

SYNMECARI : Synergism between human mesenchymal and endothelial stem cells in cell therapy of acute renal failure

BIOLOGIE & SANTÉ 2011



Programme Physiopathologie des maladies humaines - 2007

Coordinateur : Pr. Daniel Cussac (INSERM U1048, I2MC, équipe 6, Toulouse)

Partenaires : Pr. Françoise Dignat-George (INSERM UMR S-608, Marseille)

Contexte scientifique - objectifs

En dépit des progrès dans le domaine de la thérapie intensive, la mortalité liée à l'insuffisance rénale aiguë est encore très élevée. Des études récentes ont démontré que l'administration systémique de cellules souches mésenchymateuses (CSMs) réduit les dommages rénaux post-ischémiques et favorise la reprise de la fonction rénale. Dans notre laboratoire, nous avons mis au point une stratégie de préconditionnement par la mélatonine qui augmente la survie des cellules mésenchymateuses après injection intrarénale, stimule la sécrétion de facteurs mitogènes/angiogéniques et accélère la reprise de la fonction rénale. En continuité avec ces résultats, ce projet de recherche à consister à 1/ étudier *in vitro* les effets paracrines des CSMs humaines traitées ou non traitées par la mélatonine sur les cellules endothéliales matures et les précurseurs des cellules endothéliales (PCE), 2/ caractériser les mécanismes cellulaires impliqués dans la régulation des cellules endothéliales matures et les PCEs et 3/ évaluer des nouvelles stratégies thérapeutiques qui combinent le préconditionnement des CSMs et les synergies entre CSMs et PCEs.

Résultats

Les premières expériences ont permis d'évaluer certains effets de la greffe de CSMs de rat traitées par la mélatonine suite à une ischémie-reperfusion rénale. Ces travaux se sont plus particulièrement concentrés sur les effets pro-angiogéniques / anti-fibrotiques des CSMs et ont consisté à mieux caractériser *in vivo* les différentes néo-structures vasculaires ainsi que des modifications de la fibrose tissulaire observées après la greffe. Ces études ont aussi été conduites *in vitro* en évaluant les effets de surnageants de CSMs sur des cellules endothéliales humaines et leurs progéniteurs ainsi que sur des fibroblastes ou des myofibroblastes (*facteurs sécrétés par la cellule donneuse, « acteurs cellulaires » de la cellule cible, mécanismes moléculaires...*). De plus, l'étude de l'influence de la mélatonine sur la sécrétion, par les CSMs, de certains facteurs pouvant rendre compte d'effets bénéfiques observés après la greffe cellulaire a été poursuivie. Une partie de ces travaux a fait appel à un modèle complémentaire (*ischémie cardiaque*) permettant d'étendre ces mécanismes à d'autres tissus de la sphère cardiovasculaire. Les résultats ont permis de :
1) révéler une augmentation du nombre de structures vasculaires au sein des zones injectées avec les CSMs pré-traitées par la mélatonine. L'examen plus détaillé de ces zones révèle la présence de vaisseaux de diamètre variable avec des capillaires contenant des hématies attestant de la fonctionnalité de ce réseau vasculaire. Des approches utilisant des CSMs humaines indiquent que leurs milieux conditionnés ont un effet stimulant sur la prolifération des PCE et leur organisation en structures tubulaires en Matrigel®. En revanche, ces effets ne sont pas significativement accrus par l'exposition des CSMs à la mélatonine. Des expériences de migration (*comblement d'une lésion mécanique*) et de chimiotactisme (*Transwell*) nous ont permis de mettre en évidence

d'autres effets paracrines pro-angiogéniques des CSMs sur les PCE.

2) caractériser certains facteurs libérés par les CSMs (*cytokine-antibody array*) pouvant jouer un rôle dans l'angiogenèse en régulant les processus de prolifération, de migration ou le chimiotactisme (*VEGF, HGF, IGF-1, angiopoïétines 1 et 2, angiogénine, FGF-2, -4, -9, SDF-1...*). Par ailleurs, nous avons étudié les effets des milieux conditionnés de CSMs sur un profil d'expression génique (angiogenèse, prolifération, molécules d'adhésion, cytokines, protéases ...) des PCEs par « RT-PCR-array ». Les premiers résultats sur deux clones différents de PCEs montrent que les milieux conditionnés de CSMs diminuent l'expression de gènes classés comme pro-inflammatoires (*TNF, Fractalkine, ICAM-1, CXCR5, GM-CSF*) et l'expression du récepteur à l'endothéline de type A (*EDNRA*) à 4 heures.

3) apprécier la modulation du degré de fibrose *in vivo* après greffe intratissulaire. Nous avons aussi pu mettre en évidence que les CSMs, au travers de leur activité paracrine, pouvaient influencer *ex-vivo* l'activité de fibroblastes résidents.

Conclusion - perspectives

L'ensemble de nos résultats a permis d'avancer dans la compréhension des effets bénéfiques de la greffe de CSMs en thérapie cellulaire et plus particulièrement dans leurs interactions avec les PCE. La suite de ces travaux consiste à déterminer les modifications phénotypiques et/ou fonctionnelles des PEC sous l'effet de facteurs paracrines des CSMs et devrait nous permettre de mieux 1) comprendre l'impact pro-angiogénique des CSMs *in vivo*, 2) optimiser l'utilisation des PCE en thérapie cellulaire (*pré-stimulation avant greffe par exemple*) et 3) déterminer les mécanismes moléculaires rendant compte d'une maturation des PCE.

Au-delà de l'ensemble des résultats obtenus, ce programme a permis de créer un fort partenariat durable entre les 2 équipes. Ceci se traduit par la mise en œuvre de nouveaux programmes de recherches prometteuses qui devraient permettre de mieux comprendre à l'échelon moléculaire les coopérations intercellulaires entre les CSMs et les PCE.

Valorisation

- Mias C *et al.* *Melatonin pretreatment improves survival, paracrine activity and efficiency of mesenchymal stem cells in failing kidney* **Stem cells**, 2008. 26(7) : 1749-57
- Mias C *et al.* *Mesenchymal stem cells promote matrix metalloproteinase secretion by cardiac fibroblasts and reduce cardiac ventricular fibrosis after myocardial infarction* **Stem cells**, 2009 Nov;27(11):2734-43.
- Alfarano C *et al.* *In vivo-independent effects of bone marrow mesenchymal stem cells on renal fibrosis induced by ischemia reperfusion injury and ciclosporin.*

En révision

- 1 article en fin de rédaction
- 5 communications dans des congrès internationaux
- 2 actes de congrès publiés

CONTACT :

daniel.cussac@inserm.fr
francoise.dignat-george@univmed.fr



colloquebiosante@agencerecherche.fr