



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



# Cellules Souches: leur utilisation pour les blessures de guerre

*Médecin Chef des Services LATAILLADÉ 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](mailto: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

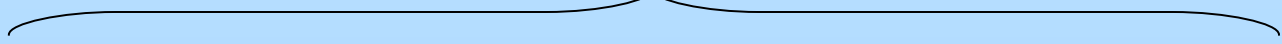
Dans chaque tissu, les CS **multipotentes** servent à remplacer les cellules qui meurent et à réparer une lésion pour assurer son bon fonctionnement



# Cellules Souches Mésoenchymateuses: CS adultes multipotentes



Prolifération



Différenciation



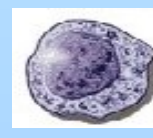
Chondrocytes



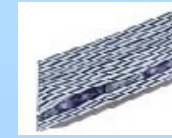
Ostéocytes



Myotubes



Stroma

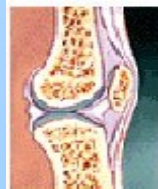


Fibroblastes



Cellule Endo

Maturation



Cartilage



Os



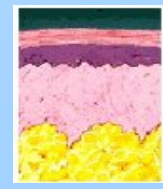
Muscle



Moelle



Tendon

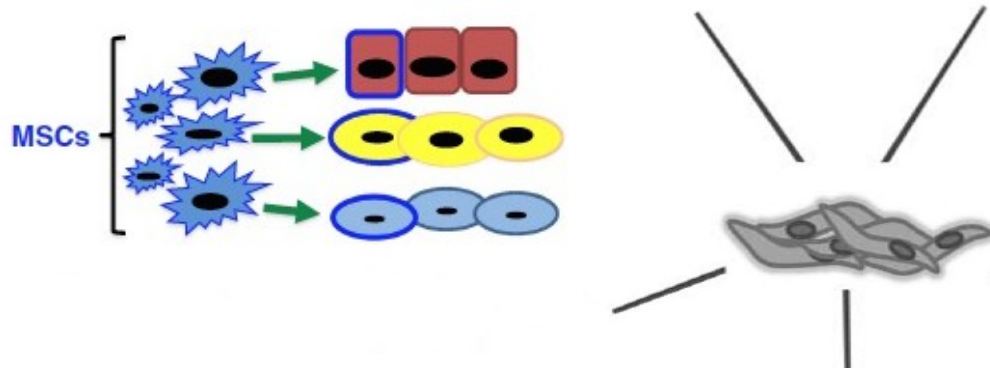


Endothélium

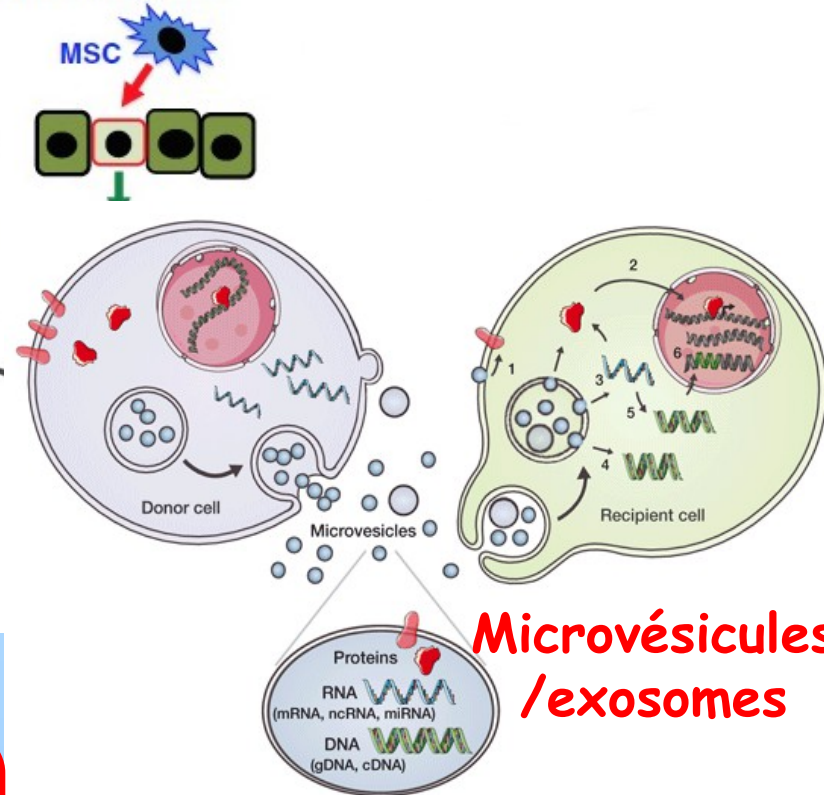
# Cellules Stromales Mésoenchymateuses

## Différenciation

a. Differentiation of MSCs to replace cells.

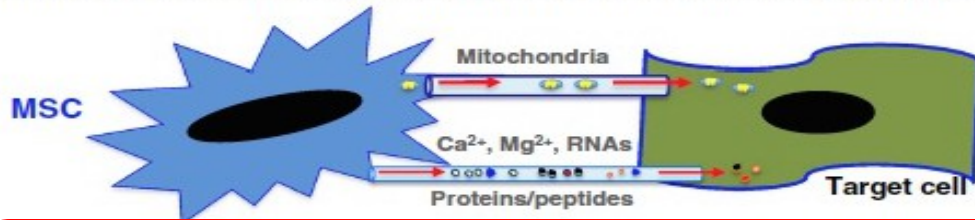


b. MSC/cell fusion.

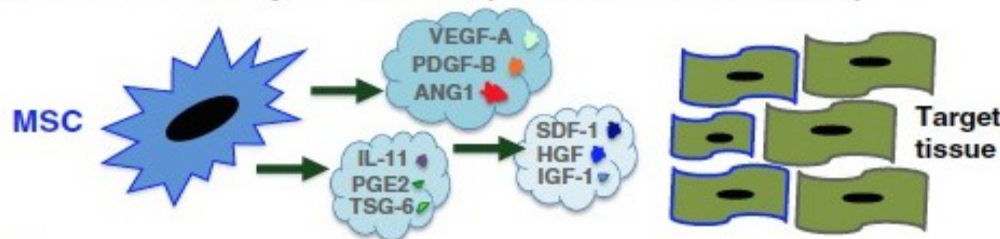


**Microvésicules / exosomes**

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

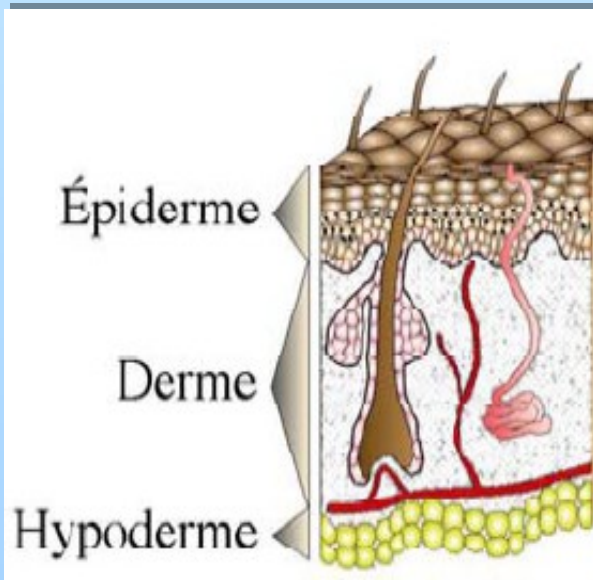
Cell migration & stimulation

**Paracrinie**

Arteriogenesis

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

# Différentes sources de CSM



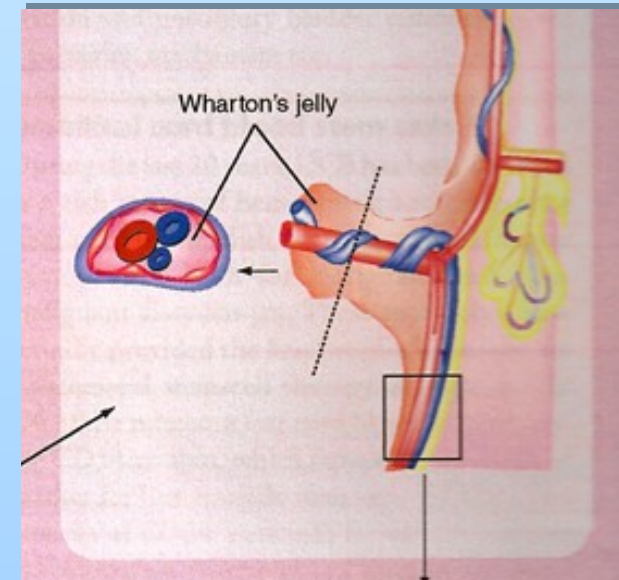
## Peau

(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**



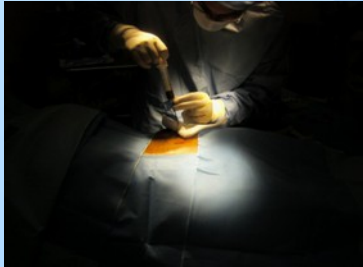
# Prérequis pour une autorisation à produire des MTI

- **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...

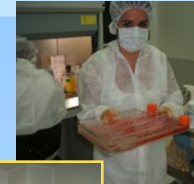


# Production de CSM de grade thérapeutique

1) Prélèvement  
de moelle (40 mL)



Safe closed system



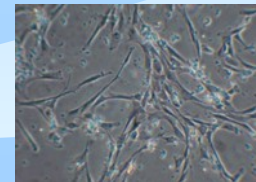
2) Production de CSM

Unité de production MTI  
(CTSA-Hôpital Percy)

3) Culture de  
CSM



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



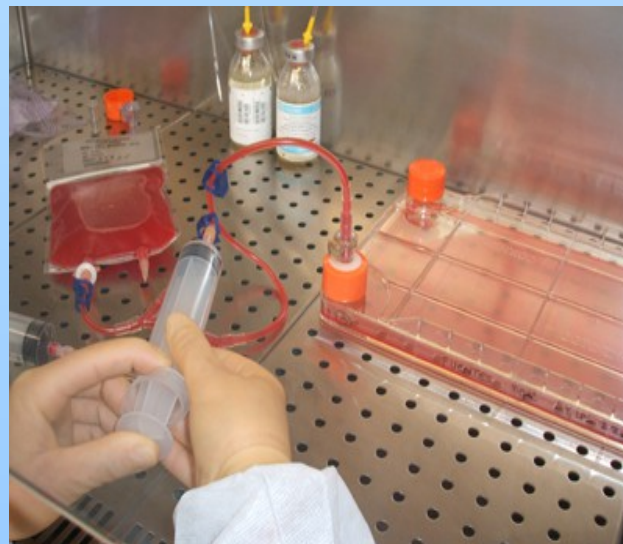
21 jours

5) Injection  
de CSM



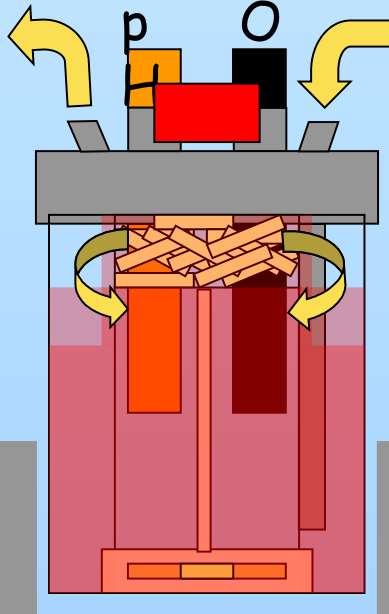
AMM MTI-PP  
Octobre 2015  
et Septembre  
2018

# 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°C



# Applications cliniques: 750 essais en 2017

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

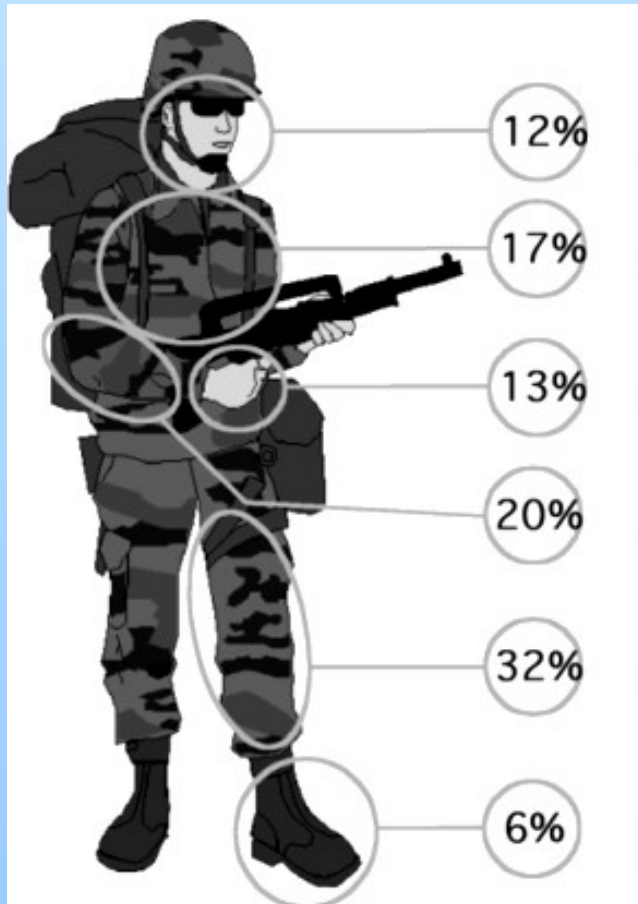
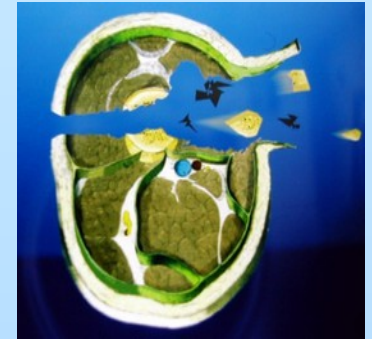
Targeted condition	Phases, number of studies [targeted enrollment]					
	I	II	III	IV	V	VI
<b>Bone/cartilage disorders</b>						
Bone cysts	1 [6]		1 [10]			
<b>Bone neoplasms</b>						
Cartilage defect	1 [50]		2 [38]	1 [100]		1 [50]
Degenerative osteoarthritis			2 [30]			1 [25]
Distraction osteogenesis	1 [6]					
Fractures	2 [16]		1 [24]	1 [40]		
Ligament injury			1 [24]	1 [10]		
Meniscectomy			2 [110]			
<b>Osteoarthritis</b>	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]			
<b>Hematologic disorders</b>						
Aplastic anemia			2 [30]	1 [30]		
BLT	1 [125]		3 [40]	3 [125]		
<b>GVHD</b>	2 [59]		6 [130]	6 [288]	1 [100]	1 [240]
Myelodysplastic syndrome				1 [30]		
<b>Diabetes</b>						
Type 1	1 [24]		5 [168]	1 [60]		1 [80]
Type 2	1 [24]		3 [170]			
<b>Liver diseases</b>						
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]			
<b>Cardiovascular diseases</b>						
Dilated cardiomyopathy			2 [66]	2 [80]		
<b>Heart failure</b>			3 [172]	4 [160]		
Myocardial infarction	1 [59]		2 [45]	2 [390]	1 [80]	2 [165]
Myocardial ischemia	2 [144]		3 [89]	1 [60]		
<b>Gastrointestinal diseases</b>						
<b>Crohn's disease</b>			3 [56]	1 [10]		4 [896]
Fistula in ano			1 [10]	1 [40]		
Ulcerative colitis			1 [50]			
Romberg's disease				1 [5]		
<b>Spinal cord injury</b>	4 [53]		2 [100]	2 [90]	1 [32]	
<b>Stroke</b>	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



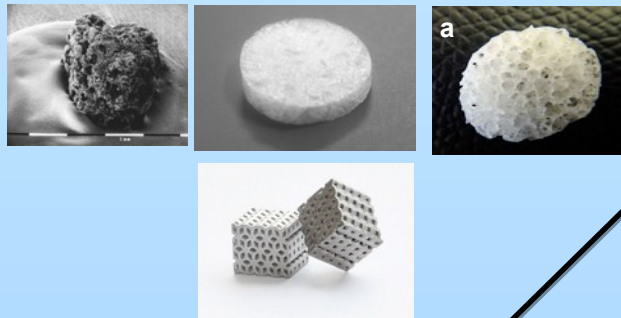
J0+15 mois



**Problème de réparation/complications**

# Les stratégies d'amélioration de la réparation osseuse

## Biomatériaux simples bioactivés



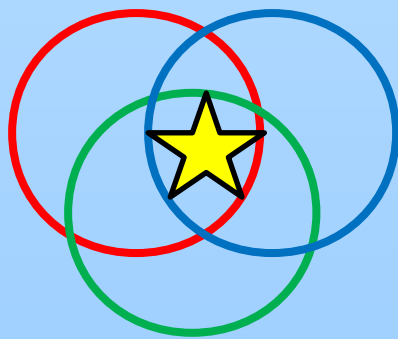
Modèle rat



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

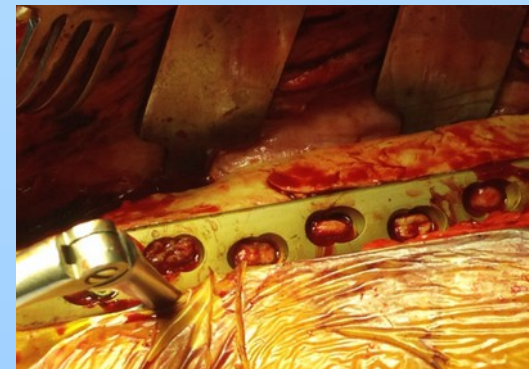
- Patients
- Modèle rat

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 ( $\mu$ CT), Numérations sanguines,  
Cytométrie, Histologie, Dosages cytokines.....

Réparation osseuse  
Angiogénèse

Inflammation  
Effet LP?

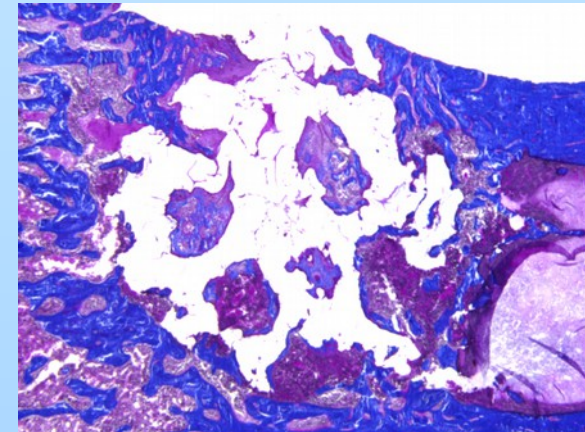
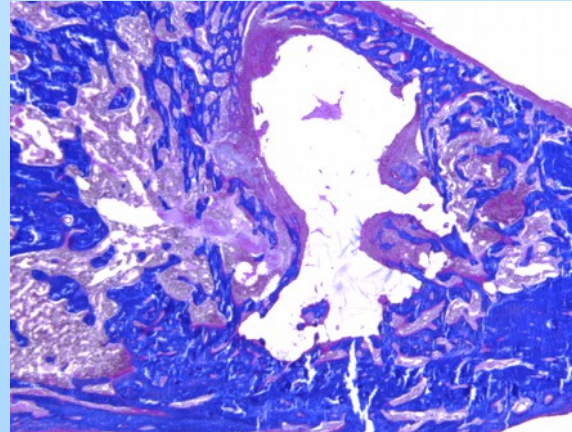
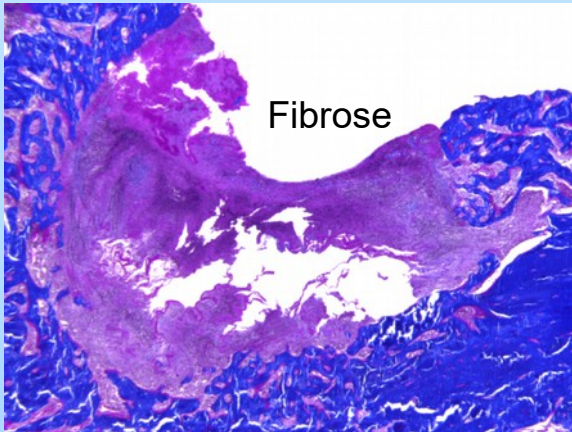
# PCL-U fonctionnalisé avec Lysat Plaquettaire: Analyse histologique

Témoin J15

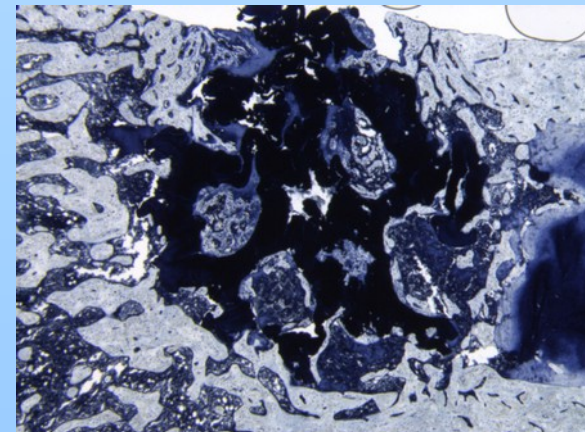
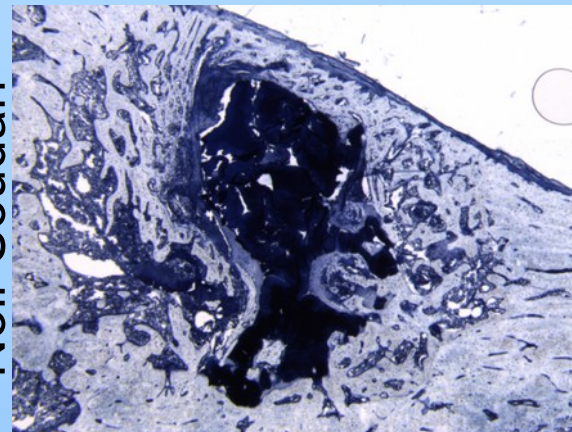
PCLU J15

PCLU-LP J15

Trichrome de Masson



Noir Soudan



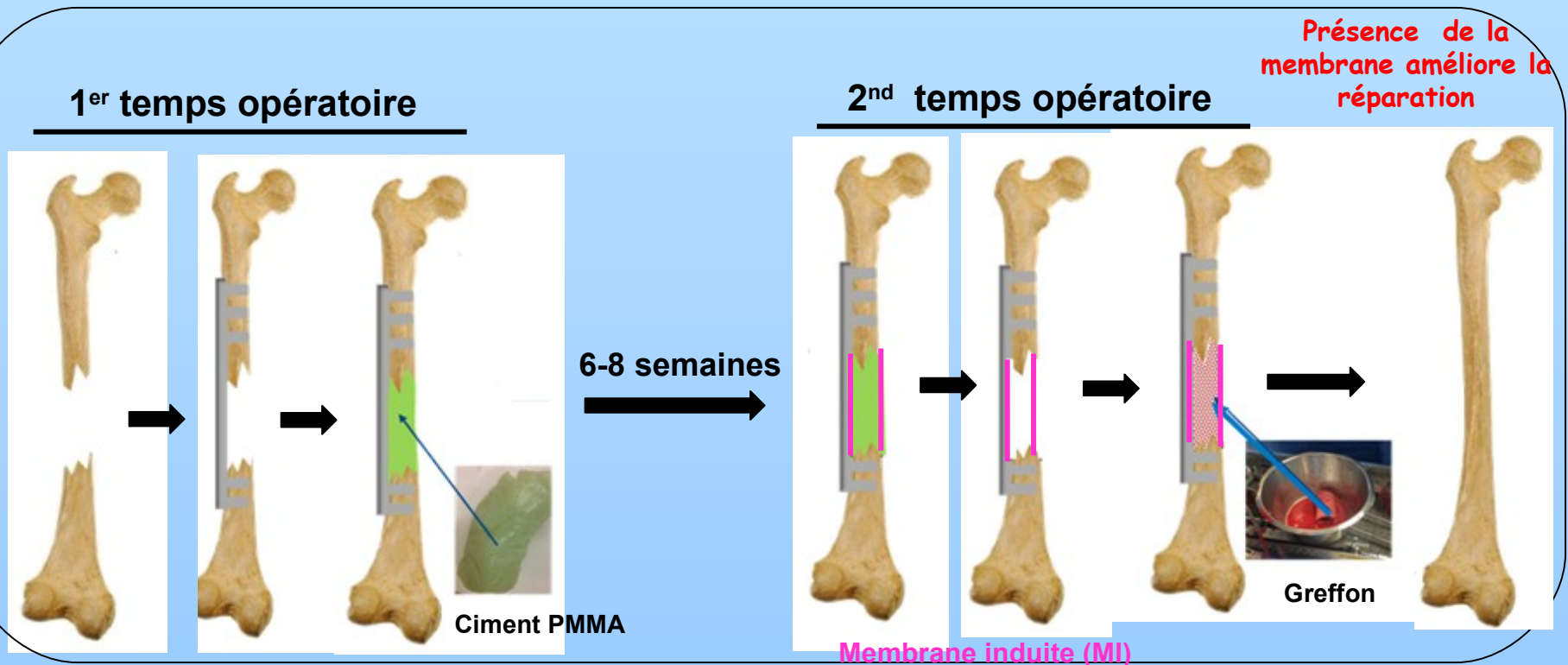
**PCLU et PCLU + LP  
améliorent la réparation  
osseuse (fermeture corticale  
et remplissage cavité)**

# Technique de la Membrane induite de Masquelet

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

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

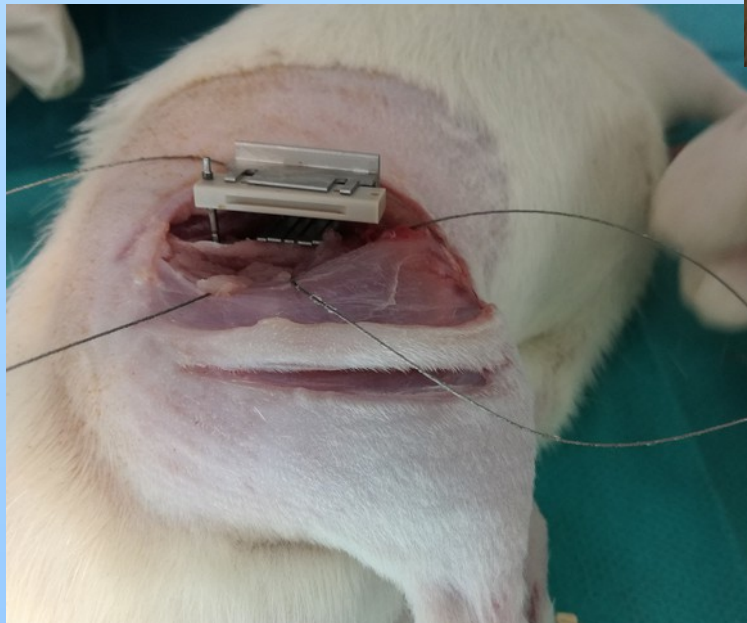
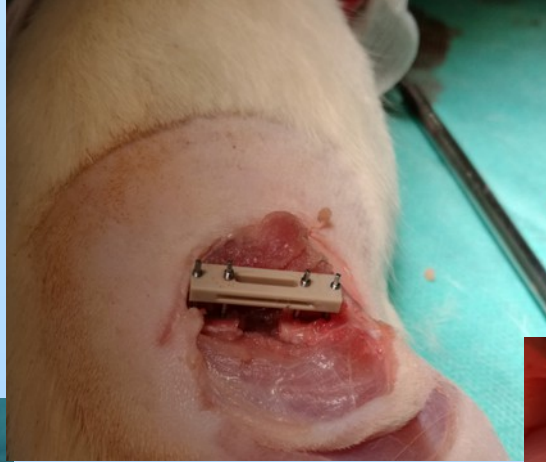
- 2<sup>ème</sup> temps opératoire: traitement habituel par greffon osseux autologue





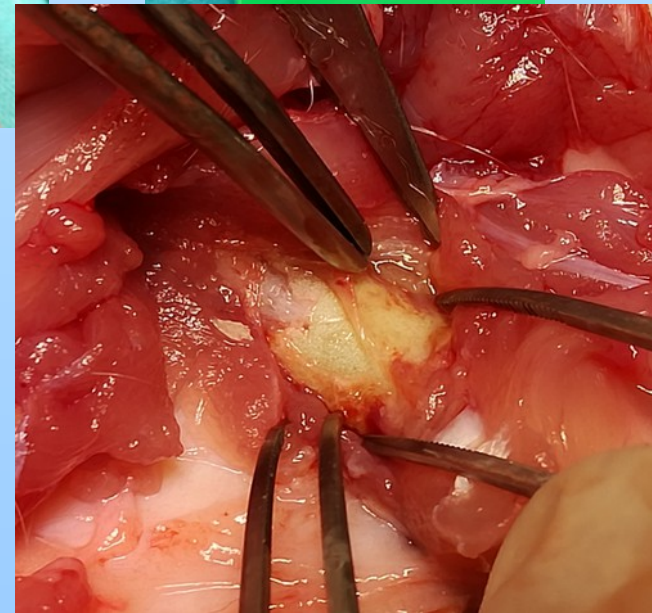
# Amélioration de la technique de Masquelet

- 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 <sup>2</sup>	31 <sup>a</sup>	Local	76. 10 <sup>6</sup>	autologous	1	Skin autograft	
Patient 1 (Chili 2005)		Left buttock	IV	80 cm <sup>2</sup>	2000 <sup>c</sup>	Local	386. 10 <sup>6</sup>	autologous	2	Surgery	
Patient 2 (Sénégal 2007)		Left arm	IV	250 cm <sup>2</sup>	53.5 <sup>a</sup>	Local	761. 10 <sup>6</sup>	autologous	5	Surgery	
Patient 3 (Tunisie 2008)		Left hand	IV	100 cm <sup>2</sup>	38 <sup>a</sup>	Local	406. 10 <sup>6</sup>	autologous	2	Skin autograft	
Patient 4 (Equateur 2009)		Right leg	IV	400 cm <sup>2</sup>	4200 <sup>c</sup>	Local	1238. 10 <sup>6</sup>	autologous	6	Surgery	
Patient 5 (FJ) (Vénézuéla 2010)		Left and right hand	IV	100 cm <sup>2</sup>	40 <sup>a</sup>	Local	260. 10 <sup>6</sup>	autologous	5	Skin autograft	
Patient 6 (EB) (Gabon 2010)		Left hand	IV	30 cm <sup>2</sup>	35 <sup>b</sup>	Local	76. 10 <sup>6</sup>	autologous	2	Skin autograft	
Patient 7 (FR) (Chili 2011)		Right foot	IV	20 cm <sup>2</sup>	23 <sup>a</sup>	Local	18. 10 <sup>6</sup>	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<sup>ère</sup> 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)



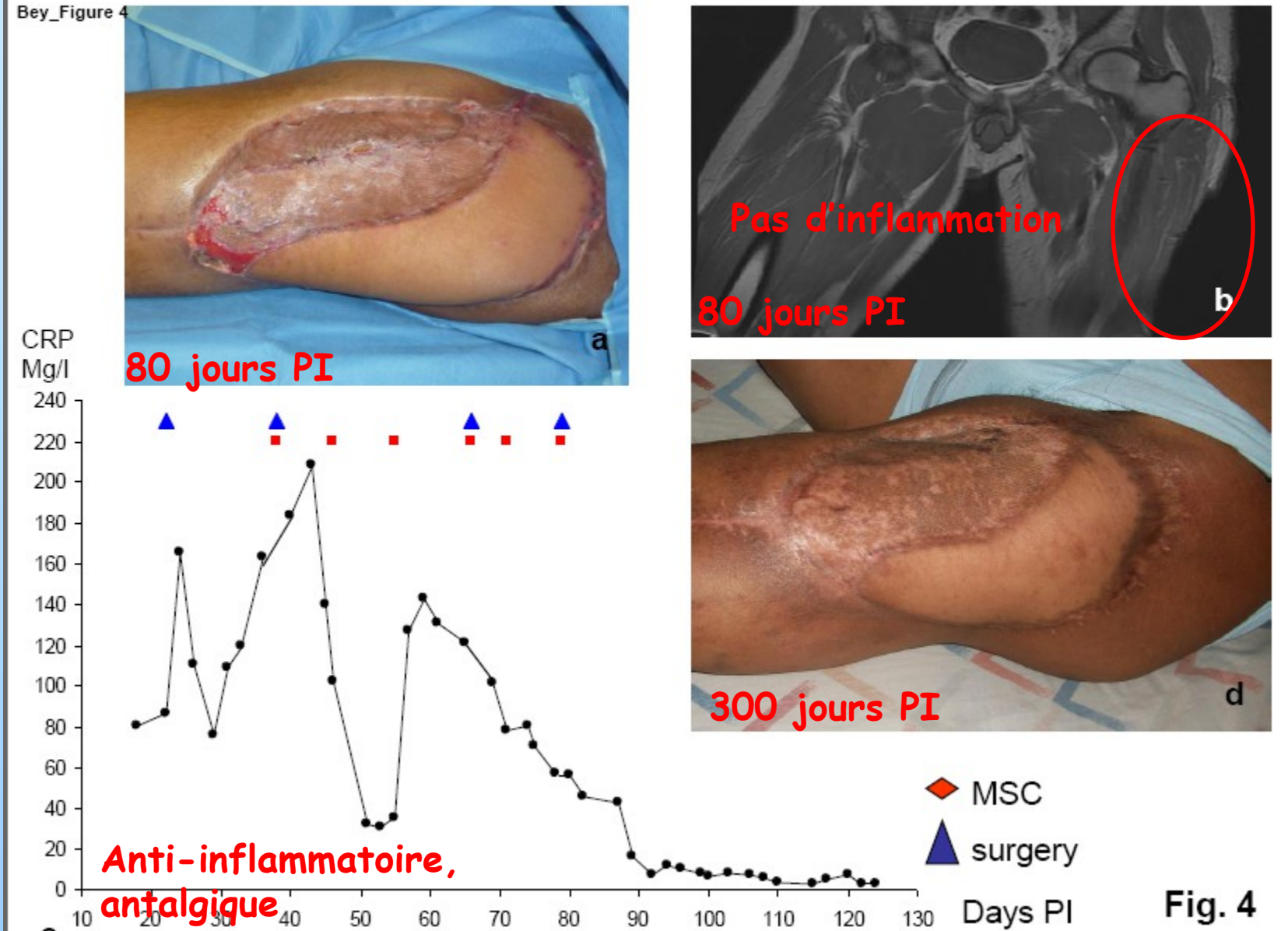
d

e

c



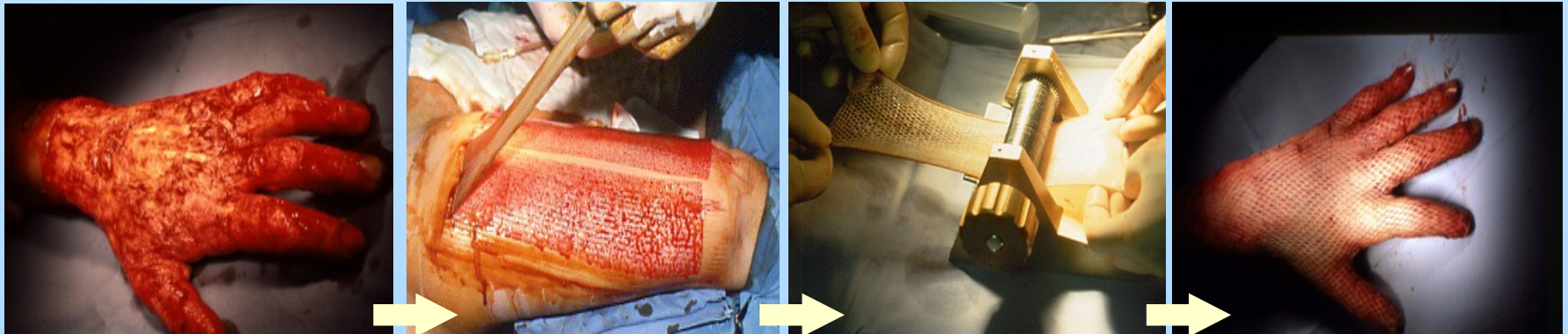
# Brûlures cutanées radio-induites





# 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)

Greffe

## Inconvénients immédiats:

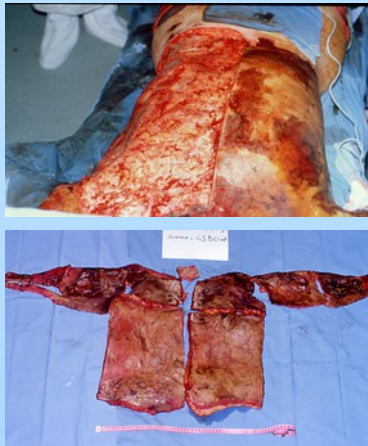
Saignement  
Douleur  
Zone de prélèvement problématique  
pour un grand brûlé

## Inconvénients lointains

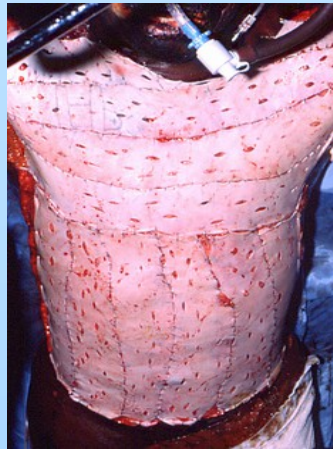
Cicatrices en résilles sur la zone  
greffés  
Cicatrices de la zone prélevée

# 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

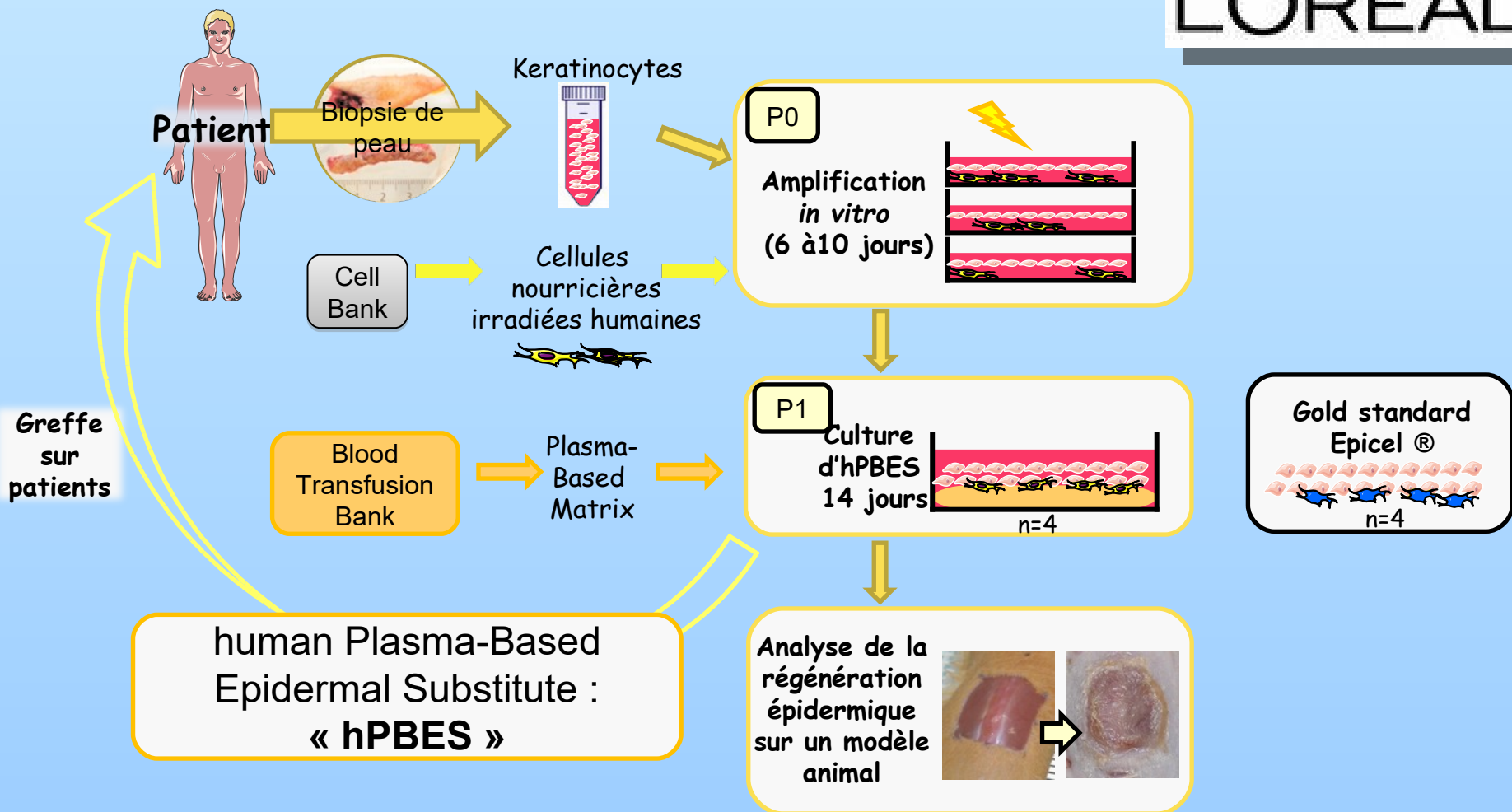


Pose de greffon  
épidermique  
autologue sur  
un derme  
régénéré

**Préparation en parallèle de feuillets  
épidermiques autologues**

# Développement de substituts épidermiques: Protocole de culture

L'ORÉAL



M. Alexaline et al. Stem Cell Translational Medicine 2015

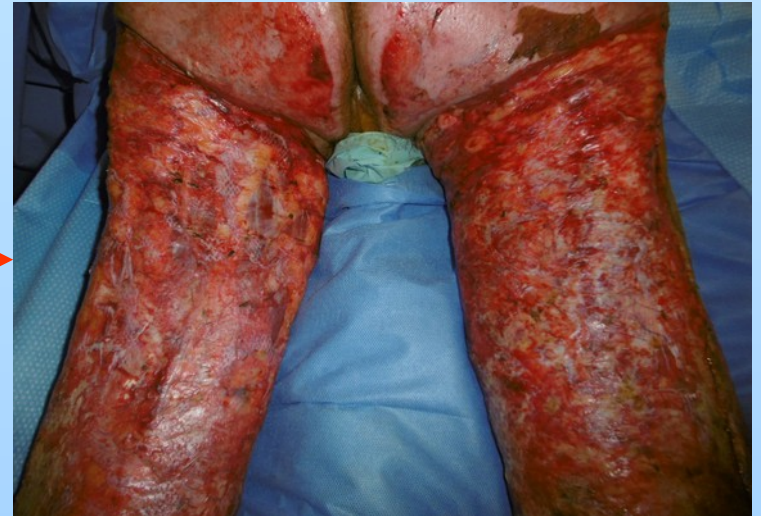
Essai clinique multicentrique en préparation (APHP St Louis, HCL HEH)



# 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<sup>er</sup> patient

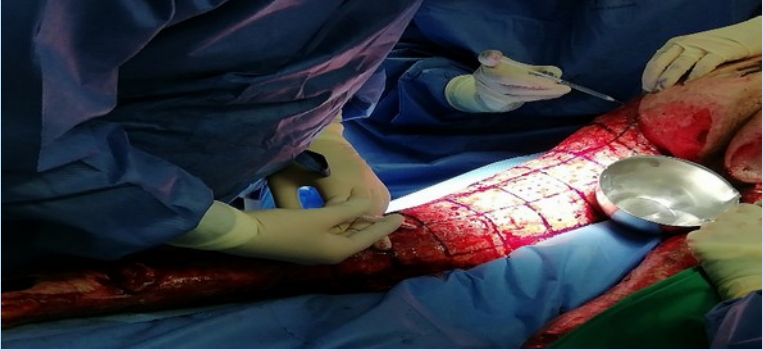


# Cellules Stromales Mésoenchymateuses et Brûlures Thermiques graves



Couverture par autogreffes expansées en pastilles (Humeca)

+  
CSM



(M+1)

+  
Kéra



(M+1)

Autorisation MTI-PP 2018: 1<sup>er</sup> patient