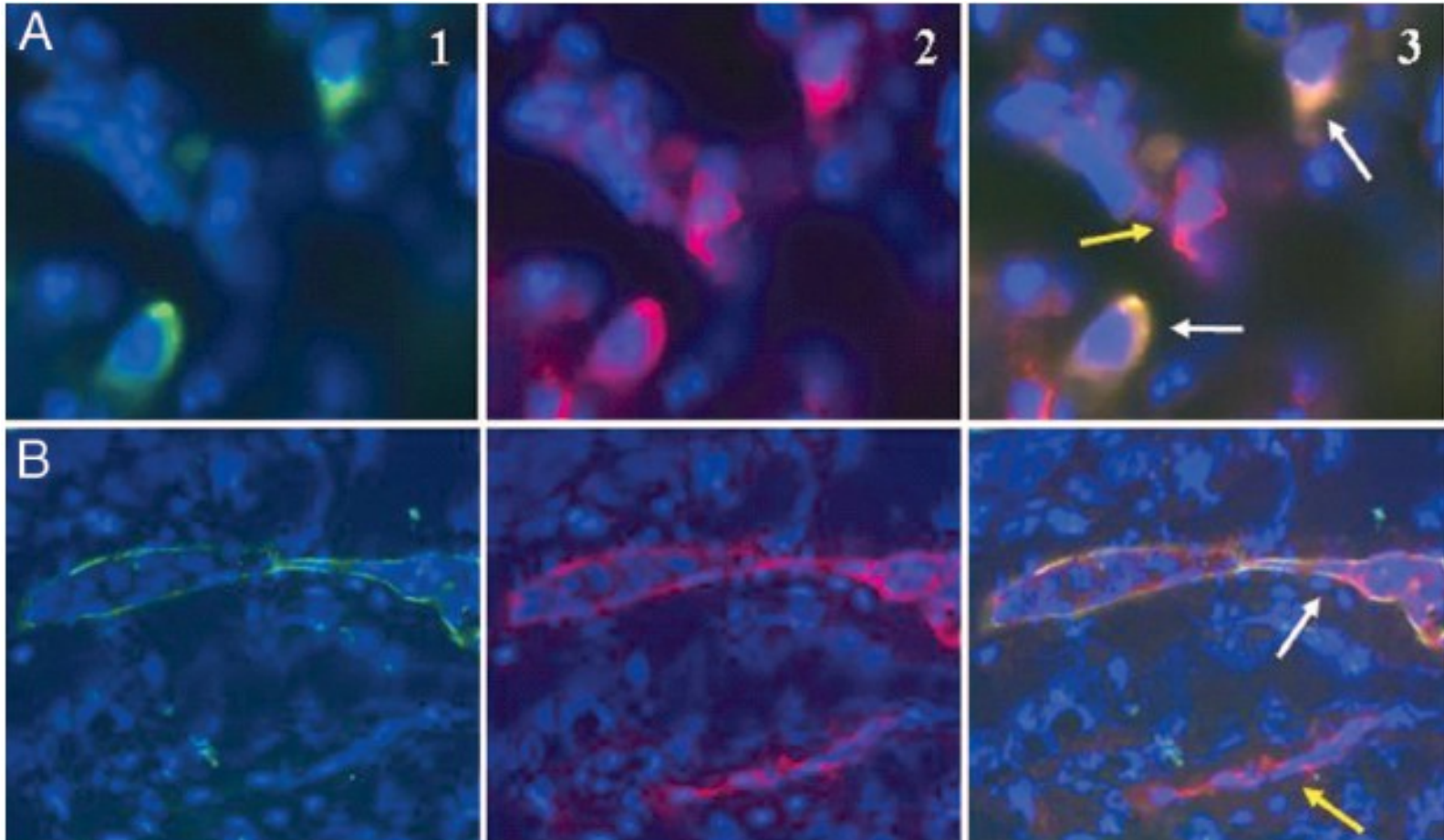
Modèle d'hypersensibilité lors de la gestation



Cellules fœtales activant le VEGFR2 retrouvées seulement aux oreilles droites



EGFP/CD45 leucocytes foetaux



EGFP/CD31 montre des cellules endotheliales
Remplies de cellules maternelles

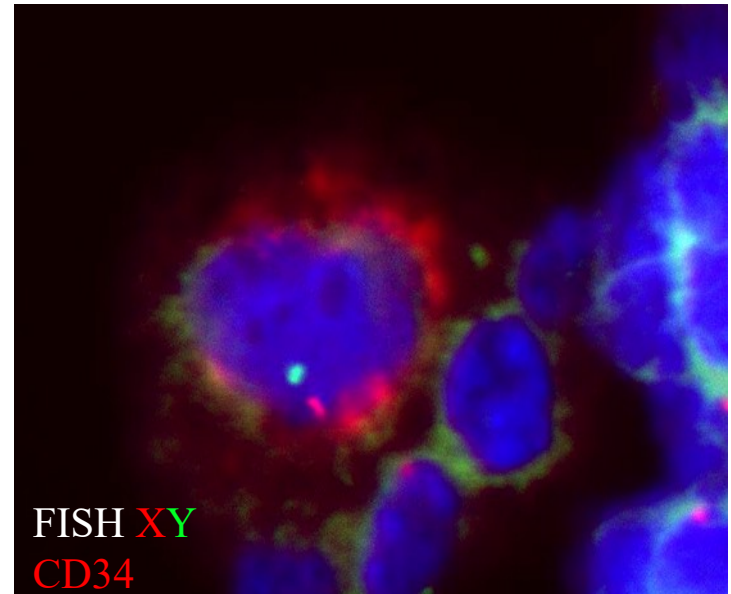
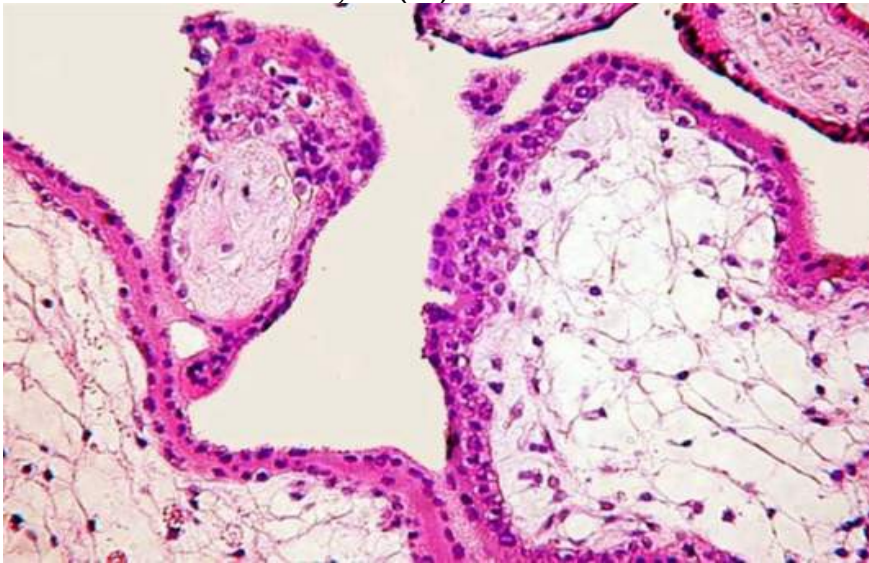
Présence de cellules foétales dans une inflammation maternelle sans avantage sélectif

- In 2 models :
 - WT females mated with EGFP males
 - WT females mated with TgVEGFR2:Luc + TgCMV:Luc
- Using 4 different techniques
 - Real Time PCR of EGFP
 - in vivo imaging
 - anti GFP labelling
 - Y, FISH

Fetal CD34+cells in maternal placental blood express mainly endothelial rather than hematopoietic lineage phenotype.

Olivier Parant, Gil Dubernard, Jean-Claude Challier, Michèle Oster, Serge Uzan, Sélim Aractingi, Kiarash Khosrotehrani

Lab Invest 2009;89(8):915-23



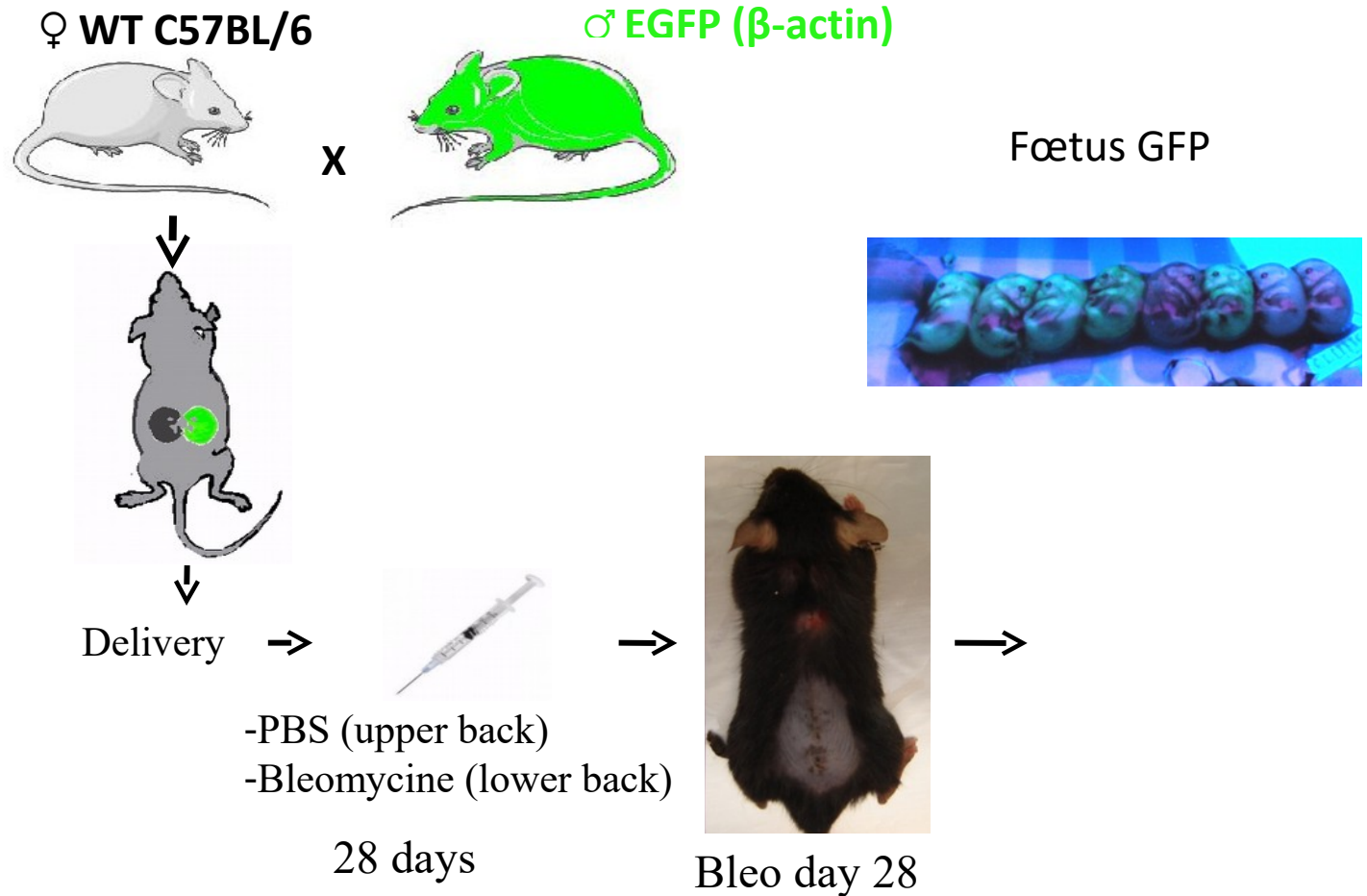
Angiogenese est importante

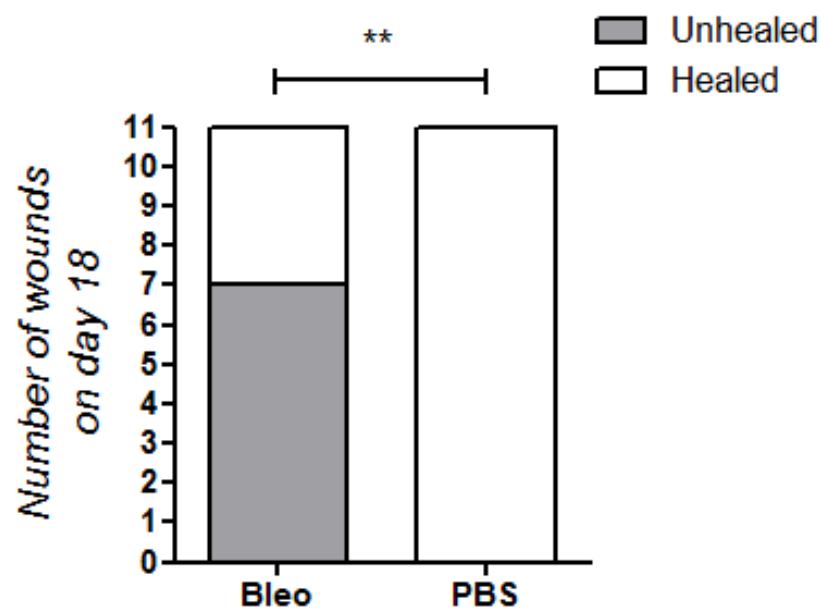
- Cicatrisation
 - Cicatrisation altérée
- Cancers :
 - Melanome et cancer du sein pendant la grossesse

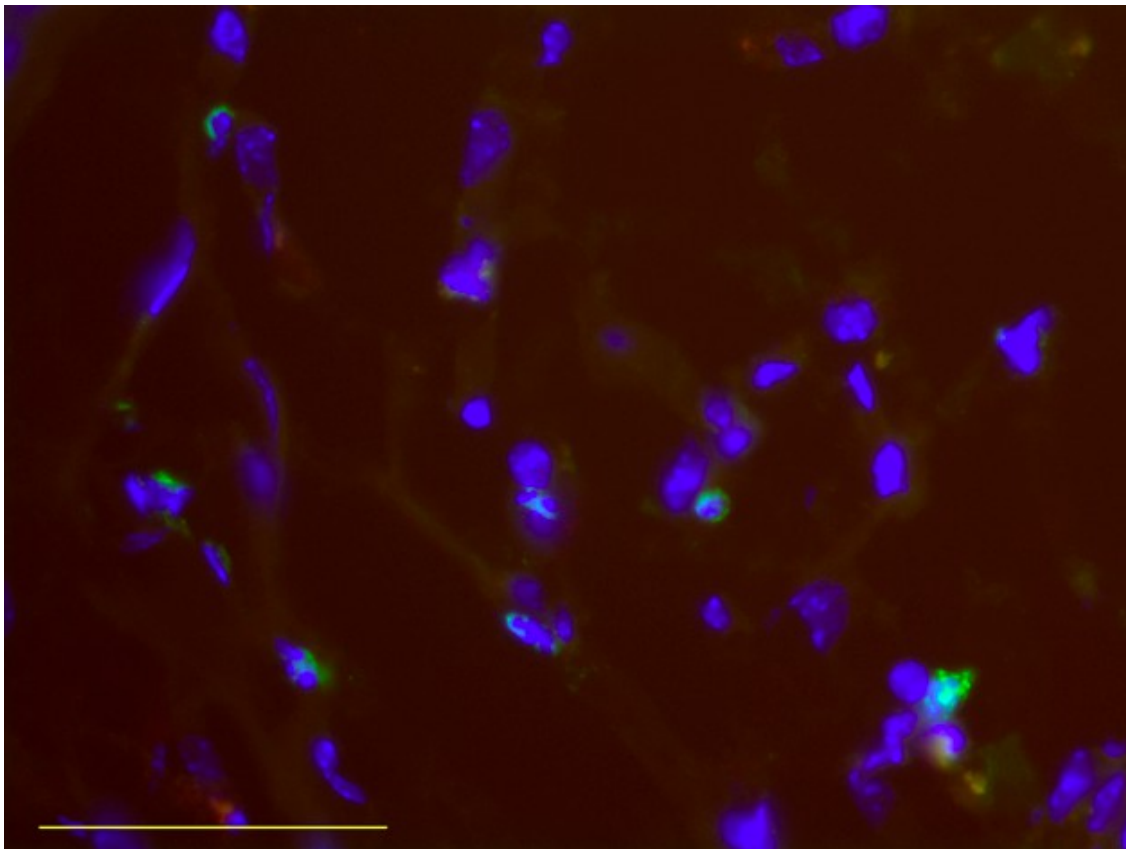
Anomalies de la cicatrisation

- La prévalence du diabète de type II aux USA est de 2%, et chez ces malades, l'incidence des ulcères est de 15% {Reiber, 1996}
- Chaque année, il y a aux USA, 6.5 millions de personnes qui présentent un ulcère de jambe {Singer, 1999 } et plus de 1.25 million de nouveaux brûlés {Brigham, 1996}
- Aux. USA (per year) : 2 millions de journées de travail perdues, 13/15 milliards \$/an de dépenses {Fonder, 2008}

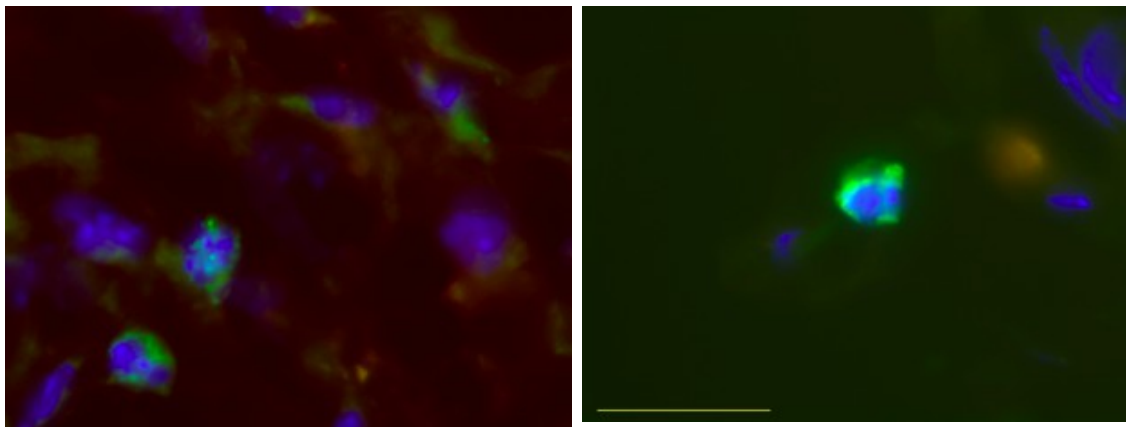
Les cellules foetales participant à la cicatrisation maternelle





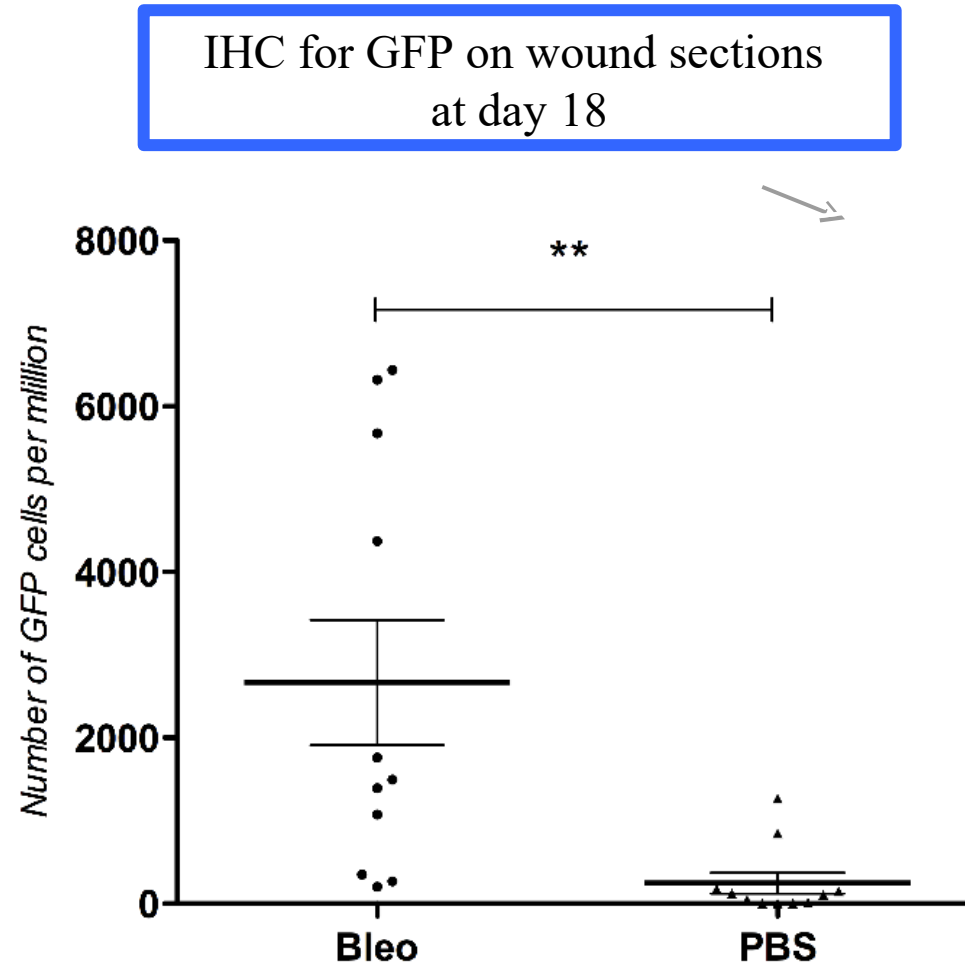


EGFP
DAPI



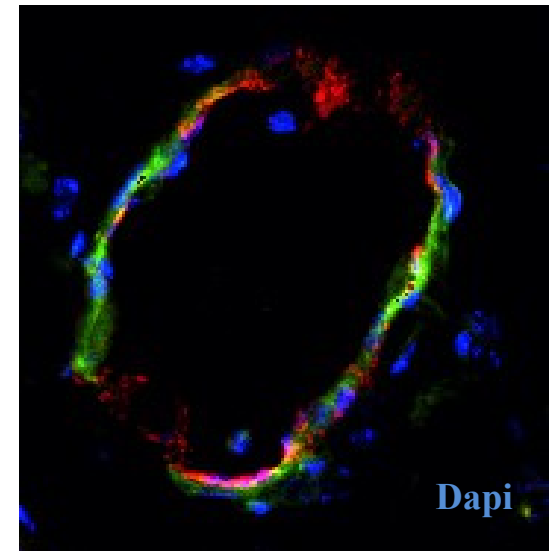
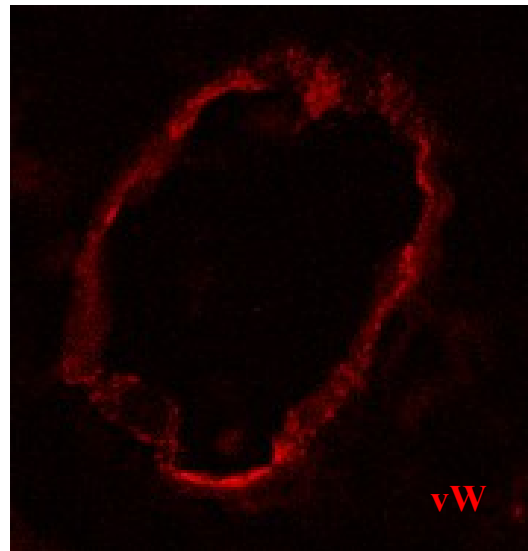
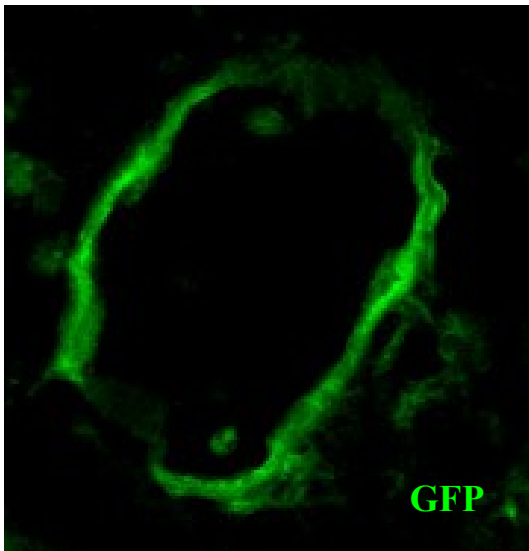
Marquage Anti GFP dans des plaies post-partum

Fetal cells participate in maternal wound healing

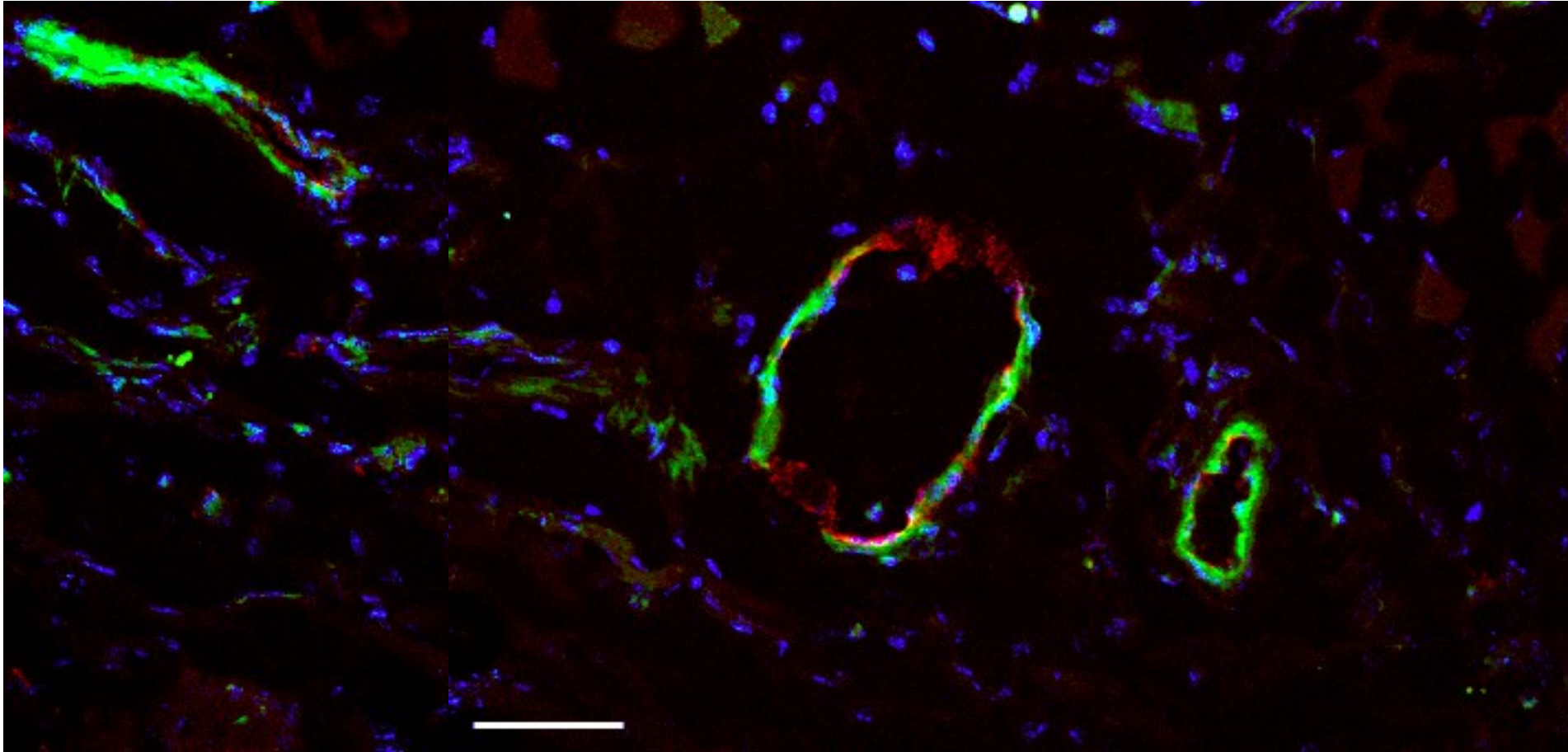


Phenotype des cellules foetales à différents points

	Day 7		Day 18	
	Willebrand/GFP	CD45/GFP	Willebrand/ GFP	CD45/GFP
Chronic	23/90 (25,5%)	58/115 (50,4%)	40/79 (50,6%)	9/37 (24,3%)



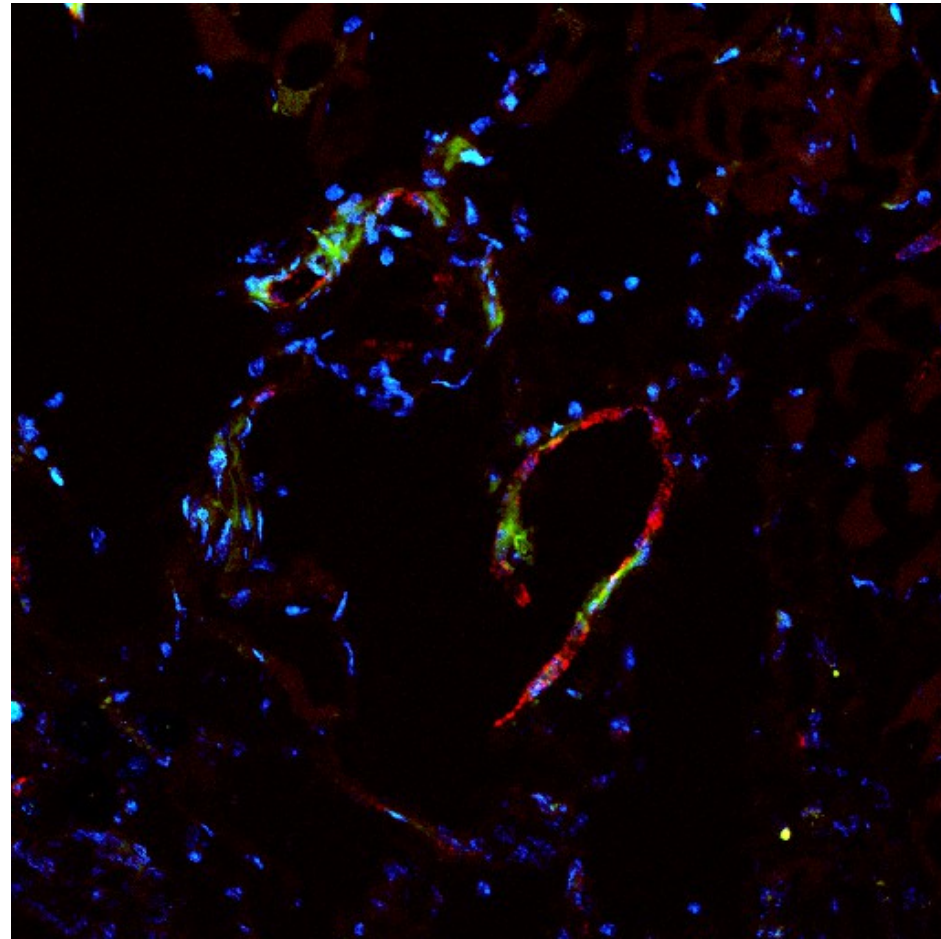
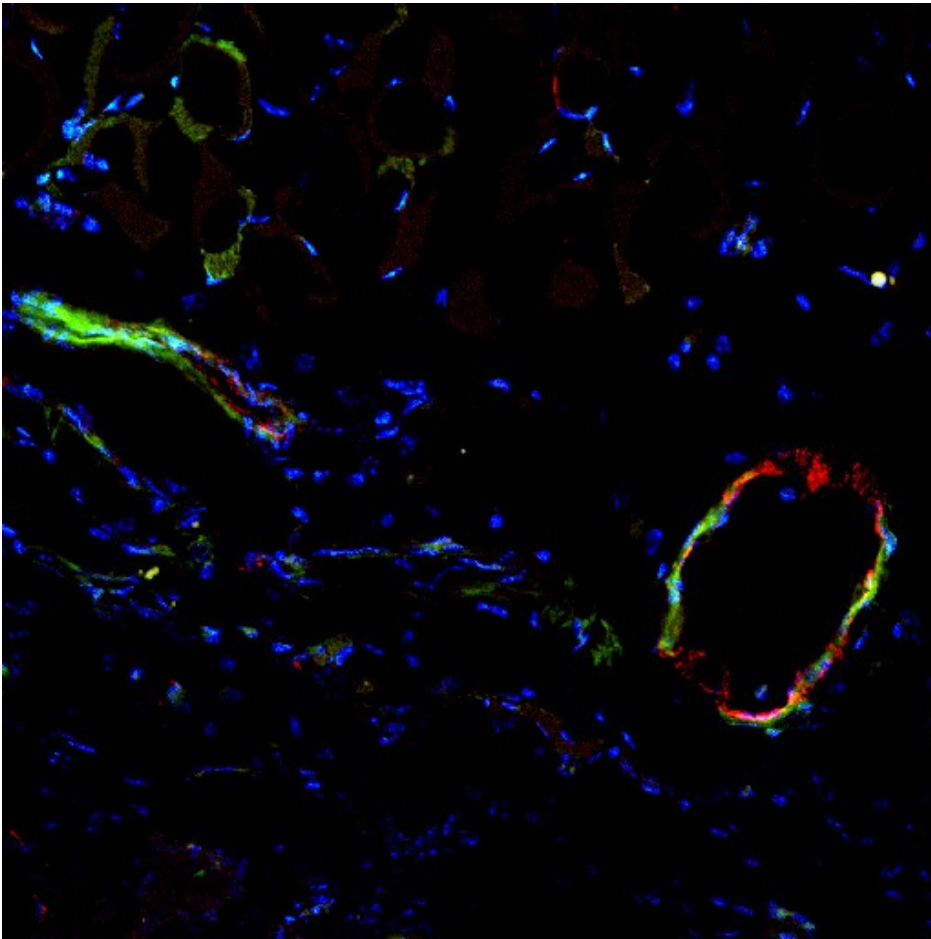
Suivi de l'angiogenese foetale sur plusieurs coupes



EGFP

vW

Suivi de l'angiogenese foetale sur plusieurs coupes



EGFP
vW

Conclusion

- Des progéniteurs endothéliaux fœtaux sont transférés aux mères pendant la grossesse
- Ces cellules fœtales sont
 - Recrutées dans les plaies cutanées
 - Persistent dans les plaies chroniques
 - Participent à l'inflammation et l'angiogenèse
- Caractérisation de ces progéniteurs ?

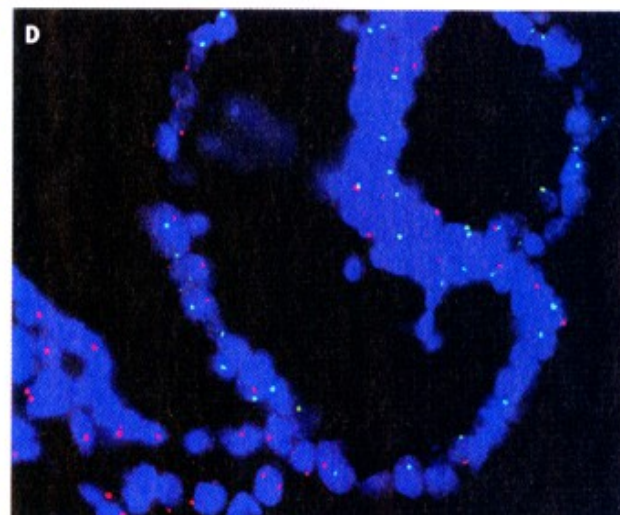
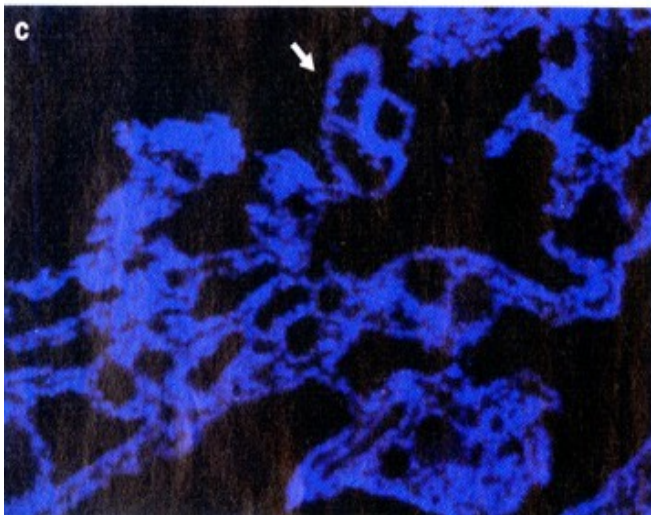
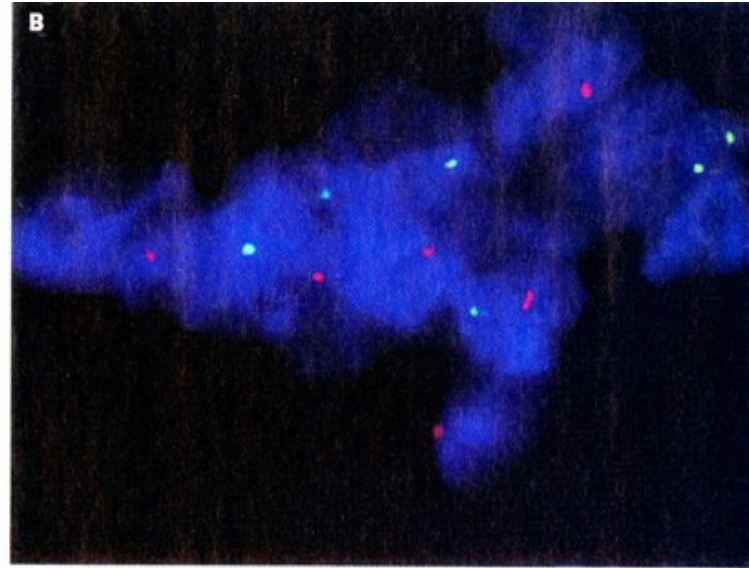
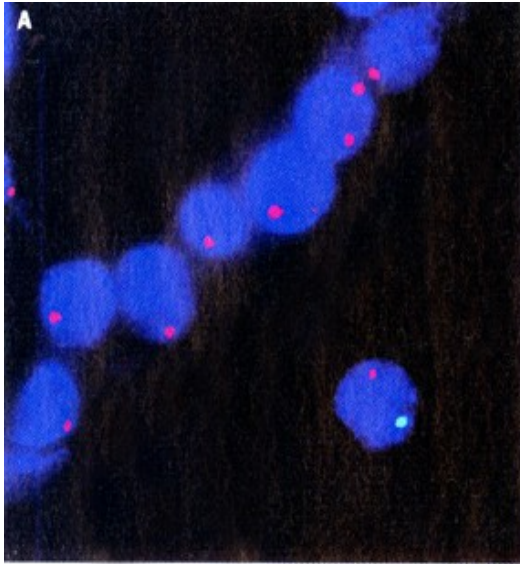
Données humaines ?

- En FISH XY , mise en evidence de la presence de cellules males isolées, à raison de 0-9 cellules foetales/coupe dans l'epiderme cicatrices de césariennes de femmes qui ont accouche d'un enfant par césarienne.
- L'association de FISH et d'immunomarquage montre que toutes les cellules foetales males experiment la cytokeratine et sont localisées dans l'épiderme

Chimérisme dans la réparation maternelle

- A female patient with thyroid adenoma showing a full follicle linked to the thyroid body that is featured by XY chromosomes by FISH

Srivasta B, Lancet, 2001



Healing of sickle cell ulcers during pregnancy: a favourable effect of foetal cell transfer?

C Droitcourt†‡*, K Khosrotehrani†‡, R Girot†§, S Aractingi†‡

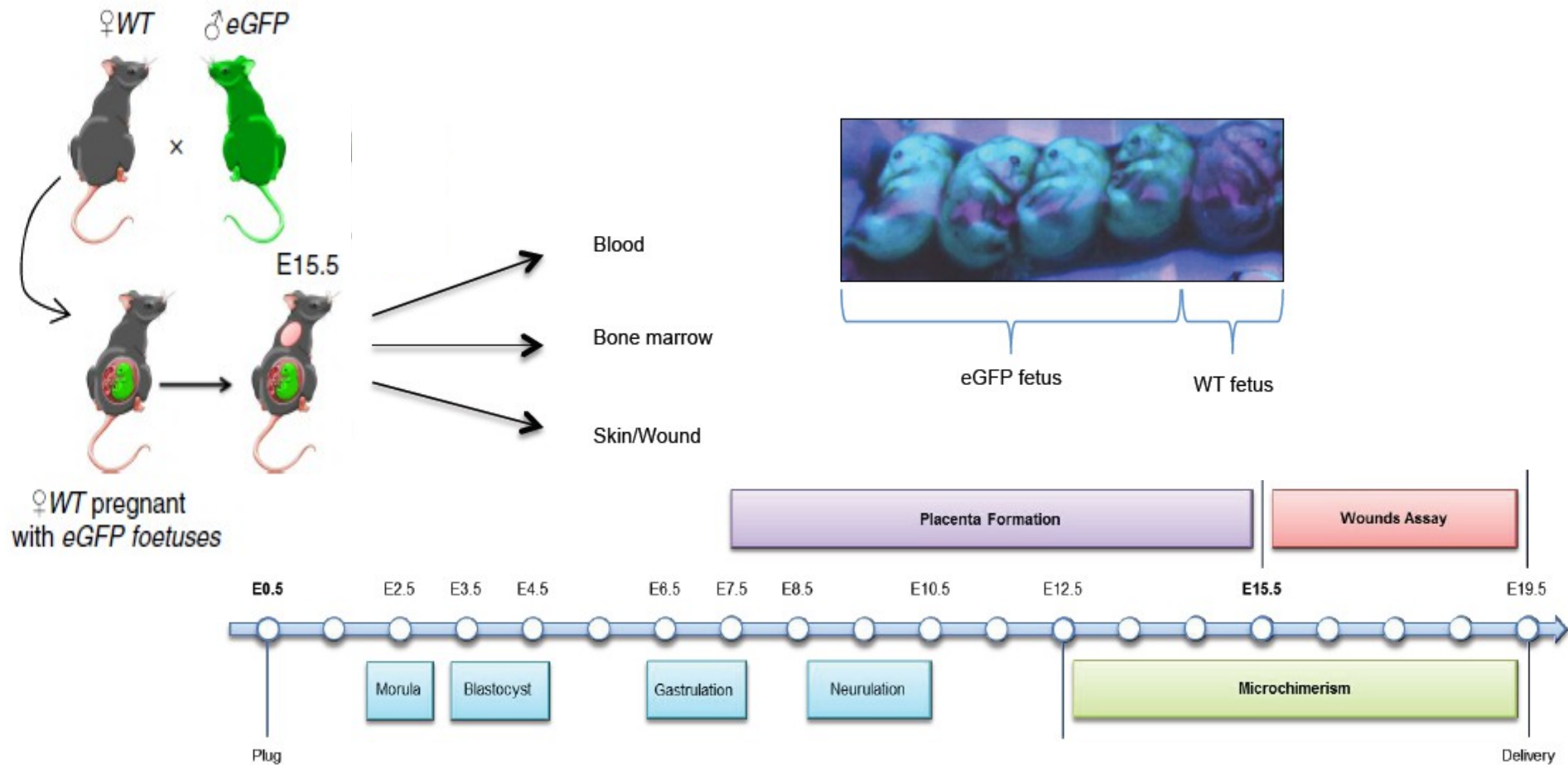
J Eur Acad Dermatol Venereol. 2008 Nov;22(10):1256-7

†Université Pierre et Marie Curie-Paris 6, UPRES EA4053, Laboratoire de Physiopathologie du Développement, UFR Saint Antoine, Paris, France,

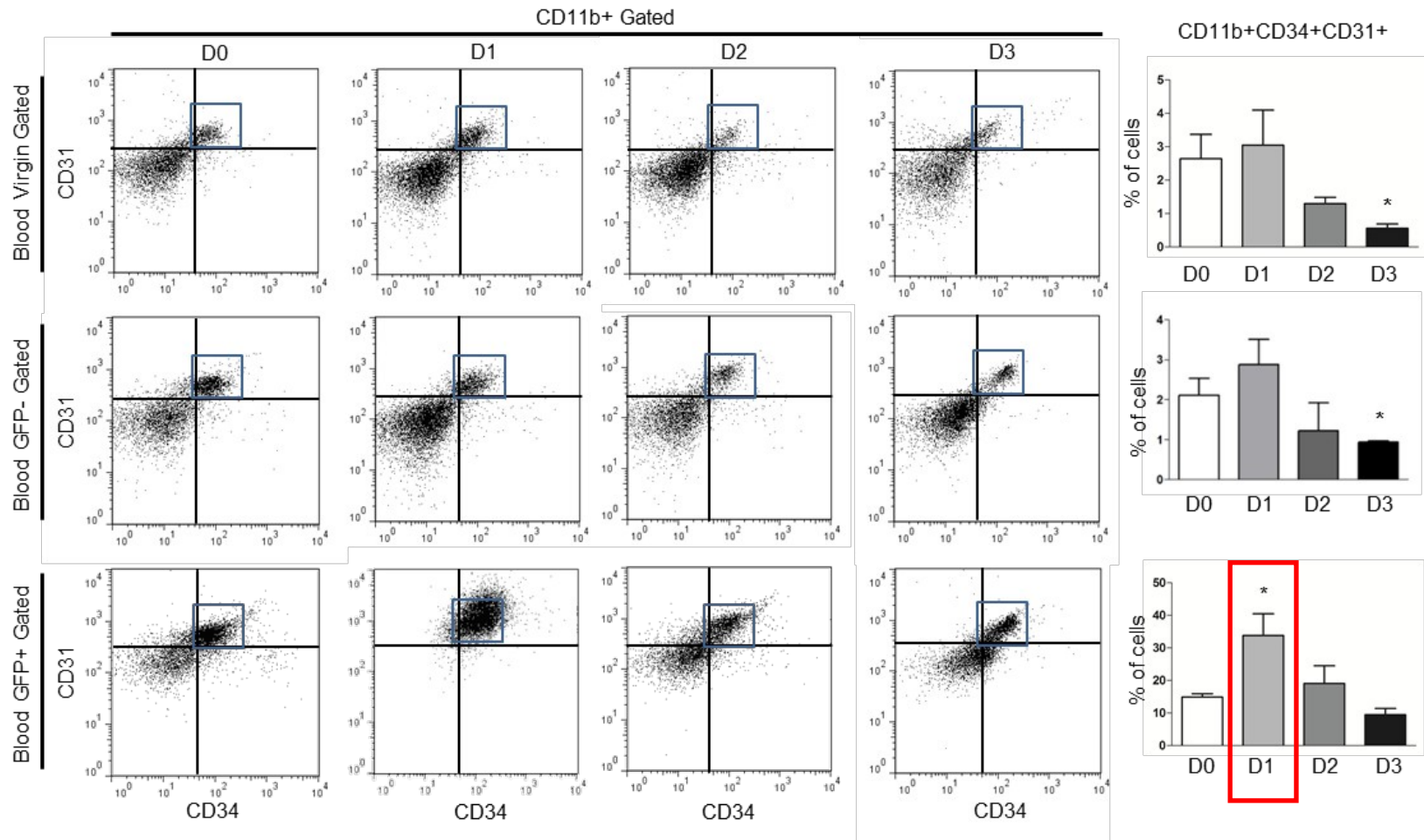
‡Service de Dermatologie, §Service d'Hématologie Biologique, Hôpital Tenon, APHP, Paris, France,



Quelles populations de CFM participent à la cicatrisation cutanée ?

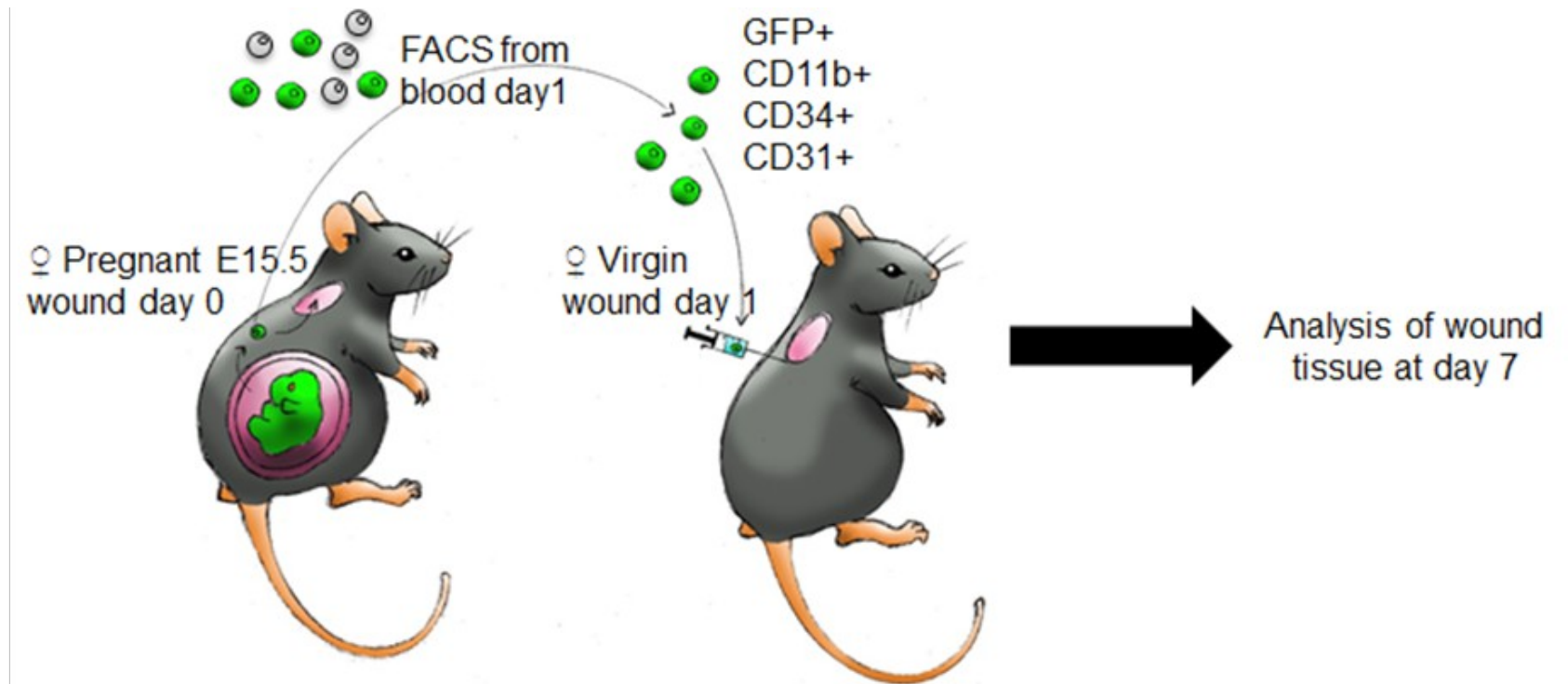


Phénotype des cellules microchimériques recrutées lors de la cicatrisation

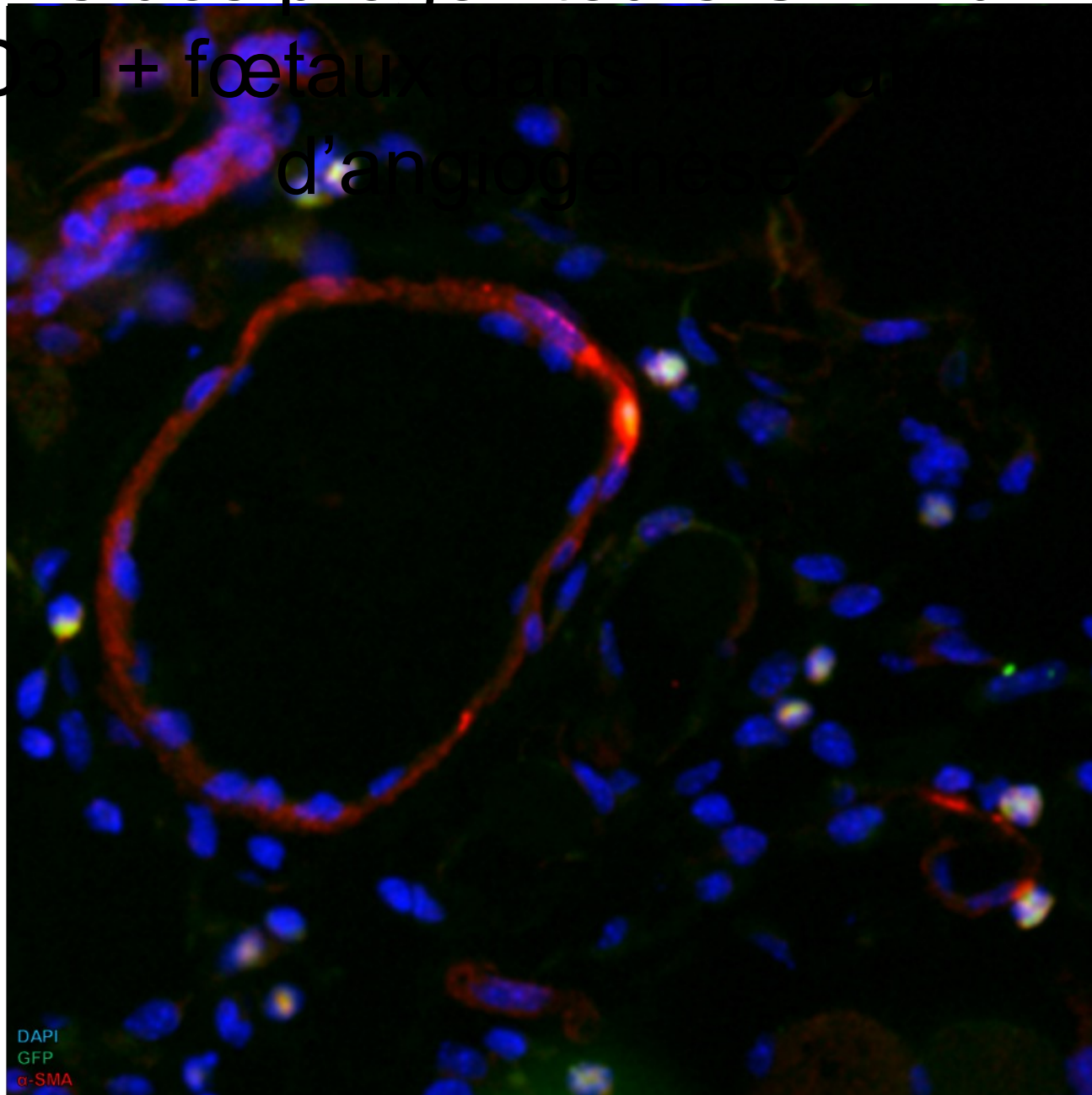


Les cellules fœtales CD11b+/CD34+/CD31+ ont un comportement différent lors de la cicatrisation comparées à leurs homologues adultes

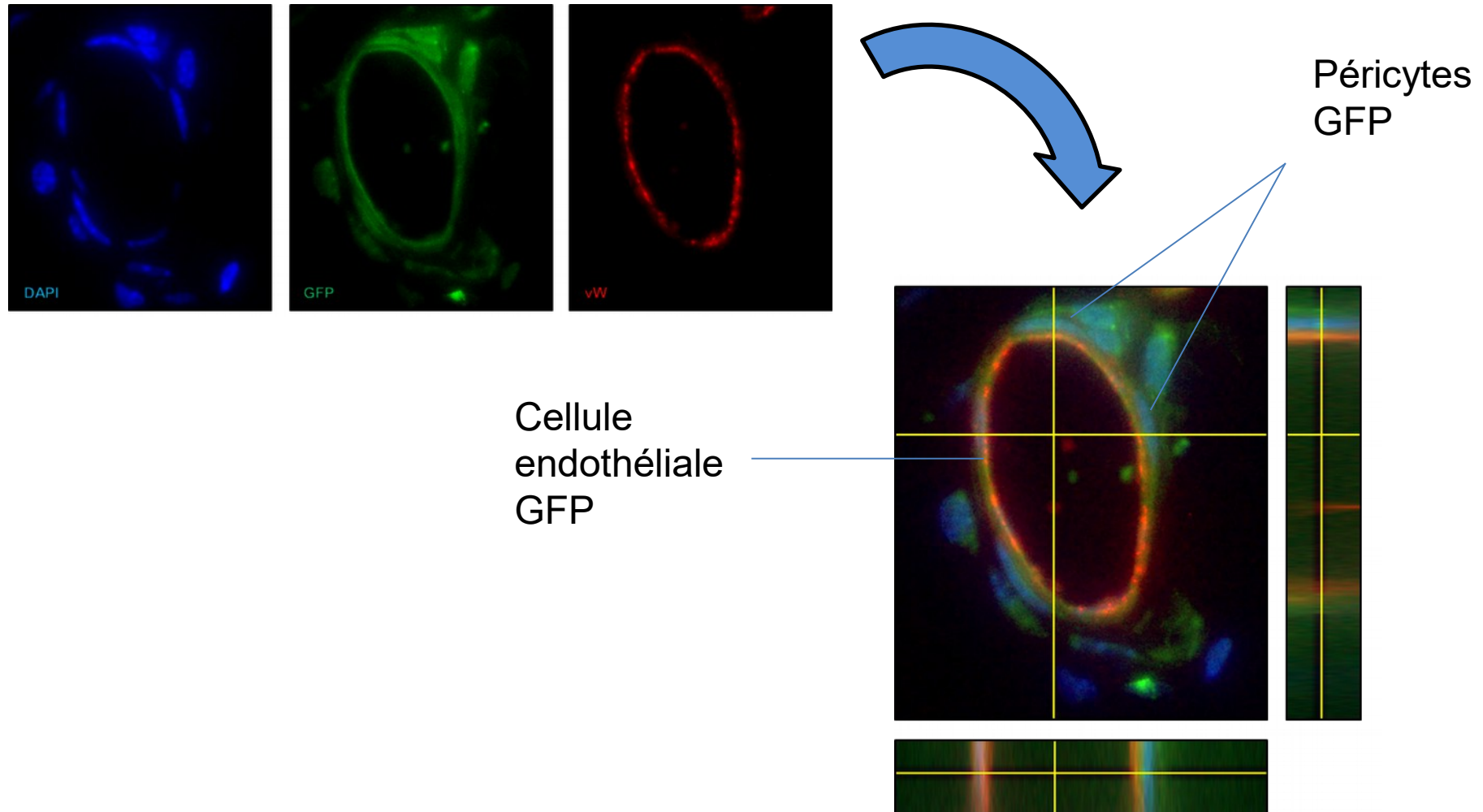
Fonctions de la population CD11b+, CD34+, CD31+ microchimérique foétale ?



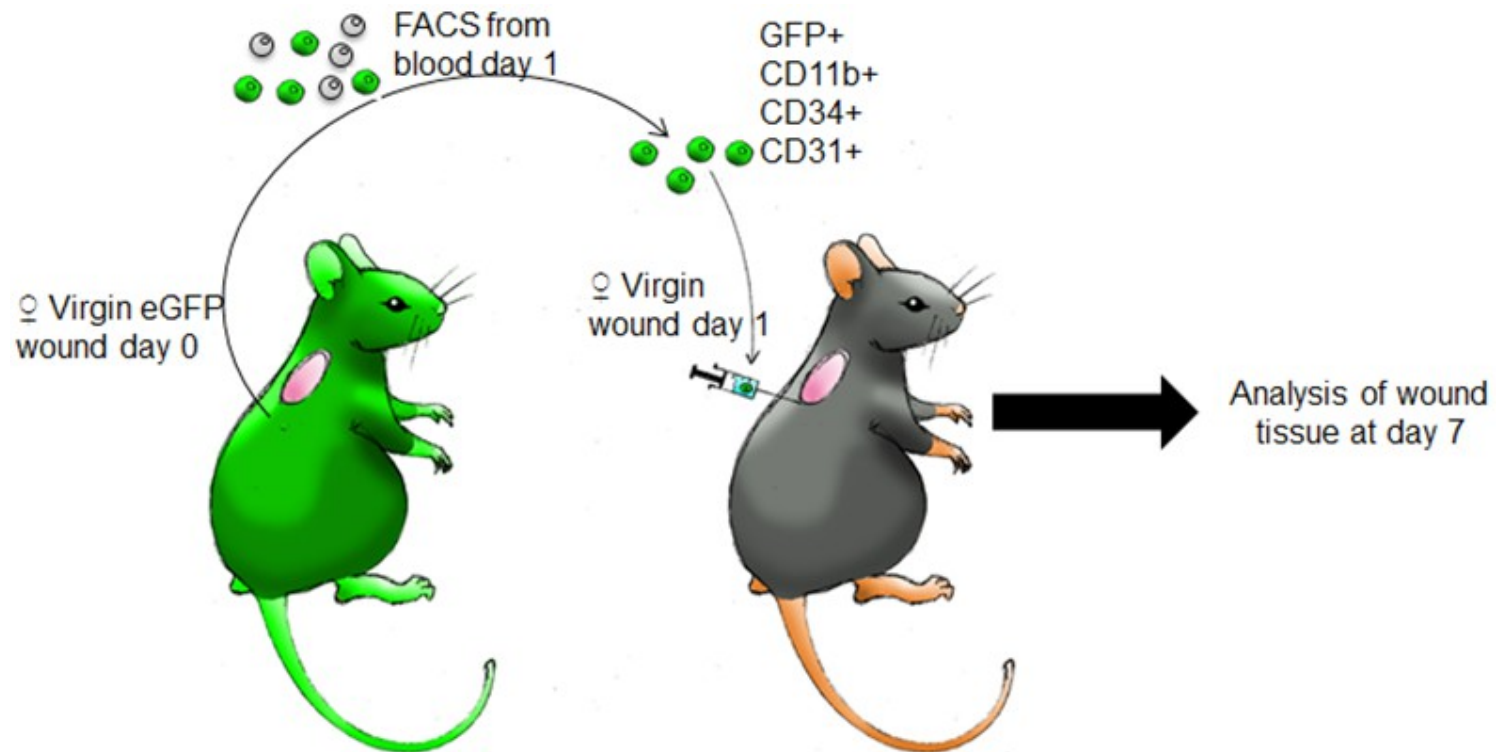
Fonctions des progéniteurs CD11b+ CD34+ CD31+ foëtaux dans la formation d'angiogenèse



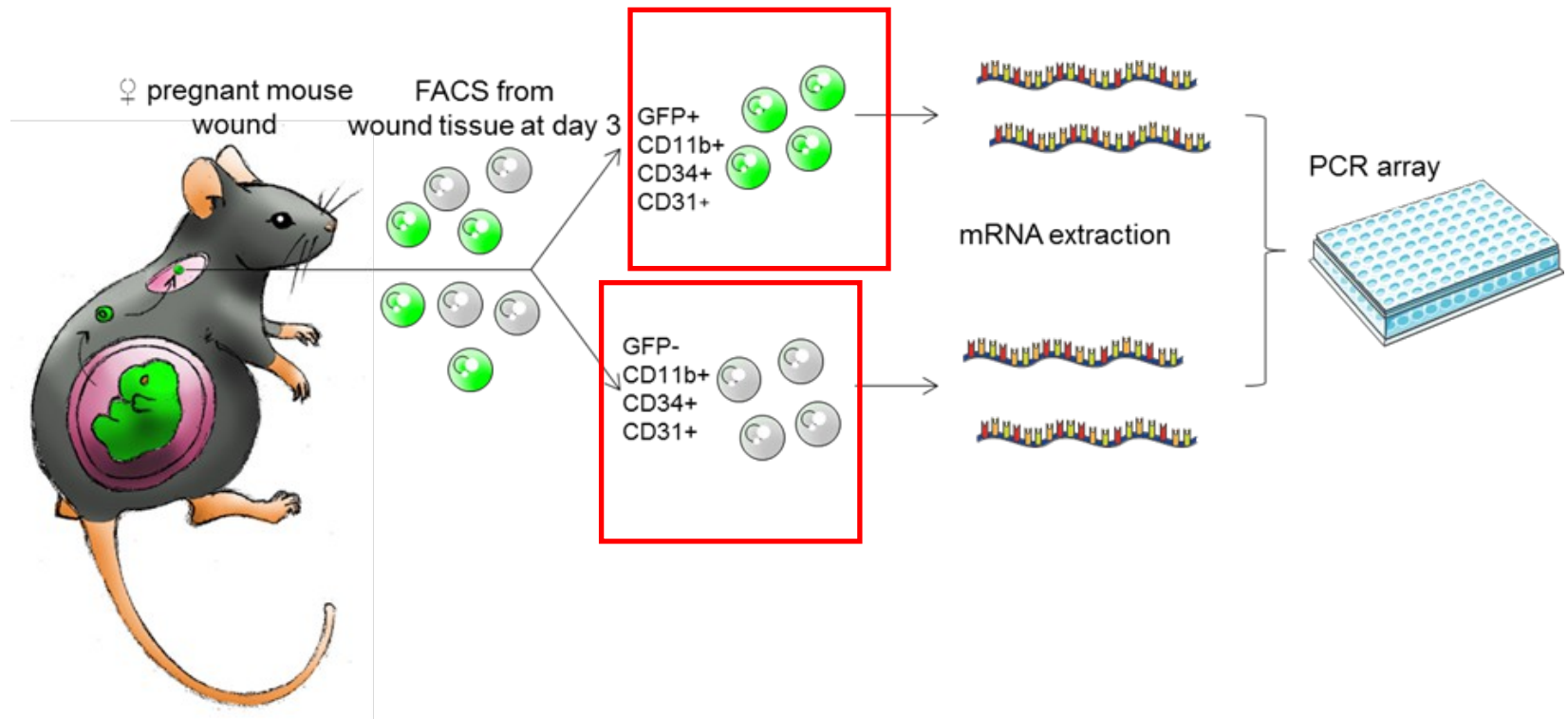
Les cellules fœtales myéloïdes participent à l'angiogenèse maternelle de deux manières



Qu'en est-il de leurs homologues adultes ?



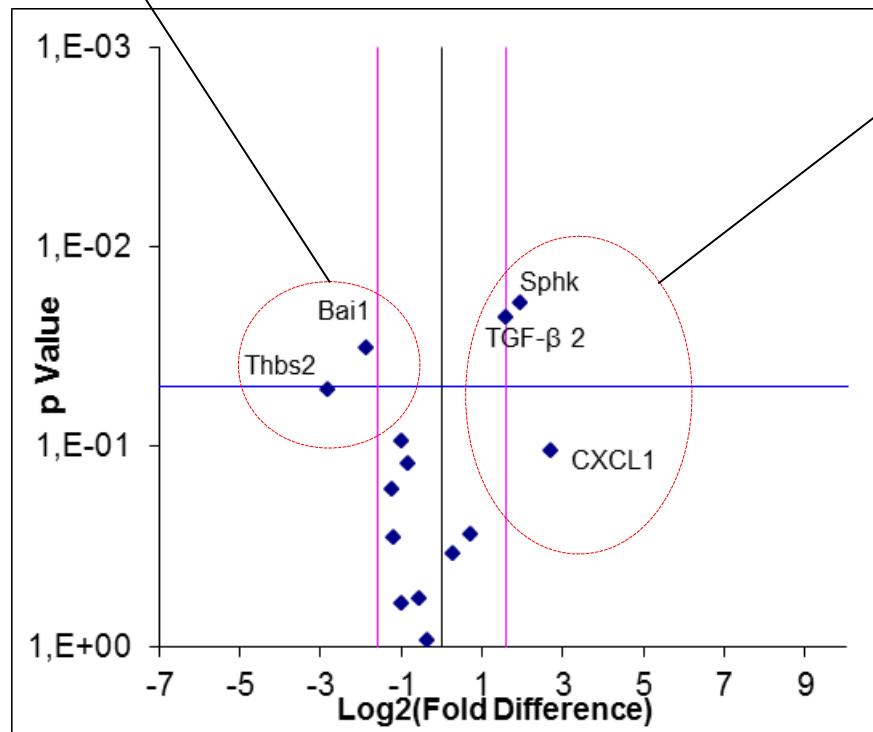
Caractérisation du support angiogénique réalisé par les cellules myéloïdes lors de la cicatrisation



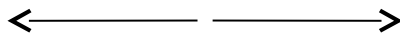
Les cellules myéloïdes fœtales sécrètent différents facteurs angiogeniques

Inhibiteurs

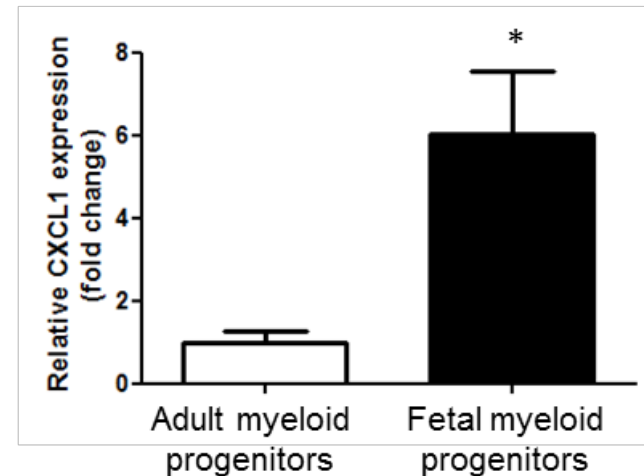
Activateurs



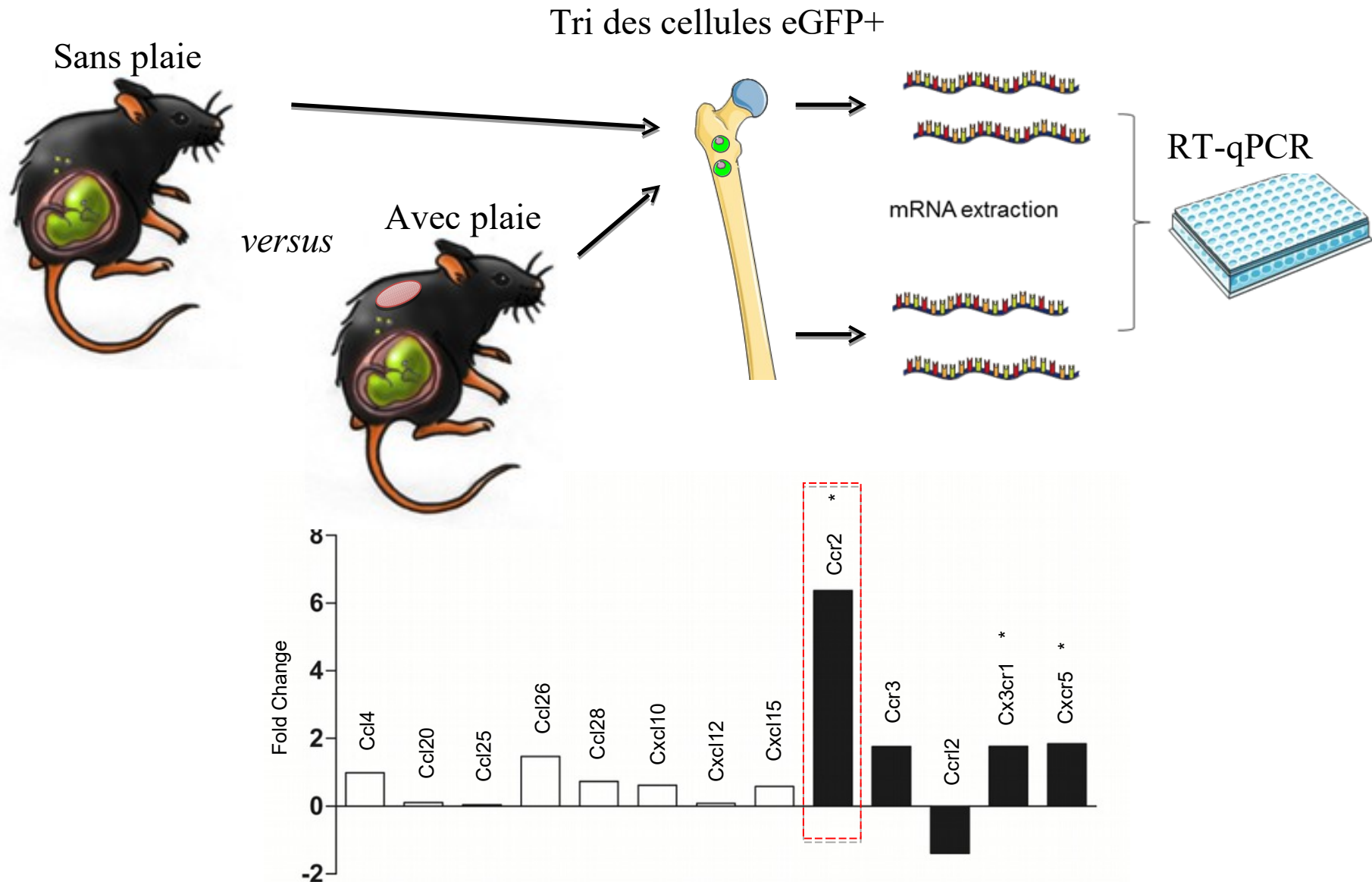
Cellules
adultes



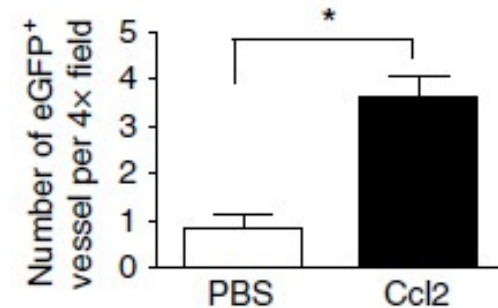
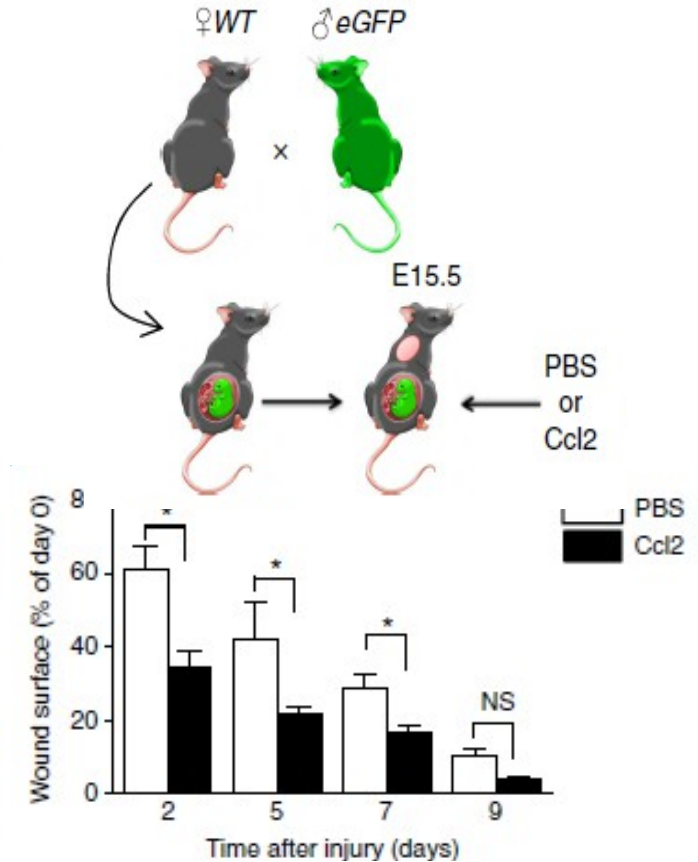
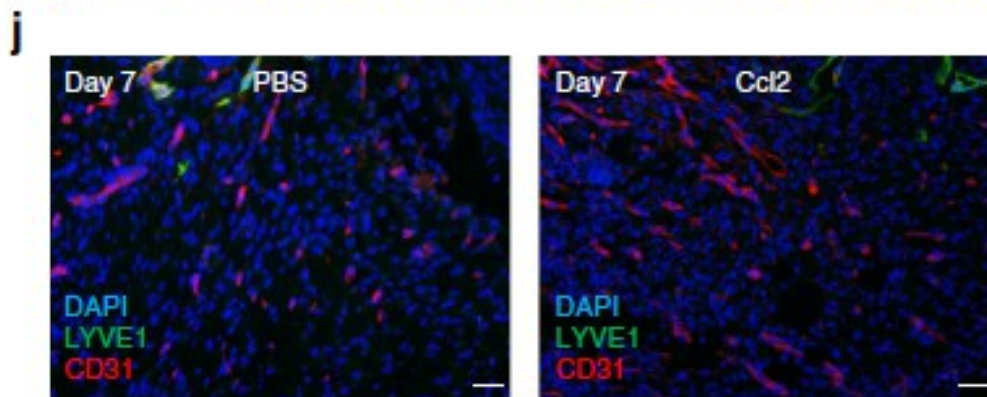
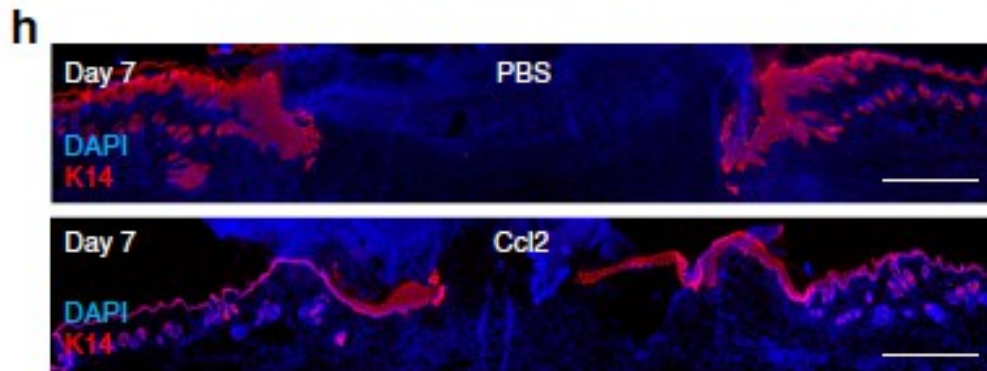
Cellules
fœtales



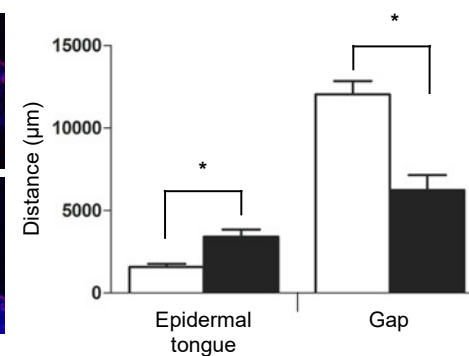
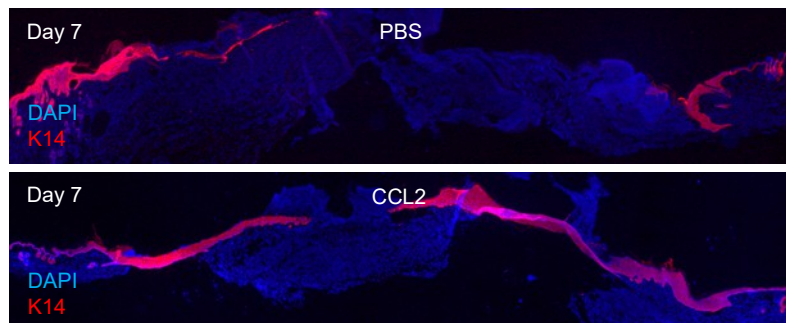
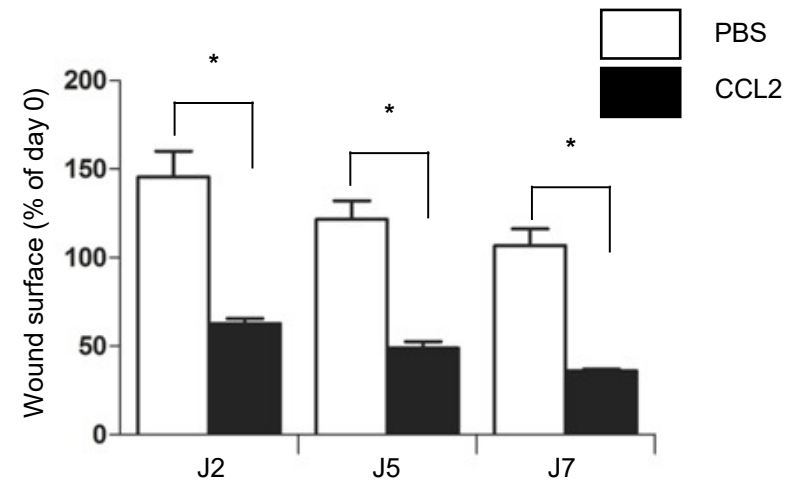
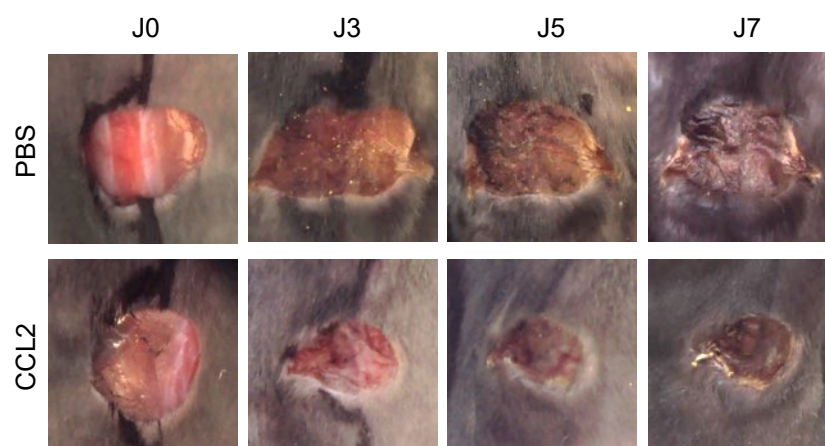
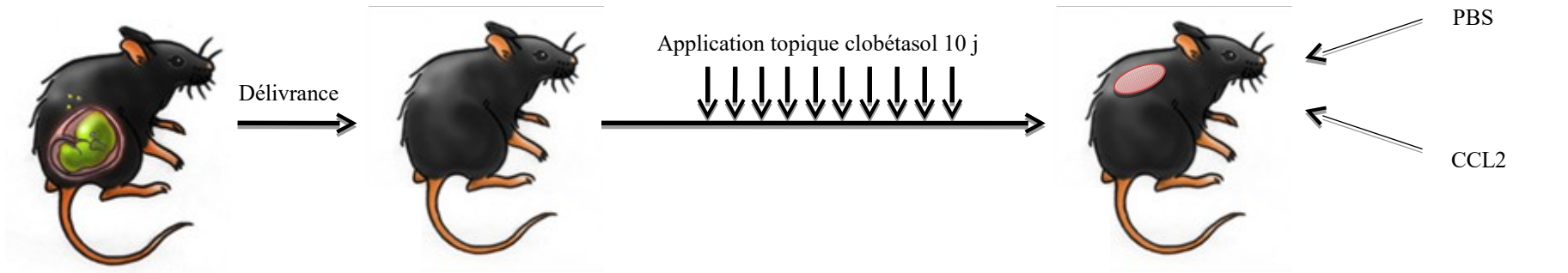
Quelles sont les voies de mobilisation des CFM lors de la cicatrisation maternelle ?



Une faible dose de Ccl2 injectée dans la plaie amplifie le recrutement de cellules foetales et accélère la cicatrisation



Ccl2 restaure un phénotype normal aux souris post-gestantes présentant un retard de cicatrisation



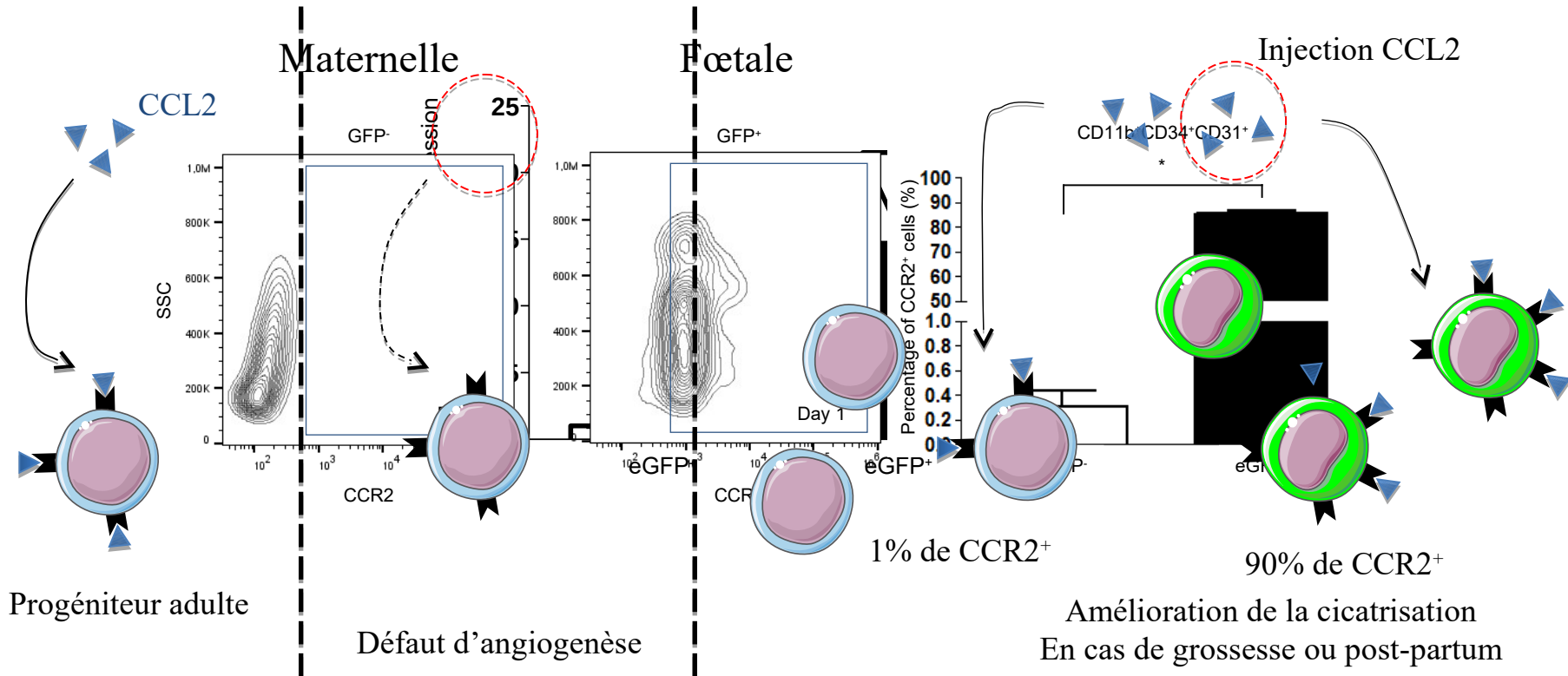
CCL2, cicatrisation et cellules fœtales

- La concentration de CCR2 est plus élevée dans les populations fœtales qu'adultes
- Le pourcentage de cellules CCR2⁺ est plus élevé dans les populations fœtales qu'adultes
- Conséquence : en injectant de faibles doses de CCL2, il existe une mobilisation/migration élective des populations fœtales sans inflammation ni fibrose

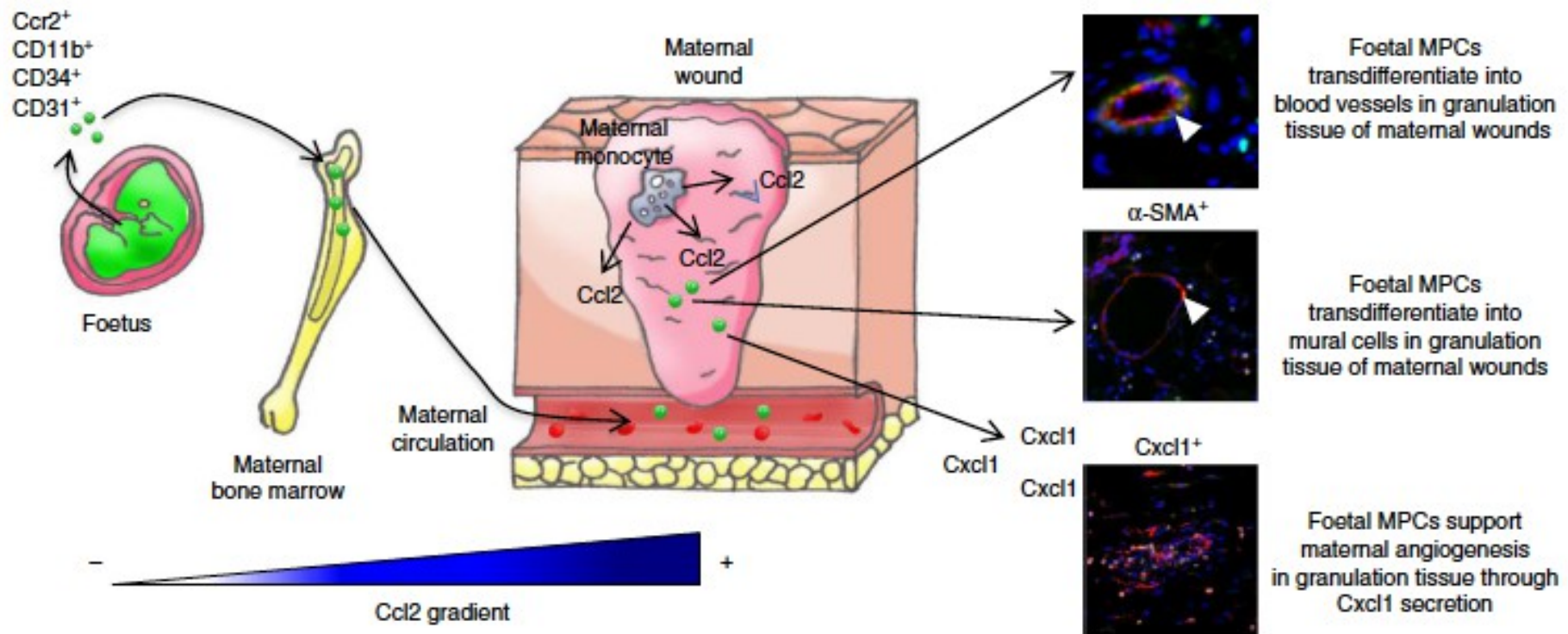
Cicatrisation normale

Plaies diabétiques

Cicatrisation et microchimérisme



Pregnancy



ARTICLE

Received 31 May 2016 | Accepted 31 Mar 2017 | Published 18 May 2017

DOI: 10.1038/ncomms15463

OPEN

Ccl2/Ccr2 signalling recruits a distinct fetal microchimeric population that rescues delayed maternal wound healing

Mathieu Castela^{1,2}, Dany Nassar^{3,4,*}, Maria Sbeih^{1,2,*}, Marie Jachiet^{1,2,3}, Zhe Wang^{1,**} & Selim Aractingi^{1,3,5,**}

Natural Stem Cell Therapy ?

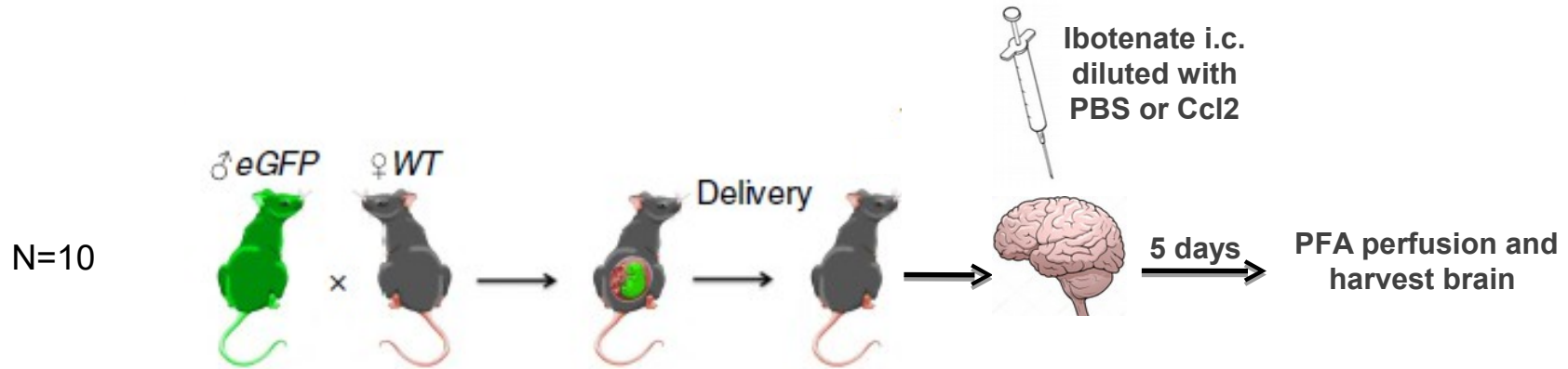
- Expansion virtuellement illimitée
- Multi ou pluripotence
- Télomères plus longs
- Expression de marqueurs de pluripotence
markers comme oct-4, rex-1, et nanog *Guillot PV, 2006*
- Potentiel ostéogénique supérieur pour les MSC
Guillot PV, 2008
- Se mobilisent en réponse aux mêmes signaux?

Multiparity improves outcomes after cerebral ischemia in female mice despite features of increased metabovascular risk

Rodney M. Ritzel^a, Anita R. Patel^b, Monica Spsychala^c, Rajkumar Verma^b, Joshua Crapser^b, Edward C. Koellhoffer^c, Anna Schrecengost^b, Evan R. Jellison^d, Liang Zhu^c, Venugopal Reddy Venna^c, and Louise D. McCullough^{c,1}

Tester l'effet de Ccl2 sur la réparation d'autres organes maternels lésés que la peau: le cerveau

A) Modèle de lésions cérébrales par iboténate



Collaboration avec Pierre Gressens (Hôpital Robert Debré)

Conclusion

- Les cellules fœtales nichent chez les femmes normales et sont bien tolérées par le système immunitaire maternel
- Différents processus lésionnels dans de multiples organes induisent la mobilisation de progéniteurs fœtaux
- Les progéniteurs fœtaux dans la peau, le cœur et le cerveau se différencient en
 - Cellules Endothéliales
 - Cellules Mésenchymateuses incluant des cardiomyocytes pulsatiles ou des fibroblastes produisant du collagène
 - Leucocytes

Conclusion

- Les progéniteurs foëtaux ont divers avantages par comparaison à leurs homologues maternels :
 - Génotype différent (WT vs disease)
 - Capacité de prolifération et de pluripotence accrues
- Le tri de ces cellules est maintenant possible
- La capacité de stimuler la mobilisation de ces cellules pour aider à la réparation maternelle semble une stratégie alternative à certaines modalités de thérapie cellulaire