

**THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Soutenue publiquement le 19 décembre 2025
Par Mme DHERBECOURT Chloé**

**Applications thérapeutiques des
cellules stromales mésenchymateuses**

Membres du jury :

Président et Directeur, conseiller de thèse :

Monsieur CARNOY Christophe, Professeur des Universités – Immunologie –
Département de pharmacie, Université de Lille

Assesseur(s) :

Madame DEMARET Julie, Maître de Conférences et Praticien Hospitalier (MCU-PH)
– Immunologie – Département de pharmacie, Université de Lille, CHU de Lille

Membres extérieurs :

Madame BOUVATIER Virginie, Pharmacien, Senior Medical Advisor, Lyon
Madame DEGAND Claire, Pharmacien, Docteur en sciences – onco-hématologie –
Responsable Médical Régional, Paris

Université de Lille

Président
Premier Vice-président
Vice-présidente Formation
Vice-président Recherche
Vice-président Ressources Humaine
Directrice Générale des Services

Régis BORDET
Bertrand DÉCAUDIN
Corinne ROBACZEWSKI
Olivier COLOT
Jean-Philippe TRICOIT
Anne-Valérie CHIRIS-FABRE

UFR3S

Doyen
Premier Vice-Doyen, Vice-Doyen RH, SI et Qualité
Vice-Doyenne Recherche
Vice-Doyen Finances et Patrimoine
Vice-Doyen International
Vice-Doyen Coordination pluriprofessionnelle et Formations sanitaires
Vice-Doyenne Formation tout au long de la vie
Vice-Doyen Territoire-Partenariats
Vice-Doyen Santé numérique et Communication
Vice-Doyenne Vie de Campus
Vice-Doyen étudiant

Dominique LACROIX
Hervé HUBERT
Karine FAURE
Emmanuelle LIPKA
Vincent DERAMECOURT
Sébastien D'HARANCY
Caroline LANIER
Thomas MORGENROTH
Vincent SOBANSKI
Anne-Laure BARBOTIN
Victor HELENA

Faculté de Pharmacie

Vice - Doyen
Premier Assesseur et
Assesseur à la Santé et à l'Accompagnement
Assesseur à la Vie de la Faculté et
Assesseur aux Ressources et Personnels
Responsable de l'Administration et du Pilotage
Représentant étudiant
Chargé de mission 1er cycle
Chargée de mission 2eme cycle
Chargé de mission Accompagnement et Formation à la Recherche
Chargé de mission Relations Internationales
Chargée de Mission Qualité
Chargé de mission dossier HCERES

Pascal ODOU

Anne GARAT

Emmanuelle LIPKA
Cyrille PORTA
Honoré GUISE
Philippe GERVOIS
Héloïse HENRY
Nicolas WILLAND
Christophe FURMAN
Marie-Françoise ODOU
Réjane LESTRELIN

Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers (PU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie et Santé publique	81
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie	82
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
M.	DINE	Thierry	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie	82

Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie - Virologie	82
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	ODOU	Pascal	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	POULAIN	Stéphanie	Hématologie	82
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	STAELS	Bart	Biologie cellulaire	82

Professeurs des Universités (PU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	ALIOUAT	Cécile-Marie	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Biophysique - RMN	85
M.	BERLARBI	Karim	Physiologie	86
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie	87
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie	87
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques	87
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Biophysique - RMN	85
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie thérapeutique	86
M.	DEPREZ	Benoît	Chimie bio inorganique	85
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire	87
M.	ELATI	Mohamed	Biomathématiques	27
M.	FOLIGNÉ	Benoît	Bactériologie - Virologie	87
Mme	FOULON	Catherine	Chimie analytique	85
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie et Santé publique	86
M.	GOOSSENS	Jean-François	Chimie analytique	85
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie	86

M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique	86
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques	26
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie cellulaire	87
Mme	LESTRELIN	Réjane	Biologie cellulaire	87
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie analytique	85
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie physique	85
M.	MILLET	Régis	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	MOREAU	Pierre-Arthur	Sciences végétales et fongiques	87
Mme	MUHR-TAILLEUX	Anne	Biochimie	87
Mme	PERROY	Anne-Catherine	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	RIVIÈRE	Céline	Pharmacognosie	86
Mme	ROMOND	Marie-Bénédicte	Bactériologie - Virologie	87
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie	86
M.	SERGHERAERT	Éric	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie organique	86

Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers (MCU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	CUVELIER	Élodie	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
Mme	DANEL	Cécile	Chimie analytique	85
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie	82
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie et Santé publique	81
Mme	GENAY	Stéphanie	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
Mme	GILLIOT	Sixtine	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
M.	GRZYCH	Guillaume	Biochimie	82
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80

M.	LANNOY	Damien	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
Mme	ODOU	Marie-Françoise	Bactériologie - Virologie	82

Maitres de Conférences des Universités (MCU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	ANTHÉRIEU	Sébastien	Toxicologie et Santé publique	86
M.	BANTUBUNGI-BLUM	Kadiombo	Biologie cellulaire	87
M.	BERTHET	Jérôme	Biophysique - RMN	85
M	BEDART	Corentin	ICPAL	86
M.	BOCHU	Christophe	Biophysique - RMN	85
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie	86
M.	BOSC	Damien	Chimie thérapeutique	86
Mme	BOU KARROUM	Nour	Chimie bioinorganique	
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie	87
Mme	CARON-HOUDE	Sandrine	Biologie cellulaire	87
Mme	CARRIÉ	Hélène	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	CHARTON	Julie	Chimie organique	86
M.	CHEVALIER	Dany	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques	85
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques	27
M.	EL BAKALI	Jamal	Chimie thérapeutique	86
M.	FARCE	Amaury	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	FLIPO	Marion	Chimie organique	86

M.	FRULEUX	Alexandre	Sciences végétales et fongiques	
M.	FURMAN	Christophe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie	87
Mme	GOOSSENS	Laurence	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie et Santé publique	86
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques	26
Mme	HAMOUDI-BEN YELLES	Chérifa-Mounira	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie	86
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie	87
M.	KAMBIA KPAKPAGA	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	KARROUT	Younes	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie	87
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie analytique	85
Mme	LEHMANN	Hélène	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	LELEU	Natascha	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	LIBERELLE	Maxime	Biophysique - RMN	
Mme	LOINGEVILLE	Florence	Biomathématiques	26
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie	86
M.	MARTIN MENA	Anthony	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	
M.	MENETREY	Quentin	Bactériologie - Virologie	87
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques	85
M.	PIVA	Frank	Biochimie	85
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie et Santé publique	86

M.	POURCET	Benoît	Biochimie	87
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques / Innovations pédagogiques	85
Mme	RAVEZ	Séverine	Chimie thérapeutique	86
Mme	ROGEL	Anne	Immunologie	
M.	ROSA	Mickaël	Hématologie	87
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie	86
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie	87
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie - Virologie	87
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie	87
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Chimie organique	86
M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques	87
M.	YOUS	Saïd	Chimie thérapeutique	86
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques	85

Professeurs certifiés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
Mme	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	HUGES	Dominique	Anglais
Mme	KUBIK	Laurence	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeurs Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	BAILLY	Christian	ICPAL	86
M.	DAO PHAN	Haï Pascal	Chimie thérapeutique	86
M.	DHANANI	Alban	Droit et Economie pharmaceutique	86

Maîtres de Conférences Associés

CIV.	NOM	PRENOM	SERVICE D'ENSEIGNEMENT	SECTION CNU
M	AYED	Elya	Pharmacie officinale	
M.	COUSEIN	Etienne	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques	85
Mme	DANICOURT	Frédérique	Pharmacie officinale	
Mme	DUPIRE	Fanny	Pharmacie officinale	
M.	DUFOSSEZ	François	Biomathématiques	85
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	85
Mme	GEILER	Isabelle	Pharmacie officinale	
M.	GILLOT	François	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	MITOUMBA	Fabrice	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	86
M.	PELLETIER	Franck	Droit et Economie pharmaceutique	86
M	POTHIER	Jean-Claude	Pharmacie officinale	
Mme	ROGNON	Carole	Pharmacie officinale	

Assistants Hospitalo-Universitaires (AHU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	BOUDRY	Augustin	Biomathématiques	
Mme	DERAMOUDT	Laure	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	
M.	GISH	Alexandr	Toxicologie et Santé publique	
Mme	NEGRIER	Laura	Chimie analytique	

Hospitalo-Universitaires (PHU)

	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	DESVAGES	Maximilien	Hématologie	

Mme	LENSKI	Marie	Toxicologie et Santé publique	
-----	--------	-------	-------------------------------	--

Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche (ATER)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	BERNARD	Lucie	Physiologie	
Mme	BARBIER	Emeline	Toxicologie	
Mme	COMPAGNE	Nina	Chimie Organique	
Mme	COULON	Audrey	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	
M.	DUFOSSEZ	Robin	Chimie physique	
Mme	FERRY	Lise	Biochimie	
M	HASYEOUI	Mohamed	Chimie Organique	
Mme	HENRY	Doriane	Biochimie	
Mme	KOUAGOU	Yolène	Sciences végétales et fongiques	
M	LAURENT	Arthur	Chimie-Physique	
M.	MACKIN MOHAMOUR	Synthia	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	
Mme	RAAB	Sadia	Physiologie	

Enseignant contractuel

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
Mme	DELOBEAU	Iris	Pharmacie officinale
M	RIVART	Simon	Pharmacie officinale
Mme	SERGEANT	Sophie	Pharmacie officinale
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques

LRU / MAST

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
Mme	FRAPPE	Jade	Pharmacie officinale
M	LATRON-FREMEAU	Pierre-Manuel	Pharmacie officinale
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique

UFR3S-Pharmacie

L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.



Remerciements

Aux membres du jury,

À Monsieur le Professeur Christophe CARNOY, pour avoir accepté de m'encadrer pour cette thèse et de présider ce jury. Vous m'avez transmis votre passion pour l'immunologie à travers vos enseignements à la faculté, au point de m'inspirer à rejoindre le master Biologie-Santé dans cette discipline. Je vous adresse mes plus sincères remerciements pour votre encadrement bienveillant, votre disponibilité et vos conseils avisés tout au long de ce travail. C'est un véritable honneur d'avoir pu réaliser cette thèse sous votre direction. Que ce travail soit le témoignage de ma profonde gratitude, de mon respect et de l'admiration que je vous porte.

À Madame le Docteur Julie DEMARET, pour avoir accepté de faire partie de mon jury et pour l'attention portée à ce travail. Soyez assurée de ma reconnaissance et de mon profond respect.

À Madame Virginie BOUVATIER, pour ton accueil, ta disponibilité et ton encadrement lors de mon stage chez MEDAC. Avoir eu l'opportunité de travailler sur un produit à base de CSM a été une expérience particulièrement enrichissante, à l'origine même de cette thèse. Je te remercie chaleureusement d'avoir accepté de faire partie de mon jury et j'espère que tu prendras plaisir à lire ce travail.

Au Docteur Claire DEGAND, de me faire l'honneur et le plaisir de faire partie de mon jury. Pour ton amitié, ton soutien au cours de nos études et pour l'intérêt porté à ce travail.

À mes proches,

À mes parents, pour votre présence et votre soutien indéfectible sans lesquels rien n'aurait été possible. Merci de m'avoir toujours encouragée, non seulement dans mes études, mais aussi dans l'équitation qui m'a tant aidée à garder un équilibre tout au long de ce parcours. Votre patience, vos encouragements et votre amour m'ont accompagnée à chaque étape. Je vous suis profondément reconnaissante pour tout ce que vous m'avez apporté. Et merci mamouna pour la relecture attentive de cette thèse !

À toute ma famille, pour leur affection et leur présence ! Ça y est nous y voilà enfin... après la sempiternelle question : « *Alors, cette thèse, tu as une date ?* ». L'heure est venue. Merci d'être là et de rendre nos retrouvailles toujours si agréables.

À Tonton Éric, toujours aux aguets pour vérifier que j'étais bien inscrite à la fac chaque année ! Merci pour ta présence, ton écoute et ton humour décapant !

À Lola et Théo, mes cousins mais surtout mes premiers compagnons de vie et d'aventures : notre fameux golden trio !

À Marie, qui m'a souvent inspirée et guidée et à **Louis**. Merci pour les nombreuses soirées passées à Lille (avec **marraine**) et maintenant à Douai en votre compagnie, et pour être toujours là pour moi.

À Anne-Sophie et Nicolas, pour les nombreux week-ends passés à Chambéry pendant mon séjour lyonnais et pour tous les conseils et la bienveillance dont vous m'avez toujours entourée.

À Louise, des discussions sous le porche de NDA à nos retrouvailles en pharma, des petites soirées à Paris aux vacances en Bretagne ou encore en Polynésie, merci pour toutes ces aventures passées et celles, je l'espère, encore à venir ! Merci d'être cette amie précieuse, à l'écoute, sur qui l'on peut toujours compter et pour avoir été l'un de mes piliers à maintes reprises au cours de nos études. Et bien sûr merci pour la relecture attentive de cette thèse (tu resteras mon scribe préféré) !!!

À la bande du chalet : Claire, Mélyssa, Éloïse, Agathe, Erwan, Jérémy et Anass, merci d'avoir rendu ces années de fac si belles à vos côtés. Quelle chance de vous avoir rencontrés et de pouvoir vous compter dans ma vie ! Pour tous les bons moments partagés ensemble et pour ceux à venir.

À Émeu, qui sait si bien nous recevoir pour des soirées entre filles toujours réussies !

À Rama et Je t'aime, mes dadous, ma dose hebdomadaire de sérotonine, qui ont assuré ma santé mentale mieux que n'importe quel psy !

À papi Germain, qui, je le sais, aurait aimé être là.
Cette thèse t'est dédiée...

« Dans la vie rien n'est à craindre tout est à comprendre »

Marie Curie

Liste des abréviations

A

AAT : Alpha-1-antitrypsine
aCGH : Array-based Comparative Genomic Hybridization
ADN : Acide DésoxyriboNucléique
ADNmt : ADN mitochondrial
AMM : Autorisation de mise sur le marché
ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament
ARN : Acide ribonucléique
ARNm : ARN messenger
ATMP : *Advanced Therapy Medicinal Product*
AT-MSC : Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells
ATP : Adénosine triphosphate
AVC : Accident vasculaire cérébral

B

Bcl-2 : B cell lymphoma 2
BDNF : Facteur neurotrophique dérivé du cerveau
BHE : Barrière hémato-encéphalique
BM-MSC : Bone marrow-derived mesenchymal stem cells
BPCO : Bronchopneumopathie obstructive chronique
BPF : Bonne Pratique de Fabrication

Breg : Lymphocyte B régulateur

C

CAT : Committee for Advanced Therapies
CCL : Chemokine (C-C motif) ligand
CCR : C-C chemokine receptor
CD : Cluster of differentiation
CDAI : Crohn Disease Activity Index
CFU-F : Colony-Forming-Unit-Fibroblast
CHMP : Committee for Medicinal Products for Human Use
CMH : Complexe majeur d'histocompatibilité
CPA : Cellule présentatrice d'antigène
CPD : Cumulative population doubling
CPP : Critical process parameter
CR : Complete Response
CRISPR : Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats
CryoAg : Cryoprotective Agent
CS : Cellules souches
CSA : Cellules souches adultes
CSE : Cellules souches embryonnaires
CSH : Cellules souches hématopoïétiques
CSM : Cellules stromales mésenchymateuses
CSN : Cellules souches neurales

CSPi : Cellules souches pluripotentes induites

Cx : Connexine

CXCL : C-X-C motif chemokine ligand

CXCR : Chemokine (C-X-C Motif) receptor

D

DAMPs : Damage-associated molecular patterns

DAPI : 4',6-diamidino-2-phénylindole

DC : Dendritic cell

DCGI : Drug Controller General of India

DICS-ADA : Déficit immunitaire combiné sévère par déficit en adénosine désaminase

DMEM : Dulbecco's modified Eagle's medium

DMSO : Diméthylsulfoxyde

DSP : Downstream process

DXM : Dexaméthasone

E

EAE : Encéphalomyélite auto-immune expérimentale

EBMT : European Society for Blood and Marrow Transplantation

EDSS : Expanded Disability Status Scale

EDTA : Acide Éthylène-Diamine-Tétra-Acétique

EMA : Agence européenne des médicaments

F

FAS-L : Fas ligand

FBS : Fetal bovine serum

FDA : Food and Drug Administration

FGF : Fibroblast growth factor

FISH : Fluorescence in situ hybridization

G

Gal : Galectine

GNF : Facteur neurotrophique dérivé de la lignée gliale

GM-CSF : Granulocyte macrophage colony-stimulating factor

GMP : Good manufacturing practices

GVHD : Graft-versus-host-disease, maladie du greffon contre l'hôte

H

HGF : Hepatocyte growth factor

HLA : Human leukocyte antigen

HO-1 : Hème-oxygénase 1

I

IBMX : Isobutylméthylxanthine

ICAM-1 : Intercellular adhesion molecule 1

IDO : Indoléamine 2,3-dioxygénase

IFDA : Iran Food and Drugs Administration

IFN : interféron

Ig : Immunoglobuline

IGF-1 : Insuline-like growth factor-1

IL : Interleukine

IMDM : Iscove's Modified

Dulbecco's Medium

IPC : In process control

IRM : Imagerie par résonance
magnétique

ISCT : International Society for Cell and
Gene Therapy

IV : Intraveineuse

J

JAK : Janus Kinase

L

LAL : Limulus amebocyte lysate

LB : Lymphocyte B

LT : Lymphocyte T

M

MAI : Maladie auto-immune

MAPK : Mitogen-activated protein
kinases

MC : Maladie de Crohn

MCP-1 : Monocyte chemoattractant
protein-1

M-CSF : Macrophage colony-stimulating
factor

MEC : Matrice extracellulaire

MEM : Milieu essentiel minimum

MFDS : Ministry of Food and Drug
Safety

MICI : Maladie inflammatoire chronique
de l'intestin

miR : MicroARN

MMF : Mycophénolate mofétil

MMP : Métalloprotéase matricielle

MNC : Mononuclear cells

MO : Moelle osseuse

MTI : Médicament de thérapie innovante

MTX : Méthotrexate

N

NAT : Nucleic acid test

NGF : Facteur de croissance nerveuse

NK : Natural killer

NMPA : National Medical Products
Administration

NTF : Facteur neurotrophique

O

OMS : Organisation mondiale de la
Santé

OR : Overall Response

P

PAMPs : Pathogen-Associated
Molecular Patterns

PBS : Tampon phosphate salin

PCR : Polymerase Chain Reaction

PD-1 : Programmed cell death protein 1

PDGF : Platelet-derived growth factor

PD-L1 : Programmed death-ligand 1

PEC : Photophorèse extracorporelle

PEG : Polyéthylène glycol

PGE2 : Prostaglandine E2

PLGA : Acide poly(lactique-co-
glycolique)

PMDA : Pharmaceuticals and Medical
Devices Agency

PPAR-γ : Peroxisome proliferator-activated receptor gamma

PR : Partial Response

PRR : Pattern Recognition Receptors

PTC : Préparations de thérapie cellulaire

R

RORγ : Retinoic acid-related Orphan Receptor γ

ROS : Reactive oxygen species

S

SDF-1 : Stromal cell-derived factor-1

SEP : Sclérose en plaque

SKY : Spectral Karyotyping

SLA : Sclérose latérale amyotrophique

SNC : Système nerveux central

SNP : Single nucleotide polymorphism

SOD : Superoxyde-dismutase

SVF : Fraction vasculaire stromale

T

TGF-β : Transforming Growth Factor β

Th : Lymphocyte T helper

TIMP : Tissue inhibitor of metalloproteinase

TLR : Toll-like receptor

TMF : Transplantation de microbiote fécal

TNF : Tumor necrosis factor

TNT : Tunneling nanotube

TRAIL : TNF-related apoptosis-inducing ligand

Treg : Lymphocyte T régulateur

TSG-6 : TNF-induced protein 6

U

UC-MSC : Umbilical cord-derived mesenchymal stem cells

UCB-MSC : Umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells

V

VCAM-1 : Vascular cell adhesion molecule 1

VE : Vésicule extracellulaire

VEGF : Vascular endothelial growth factor

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine

VLA-4 : Very late antigen-4

W

WJ-MSC : Wharton's jelly mesenchymal stem cells

Liste des tableaux

Tableau 1 : Liste des manipulations considérées généralement comme substantielles/ non substantielles	64
Tableau 2 : Synthèse des essais cliniques détaillés dans la GVHD	94
Tableau 3 : Synthèse des essais cliniques détaillés dans la SEP.	100
Tableau 4 : Synthèse des essais cliniques détaillés dans l'arthrose	104
Tableau 5 : Synthèse des essais cliniques détaillés dans la maladie de Crohn.	109
Tableau 6 : Thérapies à base de CSM actuellement approuvées	113

Liste des figures

Figure 1 : Propriétés d'une cellule souche	27
Figure 2 : Schématisation des différentes catégories de cellules souches	30
Figure 3 : J. Cohnheim (1839-1884)	32
Figure 4 : A. Friedenstein (1924-1998)	32
Figure 5 : Morphologie de BM-MSC transfectées avec des protéines fluorescentes (échelle 100 µm)	33
Figure 6 : Diverses sources des CSM.....	35
Figure 7 : Schématisation du mécanisme de "Homing" des CSM	38
Figure 8 : Schématisation des mécanismes sous-jacents des CSM	40
Figure 9 : Potentiel de différenciation des CSM	41
Figure 10 : Mécanisme d'action des CSM sur les macrophages	52
Figure 11 : Mécanisme d'action des CSM sur les cellules dendritiques	53
Figure 12 : Mécanisme d'action des CSM sur les cellules NK.....	55
Figure 13 : Mécanisme d'action des CSM sur les lymphocytes B	56
Figure 14 : Mécanisme d'action des CSM sur les LT	59
Figure 15 : Diagramme des principales étapes pour la fabrication de CSM humaines	65

Figure 16 : Schématisation de l'isolement des BM-MSC	67
Figure 17 : Schématisation de l'isolement des AT-MSC.....	69
Figure 18 : Schématisation de l'isolement des UC-MSC	70
Figure 19 : Principe d'expansion des CSM.....	72
Figure 20 : Vue d'ensemble des différentes approches pour la production des CSM	75
Figure 21 : Vue d'ensemble des contrôles qualité à effectuer	80
Figure 22 : Répartition des essais cliniques utilisant les CSM selon la catégorie de pathologies.....	88
Figure 23 : Schématisation de la physiopathologie de la GVHD	91
Figure 24 : Schématisation des mécanismes d'action des CSM dans les maladies neurologiques	97
Figure 25 : Schématisation des mécanismes d'action des CSM dans l'arthrose	102
Figure 26 : Schématisation des mécanismes d'action des CSM dans la MC	107
Figure 27 : Schématisation des facteurs majeurs responsables de l'hétérogénéité des CSM et stratégies d'optimisation thérapeutique	123

Table des matières

INTRODUCTION.....	24
I. MEDECINE REGENERATIVE ET CELLULES SOUCHES.....	26
A. <i>Définitions et émergence du concept de médecine régénérative</i>	26
B. <i>Piliers de la médecine régénérative</i>	26
C. <i>Les cellules souches au cœur de la médecine régénérative</i>	27
1. <i>Concept et propriétés des cellules souches.....</i>	27
2. <i>Classification des cellules souches</i>	28
D. <i>Les cellules stromales mésenchymateuses : une alternative prometteuse en thérapie cellulaire</i>	30
II. LES CELLULES STROMALES MESENCHYMATEUSES : HISTORIQUE ET PROPRIETES ..	32
A. <i>Historique de leur découverte.....</i>	32
B. <i>Sources des CSM.....</i>	35
1. <i>BM-MSC</i>	36
2. <i>AT-MSC</i>	36
3. <i>UC-MSC</i>	37
C. <i>Homing et capacité migratoire des CSM.....</i>	38
D. <i>Modes d'action des CSM.....</i>	39
1. <i>Différenciation cellulaire</i>	40
2. <i>Activité paracrine des CSM.....</i>	42
3. <i>Vésicules extracellulaires.....</i>	45
4. <i>Transfert mitochondrial</i>	47
5. <i>Focus sur l'immunomodulation : impact des CSM sur le système immunitaire.....</i>	50
III. ASPECTS TECHNIQUES	60
A. <i>Aspects réglementaires des médicaments de thérapie innovante (MTI)</i>	60
1. <i>Définition des MTI</i>	60
2. <i>Contexte réglementaire des MTI</i>	62
3. <i>Distinction entre MTI et préparations de thérapie cellulaire (PTC).....</i>	63

<i>B. Production des CSM à usage clinique</i>	<i>65</i>
1. Généralités	65
2. Collecte du matériel de départ.....	66
3. Isolement des CSM	67
4. Expansion des CSM.....	71
5. Downstream process.....	76
6. Cryoconservation	76
7. Administration.....	78
<i>C. Contrôle qualité</i>	<i>79</i>
1. Principe	79
2. Sélection du donneur	79
3. Tests évaluant la qualité du produit à base de CSM	80
4. Tests évaluant la sécurité du produit à base de CSM	84
IV. APPLICATIONS CLINIQUES.....	87
<i>A. État des lieux.....</i>	<i>87</i>
<i>B. Maladies hématologiques : maladie du greffon contre l'hôte</i>	<i>88</i>
1. Contexte	88
2. Rationnel de l'utilisation des CSM dans la GVHD aiguë.....	90
3. Expérience clinique	91
<i>C. Maladies neurodégénératives</i>	<i>94</i>
1. Contexte	94
2. Rationnel de l'utilisation des CSM dans les maladies neurologiques	95
3. Expérience clinique	98
<i>D. Maladies ostéoarticulaires</i>	<i>100</i>
1. Contexte	100
2. Rationnel de l'utilisation des CSM dans l'arthrose	101
3. Expérience clinique	103
<i>E. Maladies auto-immunes.....</i>	<i>105</i>
1. Contexte	105
2. Rationnel de l'utilisation des CSM dans la maladie de Crohn	106
3. Expérience clinique	108
<i>F. Produits à base de CSM approuvés.....</i>	<i>110</i>
V. DEFIS, LIMITES ET STRATEGIES D'OPTIMISATION DES CSM	114

<i>A. Défis cliniques des CSM.....</i>	<i>114</i>
1. Hétérogénéité des CSM.....	114
2. Limitation des essais cliniques.....	117
<i>B. Stratégies d'optimisation des CSM</i>	<i>118</i>
1. Préconditionnement cellulaire.....	118
2. Biomatériaux.....	120
3. Modification génétique	121
4. Utilisation du sécrétome des CSM.....	122
 CONCLUSION.....	 124
 BIBLIOGRAPHIE	 125

INTRODUCTION

La médecine régénérative s'impose comme l'une des approches thérapeutiques les plus prometteuses du XXI^{ème} siècle, offrant de nouvelles perspectives pour le traitement de nombreuses pathologies souvent réfractaires aux traitements traditionnels. Cette discipline repose sur la réparation, le remplacement ou la régénération de cellules, de tissus ou d'organes, dans le but de restaurer une fonction altérée du corps humain. Bien que cette notion de médecine régénérative puisse sembler récente, ses fondements remontent à l'Antiquité.

Hippocrate, souvent considéré comme le père de la médecine moderne, estimait il y a près de 2000 ans que « le corps contient en lui-même le pouvoir de rééquilibrer les humeurs et de se guérir lui-même ». Ces propos posaient déjà les bases d'une réflexion sur les capacités naturelles de régénération du corps.

Le concept de régénération tissulaire trouve également un écho dans la mythologie grecque, à travers le mythe de Prométhée. Condamné par Zeus pour avoir volé le feu sacré et l'avoir offert aux hommes, Prométhée fut enchaîné à un rocher et, chaque jour, un aigle venait dévorer son foie qui repoussait durant la nuit pour être à nouveau dévoré le lendemain.

Cependant, ce n'est qu'au XX^{ème} siècle que la médecine régénérative a véritablement pris son essor avec la découverte des cellules souches (CS) par James Till et Ernest McCulloch. Ces découvertes ont marqué le début d'une nouvelle ère dans le domaine de la thérapie cellulaire, basée sur le potentiel unique des cellules souches à se différencier et à remplacer les tissus endommagés.

Dès lors, la thérapie cellulaire a évolué de manière exponentielle, tant au niveau des recherches pré-cliniques *in vitro* et *in vivo*, que dans les études cliniques où les cellules souches embryonnaires et adultes ont été étudiées comme stratégies thérapeutiques potentielles pour une large gamme de maladies.

Parmi ces cellules, les cellules stromales mésenchymateuses (CSM), initialement découvertes dans la moelle osseuse (MO), ont rapidement suscité l'intérêt de la communauté scientifique en raison de leurs propriétés biologiques uniques. Ces cellules se distinguent par leur capacité à se différencier en divers types cellulaires tels que les ostéoblastes, chondrocytes, adipocytes, etc., mais aussi par leurs fonctions

immunomodulatrices et paracrines. Elles jouent ainsi un rôle dans la régénération et la modulation de l'environnement inflammatoire des zones lésées.

Au-delà de leurs propriétés biologiques, les CSM sont également relativement faciles d'accès et possèdent un fort potentiel d'expansion *in vitro*, ce qui a contribué à l'augmentation des études les concernant au cours des dernières décennies.

Ces caractéristiques ont ouvert la voie à de nombreuses recherches et applications thérapeutiques, notamment pour la réparation des tissus endommagés ou l'amélioration des réponses inflammatoires dans le cadre de pathologies dégénératives ou auto-immunes.

Dans ce contexte, la présente thèse se propose de résumer l'état de la science actuelle sur les CSM et d'explorer leur potentiel thérapeutique. Pour ce faire, nous commencerons par présenter le concept de médecine régénérative et les cellules souches afin de replacer les CSM dans le cadre plus large des thérapies cellulaires. Nous détaillerons ensuite les propriétés des CSM en nous intéressant particulièrement à leurs mécanismes d'action. La troisième partie sera consacrée aux aspects techniques liés à leur production pour un usage clinique. Puis, nous examinerons leurs applications thérapeutiques, en réalisant un état des lieux général et en nous focalisant sur des pathologies où ces cellules montrent un potentiel prometteur. Enfin, nous aborderons les limites associées aux CSM ainsi que certaines stratégies d'optimisation visant à améliorer leur efficacité.

Il convient de noter que ce travail s'inscrit dans une démarche bibliographique et ne prétend pas à l'exhaustivité. Son objectif est avant tout de mettre en lumière l'intérêt de ces cellules en clinique, en soulignant à la fois leurs atouts, leurs limites ainsi que les perspectives qu'elles peuvent offrir dans le cadre de la médecine régénérative.

I. Médecine régénérative et cellules souches

A. Définitions et émergence du concept de médecine régénérative

La médecine régénérative consiste à réparer une lésion ou un organe en remplaçant les parties endommagées par un nouveau tissu cellulaire créé à cet effet (1).

Le terme « médecine régénérative » a été utilisé pour la première fois en 1992 par Leland Kaiser dans un article abordant l'impact des innovations futures dans le domaine médical. Il a ensuite été popularisé en 1999 par William Haseltine. (2)

Au XIX^{ème} siècle, les premières observations sur la capacité de certains animaux à régénérer des parties du corps (comme les queues des salamandres) ont marqué les premiers pas vers l'idée de réparation tissulaire. Cette capacité naturelle de régénération chez certaines espèces a inspiré les premières recherches visant à induire des processus similaires chez l'humain (3).

Dans la médecine moderne, les travaux sur les cellules souches et la régénération des organes ont véritablement commencé après les premières transplantations de moelle osseuse sur des modèles animaux dans les années 1950. Ces études pionnières ont ouvert la voie à la transplantation de MO chez l'homme, une thérapie aujourd'hui largement utilisée pour traiter diverses maladies du sang.

B. Piliers de la médecine régénérative

Aujourd'hui, la médecine régénérative englobe un large éventail de thérapies reposant sur 3 principes :

- **La thérapie cellulaire** : cette discipline consiste à prévenir, traiter ou atténuer une maladie, ou à réparer un tissu lésé par l'injection de cellules humaines.
- **L'ingénierie tissulaire** : elle se définit comme une approche scientifique qui utilise des cellules vivantes associées à des biomatériaux et des facteurs biologiques, pour concevoir des tissus biologiquement fonctionnels dans le but de restaurer, remplacer ou améliorer des fonctions tissulaires ou organiques altérées.
- **La thérapie génique** : cette approche vise à modifier l'expression génétique ou les caractéristiques génétiques d'une cellule ou d'un organisme en

introduisant des séquences d'acides nucléiques (ADN ou ARN) dans les cellules cibles. L'objectif étant de corriger une anomalie génétique, d'inhiber l'expression d'un gène défectueux ou de conférer de nouvelles fonctions aux cellules traitées.

Ces thérapies font partie des médicaments de thérapie innovante (MTI).

C. Les cellules souches au cœur de la médecine régénérative

1. Concept et propriétés des cellules souches

La thérapie cellulaire, qui constitue une branche essentielle de la médecine régénérative, repose principalement sur l'utilisation de cellules souches « *stem cells* ». Le terme « cellule souche » est apparu dans la littérature scientifique dès 1868 dans les travaux du biologiste Ernst Haeckel, qui a utilisé le terme « *Stammzelle* » pour décrire l'organisme unicellulaire à partir duquel il supposait que tous les organismes multicellulaires évoluaient (4).

Les cellules souches sont des cellules indifférenciées caractérisées par deux propriétés essentielles. La première est la capacité d'auto-renouvellement : la division d'une cellule souche donne naissance à deux cellules filles qui sont identiques à la cellule mère. La deuxième propriété est leur capacité de différenciation, ces cellules peuvent en effet s'engager dans un programme de différenciation et se transformer en une cellule différenciée (figure 1).

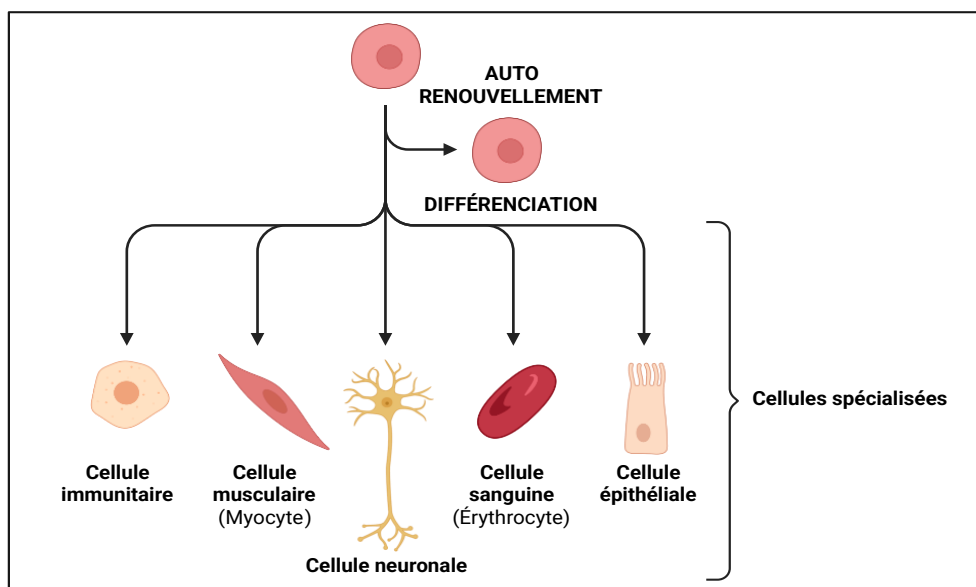


Figure 1 : Propriétés d'une cellule souche (réalisée avec Biorender).

2. Classification des cellules souches

Toutes les cellules souches n'ont pas le même potentiel de différenciation et ont été classées initialement en quatre catégories : (5,6)

- **Les cellules souches totipotentes** : ces cellules sont définies par leur capacité à donner tous les types cellulaires de l'organisme ainsi que les annexes embryonnaires (cavité amniotique, vésicule vitelline, diverticule allantoïde, chorion et placenta). Elles sont présentes depuis le stade zygote jusqu'au stade morula, soit pendant les quatre premiers jours après la fécondation de l'ovule par le spermatozoïde.
- **Les cellules souches pluripotentes** : ces cellules sont définies par leur capacité à se différencier en tous les types cellulaires d'un organisme issus des trois feuillets embryonnaires (endoderme, mésoderme, ectoderme), à l'exception des annexes embryonnaires. Elles peuvent être isolées pendant le développement embryonnaire (au stade blastocyte, entre le 4^{ème} et le 8^{ème} jour après la fécondation).
- **Les cellules souches multipotentes** : ces cellules ont une capacité de différenciation plus restreinte que les cellules souches pluripotentes. Elles peuvent donner naissance à divers types cellulaires, mais sont le plus souvent engagées dans une lignée donnée. C'est le cas des cellules souches hématopoïétiques (CSH) qui ne se différencient qu'en cellules du sang, et des cellules stromales mésenchymateuses qui ont la capacité de s'engager dans les lignées cellulaires d'origine mésodermique.
- **Les cellules souches unipotentes** : ces cellules ont un potentiel de différenciation restreint, limité à un seul type cellulaire. C'est le cas des kératinocytes souches du *stratum germinativum*, capables de se différencier uniquement en cellules de la peau.

Les cellules souches peuvent être ainsi définies en trois grands types (6) (figure 2) :

- **Les cellules souches embryonnaires (CSE)** : ce sont des cellules pluripotentes dérivées de la masse interne du blastocyte (5 à 7 jours après la fécondation). Ces cellules peuvent se différencier en tissus des 3 couches

germinales primaires et peuvent également être maintenues dans un état indifférencié pendant une période prolongée en culture, tout en conservant une composition chromosomique normale. Cependant, l'utilisation des CSE pose des problèmes éthiques car leur prélèvement nécessite la destruction d'un embryon.

- **Les cellules souches adultes (CSA) :** ce sont les cellules multipotentes et unipotentes ; elles sont présentes dans divers tissus du corps humain tout au long de la vie et jouent un rôle clé dans la réparation et le renouvellement des tissus. Elles sont généralement multipotentes, c'est-à-dire qu'elles peuvent se différencier en un nombre limité de types cellulaires, souvent restreints au tissu d'origine.
- **Les cellules souches pluripotentes induites (CSPi) :** ce sont des cellules adultes qui ont été reprogrammées pour retrouver un état pluripotent, semblable à celui des CSE. Ce processus consiste à introduire dans les cellules somatiques des facteurs de transcription spécifiques, leur permettant de se dédifférencier et de regagner la capacité à se transformer en n'importe quel type cellulaire, tout en contournant les controverses éthiques associées aux cellules embryonnaires. Leur capacité à être produites en quantité illimitée et à grande échelle permet leur utilisation pour la modélisation de diverses pathologies et pour évaluer l'efficacité de nouvelles molécules thérapeutiques. Cependant, leur reprogrammation présente des défis techniques, et il existe un risque de mutations génétiques ou de formation de tumeurs, ce qui complique leur application clinique à grande échelle.

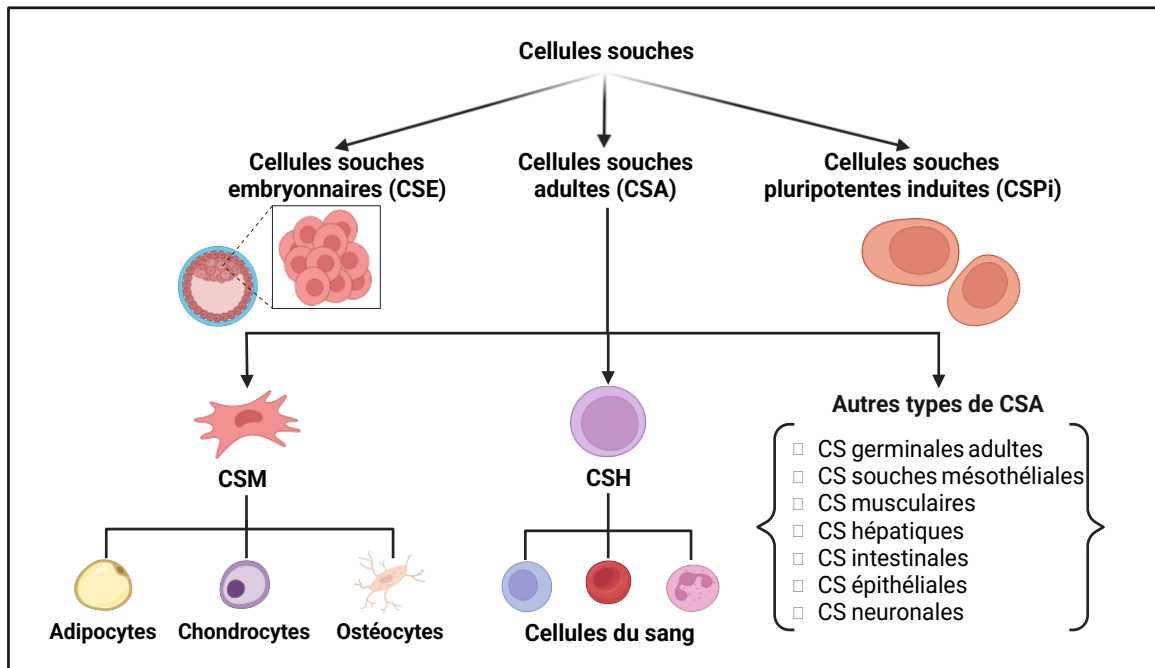


Figure 2 : Schématisation des différentes catégories de cellules souches (réalisée avec Biorender).

D. Les cellules stromales mésenchymateuses : une alternative prometteuse en thérapie cellulaire

La thérapie cellulaire a déjà prouvé son efficacité, notamment dans le cadre des hémopathies malignes (leucémies, lymphomes). Les greffes de CSH, issues de la moelle osseuse ou du sang de cordon, sont utilisées depuis plusieurs décennies pour permettre de reconstituer un système hématopoïétique sain. On peut également citer le traitement des grands brûlés, avec l'utilisation de kératinocytes (cellules cutanées spécialisées) expansés *ex vivo*, permettant de reconstruire l'épiderme, réduisant ainsi considérablement les risques d'infection et les temps de cicatrisation. Les avancées actuelles des thérapies cellulaires sont nombreuses et promettent des applications dans des contextes cliniques très diversifiés. Les aires thérapeutiques les plus ciblées étant l'oncologie, les pathologies du système nerveux central et l'infectiologie.

Parmi ces cellules, les cellules souches embryonnaires et les cellules souches pluripotentes induites ont suscité un grand intérêt en raison de leur capacité à se différencier en n'importe quel type cellulaire. Cependant, malgré leur potentiel

immense, ces cellules font face à plusieurs obstacles majeurs. Les CSE sont entourées de questions éthiques quant à leur obtention et posent également des risques de développement de tumeurs, comme les tératomes, lorsqu'elles sont utilisées en thérapie. Les CSPi, bien que ne soulevant pas les mêmes préoccupations éthiques, partagent des défis similaires sur le plan technique, notamment des risques accrus de mutations génétiques et d'instabilité génomique après reprogrammation. De plus, la manipulation complexe de ces cellules en laboratoire en fait des candidates encore peu optimales pour une application clinique immédiate. En outre, leur utilisation est soumise à une réglementation stricte et nécessite une autorisation préalable de l'agence de la biomédecine afin d'assurer un contrôle éthique et scientifique rigoureux.

En revanche, les cellules stromales mésenchymateuses offrent une alternative plus prometteuse. Non seulement elles sont facilement isolées à partir de divers tissus mais elles présentent également des propriétés immunomodulatrices et ne posent pas de risques majeurs de transformation tumorale. Grâce à ces caractéristiques, les CSM sont devenues l'un des types de cellules les plus utilisés dans les essais cliniques et leurs applications sont de plus en plus explorées. Nous allons désormais aborder en détail leurs propriétés.

II. Les cellules stromales mésenchymateuses : Historique et propriétés

A. Historique de leur découverte

C'est en 1867 que le pathologiste allemand Julius Cohnheim (figure 3) (7) a émis l'hypothèse selon laquelle la moelle osseuse abritait des cellules souches non hématopoïétiques, d'allure fibroblastique, capables de migrer vers les sites lésés afin de participer à la régénération tissulaire.



Figure 3 : J. Cohnheim
(1839-1884)

Un an plus tard, Goujon a démontré que la moelle osseuse de lapin et de poulet présentait un potentiel ostéogénique similaire à celui du périoste lorsque celle-ci était transplantée de manière ectopique. Toutefois, il faudra attendre près d'un siècle pour que ces observations aboutissent à des avancées significatives dans la compréhension de la biologie des CSM (8). En 1968, Tavassoli et Crosby ont mené une étude dans laquelle des fragments de moelle osseuse ont été transplantés dans des sites extra médullaires (tissus spléniques, rénaux, sous-cutanés, hépatiques, musculaires et l'omentum) chez le rat, le lapin et le chien. Ils ont observé que la survie de ces fragments s'accompagnait d'une reconstitution complète des structures hématopoïétiques et adventitielles. Ce processus provenait d'un réseau de cellules réticulaires survivantes qui ont proliféré et se sont différenciées en ostéoblastes en donnant naissance à de l'os trabéculaire. Cette découverte indiquait qu'il existait bien une population cellulaire au sein de la moelle osseuse (distincte des CSH) possédant un potentiel ostéogénique (9,10).

Mais c'est à Alexander J. Friedenstein (figure 4) (11) et son équipe que l'on doit l'isolement de cette population cellulaire au sein de la moelle osseuse. Ces cellules se distinguaient notamment par leur capacité d'adhérence *in vitro* ; leur allure fibroblastique (figure 5) (12) suggérant leur origine stromale et leur capacité à former des colonies nommées CFU-F (*Colony-Forming-Unit-Fibroblast*).



Figure 4 : A. Friedenstein
(1924-1998)

La nature clonale de chaque colonie a été démontrée par le marquage chromosomique à la 3H-thymidine. Les cellules dérivées de ces colonies étaient notamment capables de se différencier en ostéocytes, chondrocytes et adipocytes et en support du stroma hématopoïétique quand une seule CFU-F était retransplantée *in vivo* (11).

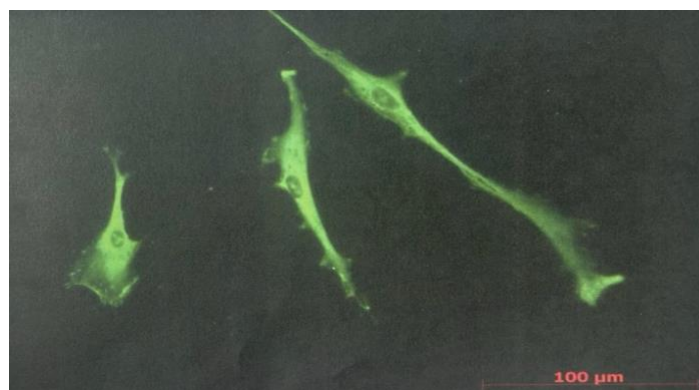


Figure 5 : Morphologie de BM-MSC
transfectées avec des protéines fluorescentes
(échelle 100 μm)

Ce n'est qu'en 1991 qu'Arnold Caplan désigna ces cellules par le terme de : « cellules stromales mésenchymateuses ; CSM » qui est devenu populaire dans la littérature scientifique actuelle. Il a mis en évidence leur capacité à former de l'os, du cartilage, mais aussi des tendons et du muscle, en montrant que les conditions environnantes étaient essentielles pour induire leur différenciation (8).

En 1999, Pittenger et al. ont confirmé la différenciation multilignée en obtenant des adipocytes, des chondroblastes et des ostéoblastes *in vitro* sous des stimuli appropriés. De plus, la même année, Kopen et ses collègues ont démontré la capacité des CSM à se différencier en astrocytes mettant ainsi en évidence la capacité de ces cellules à se différencier vers d'autres cellules de la lignée ectodermique (9).

Les recherches sur les propriétés des CSM ont rapidement conduit à leurs premières applications cliniques. En 1995, Lazarus et al, ont testé pour la première fois ces cellules chez des sujets humains. Dans cette étude, des CSM dérivées de la moelle osseuse de patients atteints d'hémopathies malignes en rémission complète ont été cultivées et expansées *in vitro*. Les CSM autologues ont ensuite été réinfusées par voie intraveineuse et aucun effet indésirable n'a été observé post perfusion, indiquant qu'une telle thérapie ne présentait pas de toxicité (9).

Dans une autre étude réalisée par Horwitz et al. en 1999, des CSM allogéniques ont été infusées chez des enfants atteints d'ostéogénèse imparfaite, une maladie causée

par une mutation du collagène de type I, entraînant plusieurs phénotypes squelettiques. Les résultats ont montré un bénéfice clinique frappant à court terme après la transplantation, avec une amélioration temporaire de la densité osseuse et une réduction du nombre de fractures. Bien que la durée de l'effet ait été limitée, cette étude a ouvert la voie à de futures recherches sur l'utilisation des CSM comme cellules réparatrices dans certaines pathologies du tissu osseux (8).

En 2002, Bartholomew et ses collègues ont montré pour la première fois que les CSM avaient la capacité de moduler la réponse immunitaire, en démontrant la suppression d'une réponse lymphocytaire mixte *in vitro* et la prévention du rejet de greffe dans un modèle d'allogreffe de peau chez le babouin *in vivo* (13).

Depuis que ces propriétés immunomodulatrices ont été rapportées, des études ultérieures ont confirmé que les CSM sont des médiateurs de l'immunosuppression dans des modèles animaux et chez l'homme. L'essai clinique pionnier d'Horwitz et de ses collègues, associé à l'observation que les CSM pouvaient à la fois stimuler ou inhiber le système immunitaire, a conduit à un changement significatif de l'orientation de la recherche sur les CSM.

Du fait de leur potentiel thérapeutique, les CSM ont par la suite suscité un vif intérêt au sein de la communauté scientifique et ont fait l'objet de nombreuses publications. Cependant, la comparaison des résultats des études s'est avérée difficile en raison du manque de marqueurs spécifiques de surface et de la diversité des méthodes et protocoles d'isolement, de purification et d'expansion de ces cellules.

Pour remédier à cette problématique, l'*International Society for Cellular Therapy* (ISCT) a établi des critères standardisés pour définir et caractériser les CSM.

Pour être considérées comme telles, les cellules doivent remplir trois critères (14) :

- ***Adhérence au plastique dans des conditions de culture standard***
- ***Expression des marqueurs CD105 (endoglin-type I glycoprotein) CD73 (ecto-5'-nucleotidase) et CD90 (cluster of différenciation 90 Thy1) ($\geq 95\%$ de la population de CSM, telle que mesurée par la cytométrie de flux). Et absence d'expression ($\leq 2\%$ positifs) des marqueurs hématopoïétiques CD45, CD34, CD14 ou CD11b, CD79 α ou CD19 et HLA-DR (Human leukocyte antigen-D-related)***
- ***Capacité de différenciation en ostéoblastes, chondrocytes et adipocytes***

B. Sources des CSM

Les CSM peuvent être isolées et développées à partir de nombreux tissus extra-embryonnaires et adultes tels que : la moelle osseuse, les adipocytes, le muscle, le liquide synovial, la peau, le sang périphérique, la pulpe dentaire, l'endomètre, le cordon ombilical et autres tissus fœtaux (le placenta et le liquide amniotique) et d'autres (15) (figure 6).

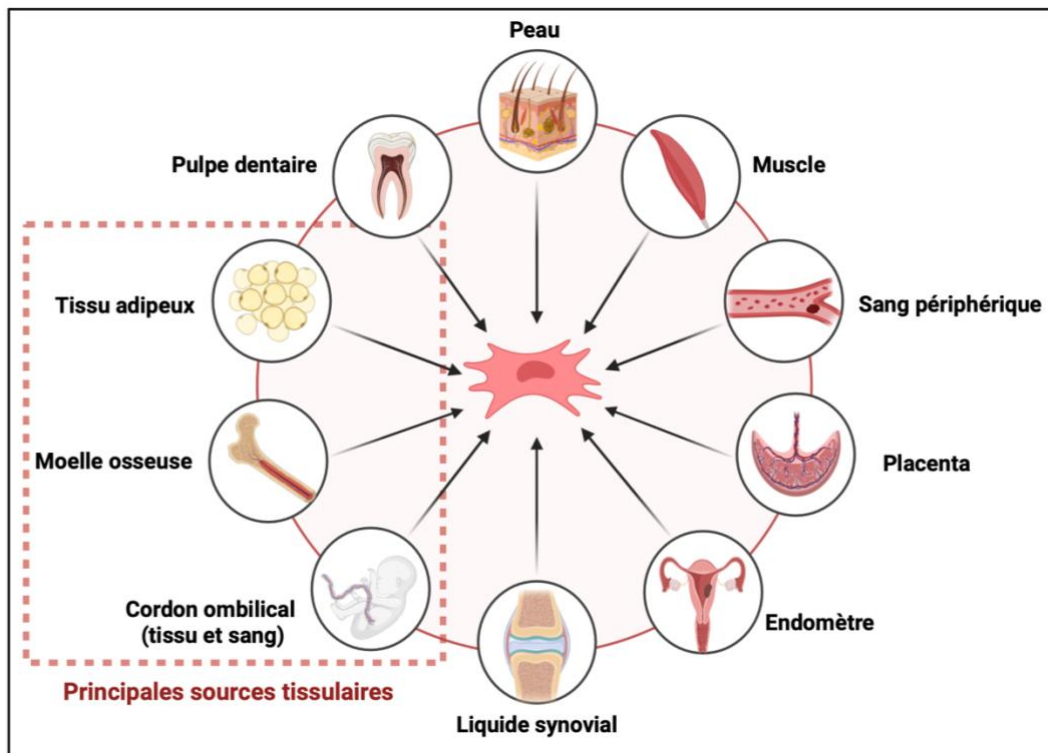


Figure 6 : Diverses sources des CSM (réalisée avec BioRender).

Les sources sont donc diverses mais des restrictions concrètes existent, basées sur la disponibilité du tissu source, le caractère invasif des procédures ainsi que sur les caractéristiques des différents donneurs.

Ainsi les sources les plus communément utilisées jusqu'à aujourd'hui sont :

- **La moelle osseuse (BM-MSC, Bone marrow-derived mesenchymal stem cells)**
- **Le tissu adipocytaire (AT-MSC, Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells)**
- **Le cordon ombilical (UC-MSC, Umbilical cord-derived mesenchymal stem cells)**

1. BM-MSc

Historiquement, la moelle osseuse a été la première source utilisée pour isoler les CSM. De ce fait, les BM-MSc ont été largement étudiées et utilisées lors des essais cliniques. Leur obtention nécessite généralement une ponction ou une biopsie de moelle osseuse, ce qui peut entraîner des douleurs et des risques d'infections pour le patient. Bien que la moelle osseuse soit considérée comme une source relativement accessible, la procédure de prélèvement reste invasive pour le patient. De plus, la fraction recueillie est relativement faible, les BM-MSc ne représentant que 0,01 à 0,001% des cellules mononucléaires de la moelle osseuse (16). Il est donc nécessaire de récolter une quantité suffisante de moelle osseuse et de procéder à une expansion efficace *in vitro* afin d'obtenir un nombre adéquat de cellules en vue d'une application clinique.

Concernant leur propriété, les BM-MSc conservent une différenciation multilignée substantielle bien que restreinte au mésoderme. Leur capacité de prolifération est quant à elle plus faible que les CSM d'autres types cellulaires.

Elles possèdent également une période de réplique plus longue et présentent des marqueurs de sénescence plus rapidement (passage 7). De plus, leur capacité de prolifération et de différenciation diminue avec l'âge du donneur (17).

2. AT-MSc

Les cellules stromales mésenchymateuses dérivées du tissu adipeux ont été identifiées pour la première fois par Zuk et ses collègues en 2001 (17).

Ces cellules ont suscité un intérêt croissant en raison de leur abondance dans le tissu adipeux, avec un rendement 100 à 500 fois supérieur à celui de la moelle osseuse pour une quantité équivalente. De plus, le tissu adipeux est accessible par des méthodes moins invasives, comme la liposuction, ce qui rend leur obtention plus simple et moins risquée pour le patient (17).

Bien que les AT-MSc partagent des caractéristiques morphologiques, phénotypiques et fonctionnelles avec les BM-MSc, elles se distinguent par un taux de prolifération plus élevé ainsi qu'une stabilité morphologique et génétique prolongée lors des cultures cellulaires à long terme. Ces cellules possèdent également un potentiel d'angiogenèse et de vasculogenèse plus élevé ainsi qu'un potentiel immunomodulateur plus puissant que celui des BM-MSc (18).

3. UC-MS

Le cordon ombilical humain est une source de cellules de plus en plus utilisée pour la thérapie cellulaire allogénique en raison de ses propriétés immunoprivilégiées et immunomodulatrices supérieures à celles d'autres CSM.

Le cordon ombilical se compose de deux artères ombilicales et d'une veine ombilicale entourées et soutenues par des tissus gélatineux connus sous le nom de gelée de Wharton. Les CSM peuvent être obtenues du sang (UCB-MS, *Umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells*) ou des différentes régions du cordon (UC-MS).

Cette source offre un accès facilité aux CSM sans nécessiter de procédures invasives et sans soulever de questions éthiques. Ces cellules présentent une capacité de prolifération, une durée de vie et un potentiel de différenciation amélioré par rapport aux BM-MS et AT-MS (17). De plus, elles offrent un avantage par rapport aux tissus adultes car elles conservent leur capacité de régénération indépendamment de l'âge du donneur. Enfin, une culture *in vitro* à long terme ne semble pas altérer leur phénotype et leur stabilité génétique.

Concernant les UC-MS, elles peuvent générer un grand nombre de cellules mais il existe certains inconvénients liés à leur isolement. En effet, le taux de succès varie entre 10 % et 63% comparé à un taux proche de 100% pour les BM-MS et les AT-MS (19). Pour les UCB-MS, même si la procédure d'isolement est plus simple que pour les UC-MS, le rendement est encore plus faible. Elles présentent également d'autres limitations notamment une capacité de différenciation réduite en adipocytes, bien que ce point reste controversé dans la littérature scientifique (20).

C'est pourquoi les WJ-MS (*Wharton's jelly mesenchymal stem cells*), issues de la gelée de Wharton, sont reconnues comme une source particulièrement prometteuse parmi les différentes régions du cordon ombilical. Elles sont de plus en plus utilisées depuis ces dix dernières années en raison de leurs excellentes propriétés immunomodulatrices et de leur potentiel en médecine régénérative.

C. Homing et capacité migratoire des CSM

L'un des principaux avantages des thérapies basées sur les CSM est leur capacité à cibler préférentiellement les tissus endommagés. En effet, l'intégration de signaux de souffrance tissulaire ou de paramètres physiques tels que l'hypoxie semblent induire la sortie des CSM de leur niche et leur migration le long d'un gradient de chimiokines. Ce phénomène est qualifié de domiciliation ou « homing », incluant le homing systémique et non systémique.

Dans le homing non systémique, les CSM sont transplantées localement dans le tissu cible et guidées vers le site de la lésion via un gradient de chimiokines.

Dans le cas du homing systémique, les CSM sont administrées ou recrutées de manière endogène dans la circulation sanguine et doivent subir plusieurs étapes pour sortir de la circulation et migrer vers le site lésé. Ce processus est similaire à la diapédèse des leucocytes et est divisé en cinq étapes : 1) l'attachement/ roulement, 2) l'activation, 3) l'adhésion ferme, 4) la transmigration ou diapédèse et 5) la migration (21) (figure 7).

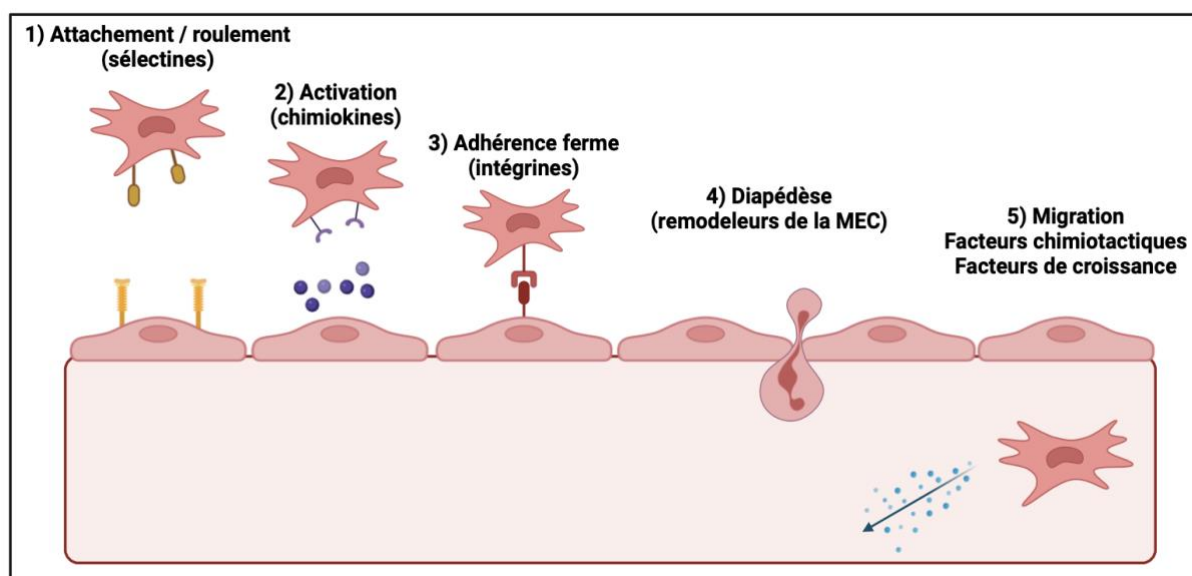


Figure 7 : Schématisation du mécanisme de "Homing" des CSM (réalisée avec

BioRender). Adaptée de Ullah et al., 2019, *iScience*, 15, 421-438,

DOI : 10.1016/j.isci.2019.05.004

L'attachement initial est facilité par les sélectines exprimées par les cellules endothéliales. Les CSM expriment notamment le CD44, qui s'accroche aux sélectines et permet à la cellule de commencer à rouler le long de la paroi vasculaire.

L'activation est médiée par les récepteurs aux chimiokines couplés aux protéines G, généralement en réponse à des signaux inflammatoires.

La troisième étape, l'arrestation, est facilitée par les intégrines ; les CSM expriment VLA-4 (*Very Late Antigen-4*), qui s'active en réponse à des chimiokines comme SDF-1 (*Stromal Cell-Derived Factor-1* ou CXCL12). Une fois activée, l'intégrine VLA-4 se lie à VCAM-1 (*Vascular Cell Adhesion Molecule 1*) sur les cellules endothéliales.

Lors de la transmigration ou diapédèse, les CSM doivent traverser de manière transcellulaire la couche de cellules endothéliales et la membrane basale.

Pour ce faire, les CSM sécrètent des métalloprotéinases matricielles qui dégradent la membrane basale endothéliale.

Enfin, les CSM migrent de l'interstitium jusqu'au site de la lésion. Cette étape est guidée par des signaux chimiotactiques libérés en réponse aux lésions tissulaires, tels que le facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF, *Platelet-Derived Growth Factor*), le facteur de croissance analogue à l'insuline (IGF-1, *Insulin-like Growth Factor 1*) et les chimiokines comme SDF-1.

La migration s'achève lorsque les CSM atteignent le tissu cible où elles peuvent exercer leur activité thérapeutique pro-régénératrice et immunomodulatrice (21,22).

D. Modes d'action des CSM

Les CSM ont initialement suscité un intérêt en médecine régénérative grâce à leur capacité d'auto-renouvellement et de différenciation en différents types cellulaires d'origine mésodermique. Cependant, leur action principale réside dans leur fonction paracrine, qui leur permet de sécréter de nombreux facteurs trophiques leur conférant des propriétés immunomodulatrices, angiogéniques, anti-apoptotiques, antioxydantes, anti-fibrotiques et anti-bactériennes.

Ces actions sont renforcées par des interactions directes via le contact cellule-cellule, permettant aux CSM de moduler leurs effets immunosuppresseurs et de promouvoir la viabilité cellulaire. De plus, les CSM possèdent d'autres mécanismes tels que le transfert de mitochondries vers les cellules endommagées et la libération de vésicules extracellulaires (VE) (23) (figure 8).

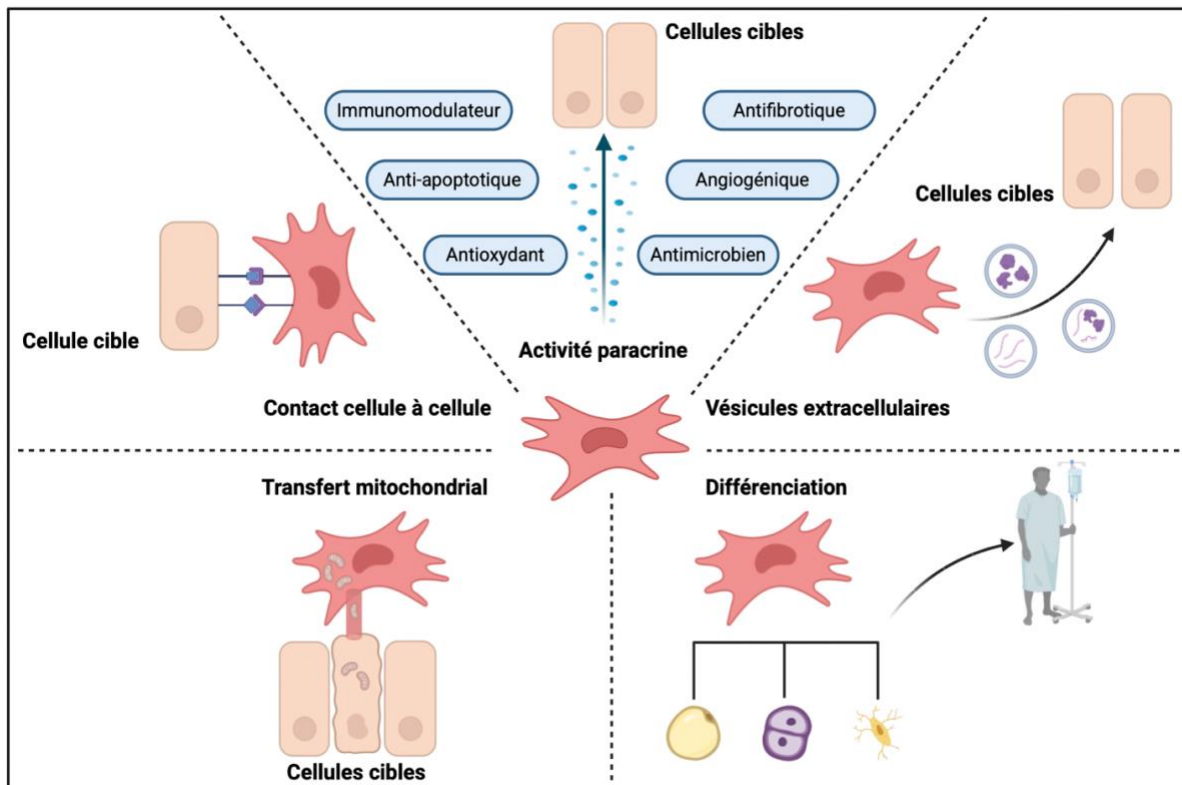


Figure 8 : Schématisation des mécanismes sous-jacents des CSM (réalisée avec BioRender).

1. Différenciation cellulaire

Les CSM sont des cellules souches multipotentes capables de se différencier en un nombre limité de types cellulaires, l'une des premières caractéristiques à avoir retenu l'attention des cliniciens. Comme mentionné précédemment, la capacité des CSM à se différencier en ostéocytes, chondrocytes et adipocytes est l'un des critères les définissant. Ce phénomène peut être observé *in vitro* en plaçant des CSM dans un milieu contenant des facteurs spécifiques (figure 9).

a) Différenciation ostéogénique, adipogénique et chondrogénique

La voie ostéogénique est induite par l'incubation de dexaméthasone (DXM), d'acide ascorbique et de β -glycérophosphate et est révélée par la détection de l'activité phosphatase alcaline et de dépôts de calcium (coloration de Von Kossa).

La voie adipogénique est induite par l'association de DXM, d'indométacine, d'insuline et d'isobutylmethylxanthine (IBMX). L'adipogenèse est confirmée par la présence de vacuoles lipidiques colorées à l'oil red O et par l'expression, par les cellules

différenciées, de gènes tels que le récepteur γ activé par les proliférateurs de peroxyosomes (PPAR- γ , *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor gamma*), ainsi que par l'activité enzymatique de la lipoprotéine lipase.

La voie chondrogénique est, quant à elle, induite dans diverses conditions de culture, impliquant par exemple l'ajout de DXM, d'insuline-transferrine-sélénium, d'acide ascorbique, de pyruvate de sodium et de TGF- β (*Transforming Growth Factor β*) dans un environnement tridimensionnel (culture dans des systèmes de micromasse ou culture en « pellet »). La formation de cartilage est confirmée par la production d'une matrice extracellulaire (MEC) principalement composée de collagène de type II et X et de la protéoglycane (agrécan). Le test généralement utilisé pour évaluer la différenciation des chondrocytes est la coloration au bleu d'Alcian.

La différenciation ostéogénique, adipogénique et chondrogénique peut également être confirmée par l'expression génique, en ciblant les gènes spécifiquement exprimés par les ostéocytes, les adipocytes et les chondrocytes, respectivement (24,25).

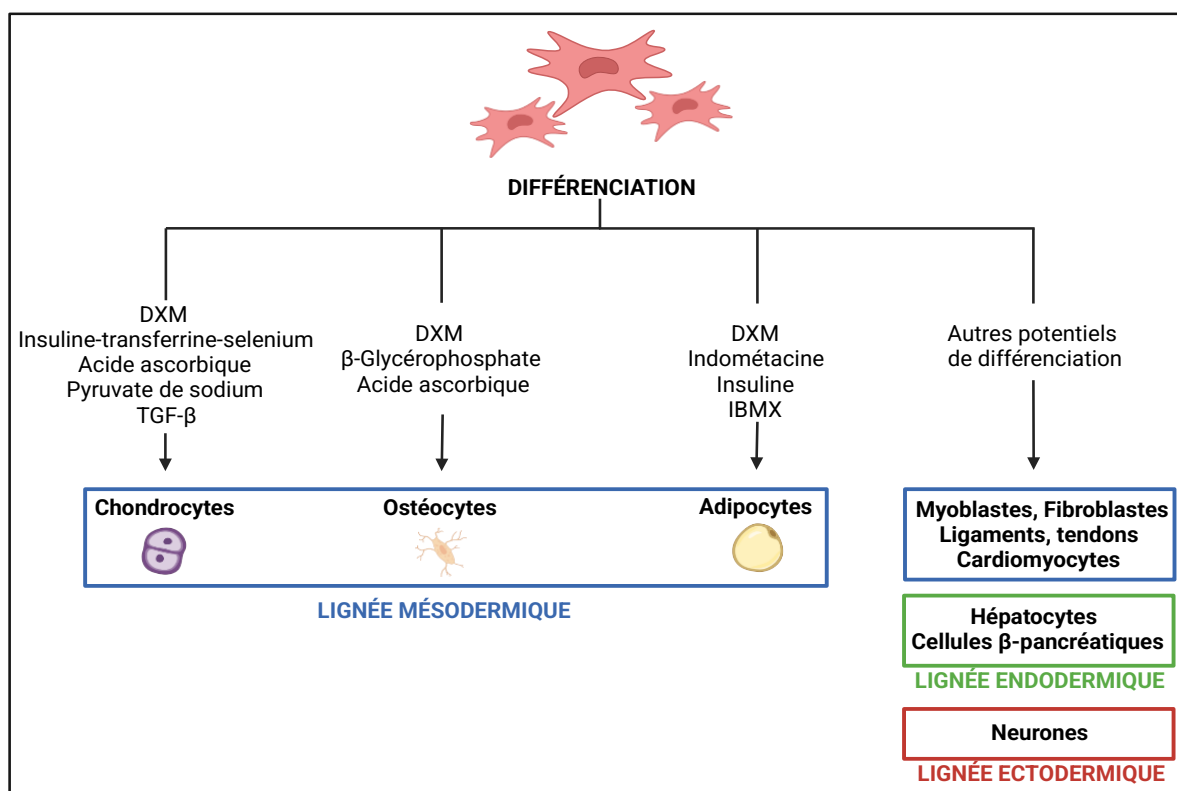


Figure 9 : Potentiel de différenciation des CSM (réalisée avec BioRender).

b) Autres voies de différenciation

Outre cette capacité de différenciation définie par l'ISCT, de nombreux rapports indiquent que les CSM peuvent être à l'origine d'autres types de cellules d'origine mésodermique (myoblastes, fibroblastes, ligaments, tendons et cardiomyocytes).

De plus, des études *in vitro* ont montré que ces cellules avaient également la capacité de se différencier en cellules d'origine endodermique (hépatocytes et cellules β pancréatiques) ainsi qu'en cellules d'origine ectodermique (neurones), sous des conditions de culture définies (25).

2. Activité paracrine des CSM

Les CSM sont largement reconnues pour leur activité paracrine, c'est-à-dire leur capacité à sécréter une large variété de molécules bioactives qui modulent l'environnement cellulaire et influencent les fonctions des cellules voisines. Ce processus repose sur la libération de divers facteurs biologiquement actifs, regroupés sous le terme de « sécrétome » comprenant des protéines, des cytokines, des facteurs de croissance, des enzymes et des vésicules extracellulaires. Étudié dans de nombreux modèles *in vitro* et *in vivo*, le sécrétome a révélé un potentiel thérapeutique significatif. Les recherches approfondies sur ses constituants montrent que les CSM exercent leur influence sans nécessiter leur intégration physique dans les tissus. Cela met en lumière l'importance des mécanismes paracrines des CSM, capables de déclencher et de soutenir des processus de réparation tissulaire par la libération de signaux bioactifs.

a) Activité angiogénique et anti-apoptotique

Les CSM possèdent des propriétés angiogéniques qui ont été largement étudiées en raison de leur importance dans de nombreuses pathologies telles que l'infarctus du myocarde, les lésions cérébrales et l'ischémie des membres.

Parmi les principaux facteurs angiogéniques sécrétés par les CSM on retrouve le VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*), l'HGF (*Hepatocyte Growth Factor*), le FGF (*Fibroblast Growth Factor*), le MCP-1 (*monocyte chemotactic protein 1*), le SDF-1 et l'angiopoïétine 1 entre autres.

En sécrétant ces facteurs les CSM favorisent la vascularisation en stimulant la prolifération et la survie des cellules endothéliales, essentielles pour la formation de

nouveaux réseaux sanguins. Les CSM sont aussi pourvues de facultés anti-apoptotiques en synthétisant du Bcl-2 (*B-cell lymphoma 2*) de la survivine, de l'IGF-1, de la stanniocalcine-1, du GM-CSF (*Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor*) ainsi que d'autres facteurs déjà mentionnés comme le VEGF, l'HGF et le FGF. Ces facteurs inhibent l'apoptose cellulaire et restaurent l'homéostasie cellulaire (23,26).

b) Activité anti-oxydante

Le stress oxydatif survient en réponse à divers stimuli physiques, chimiques ou psychologiques, comme le vieillissement et entraîne un déséquilibre entre les processus oxydants et antioxydants. Ce déséquilibre conduit à l'infiltration de cellules inflammatoires, à la libération de protéases et à l'accumulation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS, *Reactive Oxygen Species*), responsables de multiples dommages tissulaires.

Parmi les radicaux libres les plus étudiés figurent les espèces réactives de l'oxygène, dont les trois principaux sont : l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le radical hydroxyle ($\cdot OH$) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Les effets antioxydants des CSM ont été observés *in vitro* et *in vivo* dans divers modèles de maladies (vieillissement, inflammation gastro-intestinale, lésions ischémiques). Divers mécanismes ont été identifiés tels que la neutralisation des radicaux libres, la promotion des défenses antioxydantes natives, l'immunomodulation par la suppression des ROS et l'apport de mitochondries fonctionnelles aux cellules endommagées.

Plusieurs études ont mis en évidence la résistance des CSM aux lésions oxydatives, grâce à l'expression constitutive d'enzymes antioxydantes telles que la superoxyde dismutase (SOD1, SOD2), la catalase et la glutathion peroxydase. Ces enzymes convertissent les ROS en molécules moins réactives, limitant ainsi les dommages oxydatifs. De plus, les CSM présentent des niveaux élevés de glutathion, un puissant antioxydant qui aide à restaurer l'équilibre redox au sein des cellules. Les CSM sécrètent également l'hème-oxygénase 1 (HO-1), une enzyme capable de dégrader l'hème, un pro oxydant. Elles expriment aussi de manière constitutive la protéine de choc thermique (HSP70), qui protège les cellules contre le repliement incorrect des protéines et la sirtuine, impliquée dans la régulation du métabolisme et de la réponse cellulaire au stress. Ces protéines jouent un rôle dans la résistance des CSM aux lésions oxydatives/nitrosatives (27,28).

c) Activité anti-fibrotique

La fibrose est un processus pathologique caractérisé par une hyperplasie du tissu conjonctif, une multiplication des fibroblastes et une augmentation de la synthèse des fibres collagènes et/ou élastiques (29). Ce processus entraîne une accumulation excessive et désorganisée de la matrice extracellulaire dans les tissus ou les organes, altérant leur architecture et leur fonction. La fibrose peut être induite par le stress oxydatif, une inflammation persistante, une lésion chronique ou le vieillissement et peut affecter divers organes. L'inflammation chronique est l'un des principaux moteurs de la fibrose ; les macrophages et les cellules T y contribuent largement en sécrétant des médiateurs qui favorisent la différenciation des myofibroblastes, les principaux effecteurs cellulaires de la fibrose. Ces cellules sécrètent des protéines composant la MEC (collagène, fibronectine) et sont dotées de propriétés contractiles, contribuant ainsi à la rigidité tissulaire.

Les CSM peuvent exercer un effet protecteur contre la fibrose en modulant la fonction de diverses cellules immunitaires, limitant ainsi l'inflammation et la production de cytokines pro-inflammatoires telles que le TGF- β 1, un des principaux agents moléculaires de la fibrose. Par ce biais, elles limitent également la différenciation des myofibroblastes. De plus, les CSM exercent un effet anti-fibrotique par la sécrétion de médiateurs tels que le HGF et le VEGF, par la libération de VE contenant des protéines, des ARN et des microARN (miR) et par la régulation des voies de signalisation TGF- β /Wnt/SMAD (30,31). Les métalloprotéinases matricielles (MMP, *Matrix Metalloproteinase*) et leurs inhibiteurs tissulaires (TIMP, *Tissue Inhibitor of Metalloproteinase*) jouent un rôle crucial dans l'équilibre entre la synthèse et la dégradation de la MEC. Il a été démontré que la transplantation de CSM dans certains modèles fibrotiques permet de rétablir cet équilibre, en augmentant l'expression de certaines MMP dont MMP-3 et MMP-9 et en diminuant l'expression de TIMP-1, favorisant ainsi un environnement propice au remodelage de la MEC (32).

Malgré l'hétérogénéité de la physiopathologie des maladies fibrotiques, les CSM semblent être efficaces pour atténuer la fibrose, comme en témoignent des études précliniques menées sur des modèles hépatiques, cardiaques, rénaux et pulmonaires (24,30).

d) Activité antimicrobienne

Les CSM expriment une gamme de récepteurs de type *Toll-like* (TLR, *Toll-like receptor*) leur permettant de détecter et d'être activées par des antigènes microbiens tels que la flagelline, le peptidoglycane et le lipopolysaccharide. Elles peuvent agir directement en libérant des peptides antimicrobiens, entraînant ainsi la destruction cellulaire, la perturbation de l'intégrité membranaire, l'inhibition de la synthèse d'ADN, d'ARN, de protéines ainsi que le criblage d'éléments intracellulaires spécifiques.

Des études ont démontré que les BM-MSC humaines exercent une activité à large spectre sur les bactéries GRAM + (notamment *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, les streptocoques du groupe B et *Enterococcus faecium*) et sur les bactéries GRAM – (notamment *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, et *Vibrio cholerae*). Elles agissent également contre les mycobactéries, les virus et les parasites. Ces effets antimicrobiens sont médiés par l'expression constitutive de 4 peptides antimicrobiens par les CSM : la cathélicidine LL37, la lipocaline-2, la β -défensine-2 et l'hepcidine. D'autre part, les CSM peuvent également exercer des effets antimicrobiens indirects via leur action sur la réponse immunitaire de l'hôte contre les pathogènes (33).

e) Activité immunomodulatrice

Les CSM exercent des fonctions immunomodulatrices principalement par le biais d'interactions avec les cellules immunitaires, qu'il s'agisse des effecteurs de l'immunité innée ou adaptative.

Ces fonctions sont largement médiées par leur sécrétome et varient en fonction de l'origine des CSM, des cellules cibles et du microenvironnement.

Ces dernières seront détaillées plus amplement dans la section 5, afin de décrire l'impact des CSM sur les différents types cellulaires du système immunitaire.

3. Vésicules extracellulaires

En plus de leur capacité à libérer des facteurs solubles dans le microenvironnement, les CSM produisent des structures plus complexes appelées vésicules extracellulaires qui jouent un rôle clé dans la communication intercellulaire entre les CSM et les cellules cibles.

a) Classification et rôle

Les VE sont classées selon leur taille : les corps apoptotiques (vésicules de 1 à 5 μm), les microvésicules (de 100 à 1000 nm, d'origine non endocytaire) et les exosomes (de 30 à 150 nm, d'origine endosomale).

Elles contiennent une variété de molécules telles que des acides nucléiques (ARN messager (ARNm), miR et d'autres ARN régulateurs), des enzymes, des récepteurs, des cytokines, des chimiokines et des facteurs de croissance.

Le contenu des VE varie en fonction de la cellule d'origine, du microenvironnement et des conditions physiologiques et peut être modulé par des méthodes de pré conditionnement. La communication intercellulaire médiée par les VE s'effectue soit par une stimulation directe des cellules cibles via une interaction avec des récepteurs membranaires ou des ligands, soit par le transfert de leur matériel biologique (34).

b) Potentiel thérapeutique

Ces VE ont la capacité de cibler les tissus lésés et d'exercer des effets immunosuppresseurs ou d'autres effets similaires à ceux des CSM transplantées.

En particulier, elles jouent un rôle important dans la régulation du système immunitaire en modulant l'activité des cellules immunitaires, ce qui peut contribuer à atténuer l'inflammation et à favoriser des réponses réparatrices dans divers contextes pathologiques.

D'un point de vue thérapeutique, l'action des exosomes repose principalement sur les miR, dont les bienfaits ont été documentés dans la régénération de divers tissus. Par exemple, ils favorisent la régénération osseuse (miR27a, miR196a, miR206), stimulent le remodelage neuronal après un accident vasculaire cérébral (AVC) (miR133) et exercent une action anti-apoptotique en cas d'infarctus du myocarde (miR125b-5p) (35). Les VE présentent plusieurs avantages par rapport aux cellules elles-mêmes : une faible immunogénicité, la capacité à traverser les membranes biologiques, l'absence d'activité tumorale, une stabilité *in vitro* lors des processus de congélation/décongélation. Ces caractéristiques constituent des atouts majeurs pour leur utilisation en thérapie acellulaire. Cependant, certaines limites doivent être considérées compte tenu de la variation de l'efficacité des VE en fonction de la source cellulaire, du contexte physiopathologique et de la voie d'administration.

De plus, leur biodistribution et leur concentration dans l'organisme peuvent être difficiles à contrôler, posant des défis quant à leur optimisation thérapeutique.

Globalement, les VE dérivées des CSM montrent un fort potentiel dans des domaines comme la cicatrisation des plaies, le traitement des lésions ischémiques, la régénération osseuse et la neuroprotection. Leur utilisation en thérapeutique ouvre des perspectives intéressantes, notamment pour les maladies neurodégénératives, inflammatoires, auto-immunes et dans certains cancers (36).

4. Transfert mitochondrial

Au-delà des mécanismes d'action cités précédemment, de nombreuses études ont montré que les CSM possèdent la capacité de remplacer les mitochondries défectueuses et de compenser leur dysfonctionnement par un échange intercellulaire de mitochondries, processus connu sous le nom de transfert mitochondrial.

Ce mécanisme, mis en évidence pour la première fois en 2006 par Spees et al., a montré que des cellules A549, présentant des défauts d'ADN mitochondrial (ADNmt), co-cultivées avec des CSM dérivées de la moelle osseuse humaine pouvaient acquérir des mitochondries fonctionnelles (37).

a) Rôle des mitochondries dans la cellule

Les mitochondries, souvent qualifiées de « centrales énergétiques » des cellules sont des organites essentiels à la production d'ATP, à la régulation du métabolisme cellulaire et à l'apoptose. Leur dysfonctionnement entraîne une production excessive de ROS provoquant des dommages oxydatifs dans les cellules (38).

Le transfert de mitochondries permet de restaurer la fonction mitochondriale dans les cellules endommagées ou dysfonctionnelles en favorisant leur survie et leur récupération. Ce mécanisme est désormais envisagé comme une stratégie thérapeutique prometteuse pour la régénération des tissus.

b) Mécanismes du transfert mitochondrial

Plusieurs signaux ont été identifiés comme déclencheur de ce processus entre les CSM et les cellules réceptrices. Lors de lésions tissulaires, des mitochondries endommagées et certains de leurs composants sont libérés et sont reconnus comme des signaux de danger (DAMPs, *Damage-Associated Molecular Patterns*).

Parallèlement, le taux élevé de ROS libéré par les cellules inflammatoires ou en état de stress stimule la biogenèse mitochondriale des CSM et le transfert de ces mitochondries vers les cellules réceptrices (39,40).

Ce transfert peut s'effectuer par le biais de plusieurs mécanismes : (40,41)

- **Les nanotubes tunnels (TNT, *tunneling nanotube*)** : ce sont des structures tubulaires de 50 à 1000 nm de diamètre composées de microtubuline et de F-actine. Ces nanotubes connectent la membrane cytoplasmique et le cytoplasme de différentes cellules, agissant ainsi comme une voie de trafic pour divers composants cellulaires.
- **Les vésicules extracellulaires** : les microvésicules et les corps apoptotiques sont capables de transporter des particules mitochondriales entières ou partielles ainsi que le génome mitochondrial. Quant aux petites vésicules comme les exosomes, elles contiennent uniquement du matériel génétique. Les mitochondries encapsulées dans les VE sont ainsi protégées et transportées à travers le milieu extracellulaire jusqu'aux cellules cibles.
- **Les jonctions communicantes** : ce sont des structures membranaires formées par l'assemblage de protéines connexines, permettant le passage direct de petites molécules et d'ions entre les cellules adjacentes. La connexine 43 (Cx43), sous-type le plus étudié, joue un rôle central dans les échanges intercellulaires. Grâce à Cx43, les CSM peuvent établir des jonctions communicantes avec des cellules endommagées, facilitant ainsi le transfert de mitochondries. Ce mécanisme est particulièrement bien observé dans un modèle murin de lésion pulmonaire aiguë.
- **La fusion cellulaire** : est une forme de communication intercellulaire dans laquelle la membrane de deux ou plusieurs cellules fusionne transitoirement ou complètement afin de partager le contenu cytosolique, tels que des organites, tandis que le noyau reste intact. Cependant, la fusion cellulaire n'est pas le principal mécanisme de transfert mitochondrial.

c) Applications thérapeutiques

Le transfert mitochondrial présente un potentiel thérapeutique important dans divers modèles précliniques, notamment pour les lésions pulmonaires, cardiaques, cérébrales, oculaires et rénales, suggérant que les thérapies à base de CSM pourraient contribuer à atténuer diverses pathologies dégénératives et inflammatoires (41).

Dans les maladies pulmonaires, des études ont démontré que les CSM favorisent la restauration de la bioénergétique mitochondriale, entraînant une augmentation des niveaux d'ATP dans les cellules réceptrices, ce qui contribue au rétablissement des fonctions épithéliales pulmonaires. Ce phénomène a été observé dans divers modèles expérimentaux, notamment chez la souris dans des contextes de lésions pulmonaires aiguës et de maladies pulmonaires chroniques comme la bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO).

Dans les pathologies cardiaques, le transfert mitochondrial vers les cardiomyocytes favorise la restauration des cellules endommagées et limite leur apoptose.

En cas de lésions cérébrales, notamment lors d'un AVC, des études ont montré que l'injection de CSM chez le rat permettait d'atténuer les symptômes pathologiques, de réduire le volume des lésions, d'atténuer la réponse inflammatoire, de diminuer l'apoptose et de favoriser la régénération des cellules endommagées. Des preuves du transfert mitochondrial dans le système nerveux ont également été observées dans le cadre des lésions et de la réparation de la cornée où des cellules épithéliales cornéennes, soumises à un stress oxydatif, ont montré une amélioration de leur capacité respiratoire après transfert de mitochondries des CSM. De plus, la transplantation de CSM dans un modèle de lapin avec une blessure à l'œil a considérablement amélioré la cicatrisation de la cornée (41).

En pathologie rénale, les CSM restaurent la fonction mitochondriale des cellules tubulaires, limitant l'apoptose et l'inflammation induites par une ischémie-reperfusion (37,39).

Par ailleurs, des études récentes ont révélé que les CSM peuvent moduler la fonction des macrophages par le transfert mitochondrial, influençant ainsi la réponse immunitaire et l'effet antimicrobien, en améliorant la phagocytose, en favorisant la transformation des macrophages vers un phénotype anti-inflammatoire (M2) et en augmentant la production de facteurs anti-inflammatoires grâce à une phosphorylation

oxydative accrue (42). Cependant, bien que le transfert mitochondrial offre des bénéfices thérapeutiques, il peut également avoir des effets délétères, notamment en oncologie. Dans les tumeurs, les CSM peuvent transférer des mitochondries aux cellules cancéreuses via les TNT, ce qui augmente leur résistance à la chimiothérapie, leur prolifération et leur capacité métastatique. Par exemple, certaines cellules cancéreuses métastatiques dépourvues d'ADN mitochondrial et présentant un métabolisme altéré retrouvent leur capacité tumorale après avoir acquis des mitochondries intactes par transfert horizontal. Ce phénomène a été observé dans des modèles de leucémies myéloïdes aiguës, contribuant à leur résistance à la chimiothérapie. Ainsi, l'inhibition du transfert mitochondrial, notamment par le blocage des TNT, pourrait représenter une cible thérapeutique potentielle en oncologie (40). Bien que le transfert mitochondrial ait un grand potentiel thérapeutique, il est essentiel de mieux comprendre les mécanismes sous-jacents et leurs effets dans différents contextes physiopathologiques. En outre, l'interaction entre le transfert mitochondrial et les effets paracrines des CSM demeure un sujet de recherche, car ces mécanismes pourraient fonctionner indépendamment ou se compléter, nécessitant des études supplémentaires pour optimiser leur application clinique (39,40).

5. Focus sur l'immunomodulation : impact des CSM sur le système immunitaire

Le potentiel thérapeutique des CSM est surtout attribué à leur action immunomodulatrice. Dans cette section, nous approfondirons leur impact sur les différents effecteurs du système immunitaire.

a) Action sur les cellules de l'immunité innée

1) Action sur les monocytes/ macrophages

La moelle osseuse produit des monocytes à partir des cellules progénitrices myéloïdes. Lorsque ces cellules sont libérées dans la circulation périphérique et pénètrent dans les tissus, elles se différencient en macrophages. Les phénotypes des macrophages tissulaires sont divisés en deux catégories :

- Les macrophages pro-inflammatoires (M1)
- Les macrophages anti-inflammatoires (M2)

Les macrophages M1 se caractérisent par un phénotype pro-inflammatoire et une activité microbicide, alors que les macrophages M2 modulent la réponse immunitaire et sont impliqués dans les réponses anti-inflammatoires et la réparation des tissus endommagés. Il a été démontré que les CSM favorisent la polarisation des monocytes/macrophages vers un phénotype anti-inflammatoire / immunorégulateur de type M2 et inhibent leur différenciation en phénotype pro-inflammatoire de type M1. Cet effet polarisant peut être médié par diverses molécules dont la prostaglandine E2 (PGE2) qui se fixe sur les récepteurs EP2/EP4 à la surface des macrophages, le TSG-6 (*Tumor necrosis factor-alpha-stimulated gene/protein-6*) exprimé par les CSM après interaction avec les macrophages M1, mais aussi par l'indoleamine 2,3-dioxygénase (IDO), l'interleukine 6 (IL-6), l'HGF et l'IL-1RA (figure 10).

En outre, les macrophages pro-inflammatoires en contact avec les CSM augmentent l'expression de CD200 sur les CSM et favorisent la transformation anti-inflammatoire des macrophages par l'interaction entre CD200 et CD200R (43,44).

Ces macrophages M2 ont une action régulatrice par la sécrétion de cytokines anti-inflammatoires (IL-10, TGF- β) et présentent une activité phagocytaire accrue.

De plus, l'expression des molécules de costimulation est réduite chez ces macrophages, ce qui diminue leur capacité de présentation des antigènes inhibant ainsi la prolifération des lymphocytes T (LT) (43).

Les CSM médient également la transformation phénotypique des monocytes/macrophages par l'intermédiaire de leurs vésicules extracellulaires.

Ces vésicules, contenant des miR (miR-182, miR-223, miR-17), induisent la conversion des macrophages M1 en macrophages M2. En plus des miR, les vésicules extracellulaires des CSM peuvent transférer des ARNm, comme celui de l'angiopoïétine, qui favorise l'expression d'IL-10 et réduit celle de TNF- α (*Tumor Necrosis Factor-alpha*) dans les macrophages *in vitro*. Le sécrétome des CSM contient aussi les chimiokines CCL2 (*C-C Motif Chemokine Ligand 2*) et SDF-1, qui, en formant un hétérodimère, activent les macrophages porteurs du récepteur CCR2 (*CC-chemokine receptor 2*), stimulant la sécrétion d'IL-10. Enfin, les vésicules extracellulaires peuvent contenir des protéines comme le CD73, qui contribue à la polarisation des macrophages M1 vers le phénotype M2 (42,45).

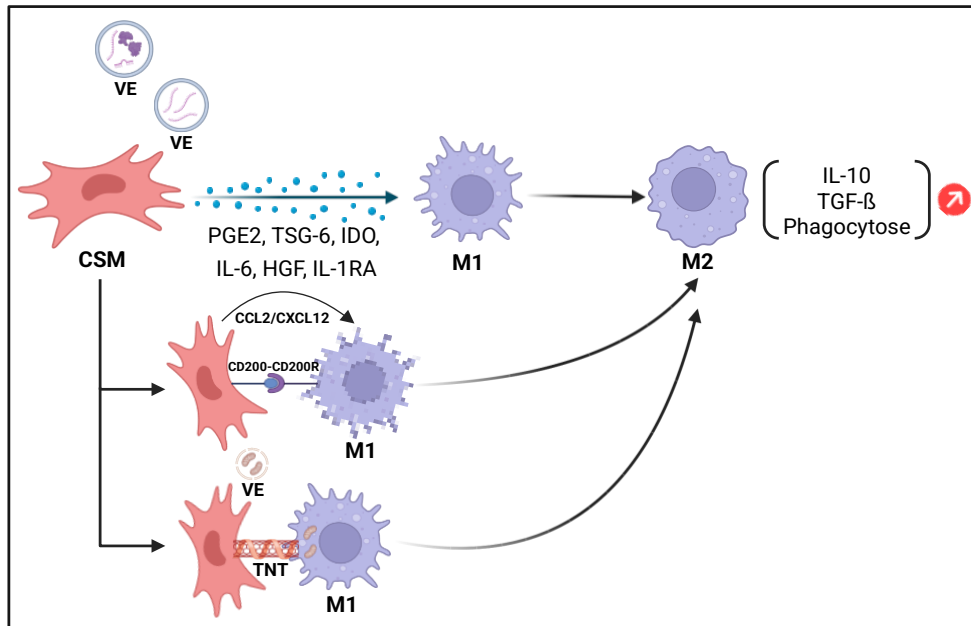


Figure 10 : Mécanisme d'action des CSM sur les macrophages
(réalisée avec BioRender).

2) Action sur les cellules dendritiques

Les cellules dendritiques sont des cellules présentatrices d'antigènes (CPA) capables d'initier les mécanismes de l'immunité adaptative en activant les lymphocytes T.

Les DC (*dendritic cell*) immatures se différencient progressivement en DC matures sous l'effet de facteurs inflammatoires ou de pathogènes. Une fois activées, elles jouent un rôle clé dans les réponses immunitaires adaptatives en stimulant la génération de lymphocytes T cytotoxiques.

On distingue deux types de DC : (46)

- **Les cellules dendritiques myéloïdes** (dites conventionnelles) : $CD11c^+$ $CD123^{low}$, sont caractérisées comme des CPA professionnelles. On distingue les résidentes, localisées dans les organes lymphoïdes secondaires et les migratoires présentes dans les tissus périphériques. Ces DC sont capables d'apprêter les antigènes et de les présenter préférentiellement aux LT $CD4^+$.
- **Les cellules dendritiques plasmacytoïdes** : $CD11c^-$ $CD123^{high}$ doivent leur nom à leur ressemblance avec les plasmocytes et sont caractérisées par leur capacité à sécréter des taux élevés d'interféron (IFN) de type I en réponse à une infection virale.

Il a été démontré que les CSM peuvent restreindre la différenciation, la maturation et la capacité de présentation de l'antigène des DC en perturbant la fonction des facteurs pro-inflammatoires. Tout d'abord, les CSM peuvent interférer avec la maturation des DC à partir des monocytes ou des cellules progénitrices CD34+ en induisant un phénotype immature. Cela se traduit par une diminution de l'expression des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe II, du marqueur de maturation CD83, de CD1a, ainsi que des molécules de costimulation (CD80/CD86), réduisant ainsi leur capacité à sécréter des cytokines pro-inflammatoires, comme l'IL-12, et à activer les lymphocytes T (35,47).

De plus, les CSM modifient le profil cytokinique des DC, les faisant passer d'un profil pro-inflammatoire à un profil anti-inflammatoire, caractérisé par une diminution de la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires comme le TNF- α par les DC myéloïdes CD1c+ et une induction accrue d'IL-10 par les DC plasmacytoïdes. Ces mécanismes sont médiés par des molécules telles que la PGE2, l'IL-6, le TSG-6 et le facteur de croissance des monocytes (M-CSF) (43) (figure 11).

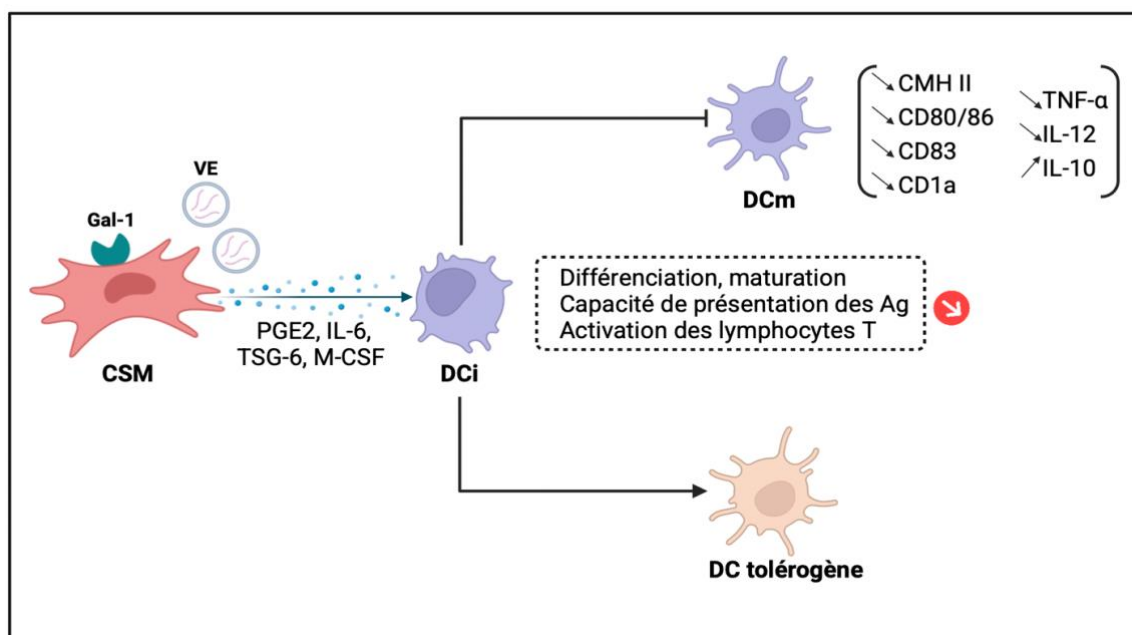


Figure 11 : Mécanisme d'action des CSM sur les cellules dendritiques (réalisée avec BioRender). (DCi : Cellule dendritique immature ; DCm : Cellule dendritique mature ; Ag : Antigène)

Il a été rapporté que les exosomes et microvésicules des CSM, riches en miR immunomodulateurs, sont capables de réduire de manière significative la captation des antigènes par les DC immatures et de freiner leur maturation (26).

Par ailleurs, la galectine-1 (Gal-1) a été identifiée comme un médiateur clé dans l'inhibition de la maturation des DC. Des études montrent que la Gal-1 sécrétée par les CSM a un effet de rétroaction positive sur ses niveaux d'expression, stimulant ainsi les DC vers un état immunotolérant via la voie de signalisation MAPK (48).

Enfin, l'exposition *in vitro* des DC aux CSM, ainsi que leur administration intraveineuse *in vivo*, entraînent une baisse significative de la régulation des molécules CCR7 et CD49d, impliquées dans le homing des DC vers les organes lymphoïdes. Cela conduit à l'inhibition de leur migration vers les ganglions lymphatiques et altère par conséquent l'amorçage des cellules T naïves spécifiques de l'antigène (49).

3) Action sur les cellules NK

Les cellules tueuses naturelles (NK) sont des effecteurs majeurs de l'immunité innée et sont généralement considérées comme jouant un rôle fondamental dans les réponses antivirales et antitumorales. Leur activité est régulée en permanence par des récepteurs membranaires activateurs et inhibiteurs et repose sur la libération de granules cytotoxiques contenant des protéines telles que la perforine et les granzymes, ainsi que sur la sécrétion de cytokines telles que l'IFN- γ et le TNF- α .

Il a été démontré que les CSM peuvent exercer un effet inhibiteur sur la prolifération des cellules NK activées et induire leur apoptose en inhibant le cycle cellulaire en phase G0/G1. Ce mécanisme d'inhibition dépend des cytokines impliquées dans l'activation des cellules NK. En effet, lorsque ces dernières sont stimulées par des cytokines telles que l'IL-2, l'IL-12, l'IL-15 ou l'IL-21, la présence de CSM réduit de manière significative, mais à des degrés différents, leur prolifération (50).

Les CSM ont également une action inhibitrice sur les fonctions effectrices des cellules NK telles que la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires et leur activité cytotoxique en réduisant l'exocytose et la libération de perforine et de granzymes.

De plus, l'expression des récepteurs activateurs (NKp30, NKp44, NKGD2) impliqués dans l'activation des cellules NK et l'élimination des cellules cibles est également diminuée. Cette action immunosuppressive est principalement médiée par les facteurs

solubles sécrétés par les CSM, tels que la PGE2, l'IDO, le TGF- β et l'HLA-G5 (*Human Leukocyte Antigen G5*) (26,51) (figure 12).

Cependant, la capacité des CSM à exercer des effets suppressifs sur les cellules NK dépend de l'interaction entre les deux types de cellules, du type d'interleukine activant les cellules NK, de leur ratio respectif ainsi que du contexte microenvironnemental (26).

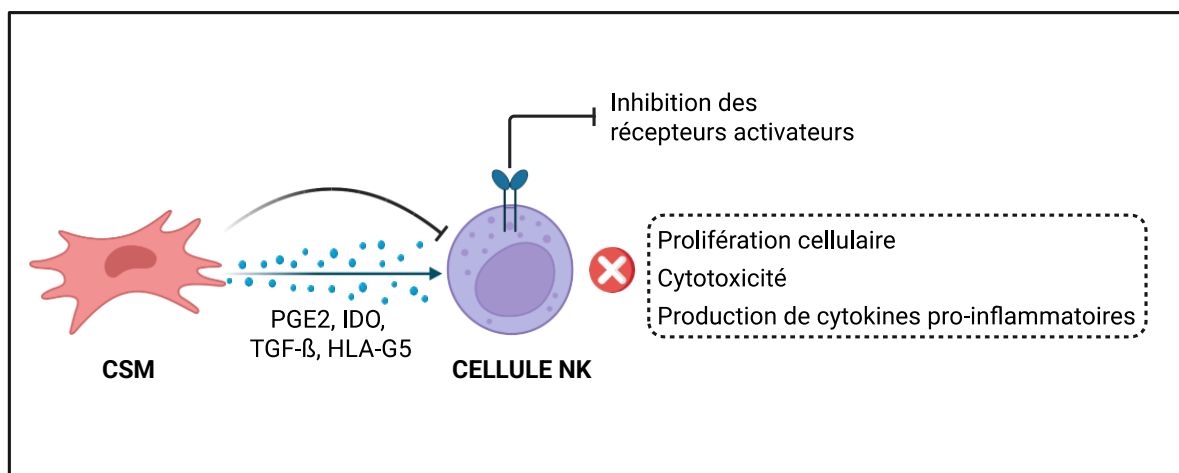


Figure 12 : Mécanisme d'action des CSM sur les cellules NK
(réalisée avec BioRender).

b) Action sur les cellules de l'immunité adaptative

1) Action sur les lymphocytes B

Les lymphocytes B (LB) sont des cellules de l'immunité humorale spécialisées dans la production d'anticorps et impliquées dans la présentation d'antigènes aux LT.

Les cellules souches mésenchymateuses, après activation par l'IFN- α , modulent l'activité des lymphocytes B en inhibant leur prolifération et en bloquant le cycle cellulaire en phase G0/G1. Les CSM restreignent également la différenciation des lymphocytes B en plasmocytes via l'expression de PD-L1 (*Programmed Death-Ligand 1*) et la sécrétion de cytokines et de facteurs solubles tels que l'IL-1RA, le CCL2 et l'IDO. Ce blocage empêche ainsi la production d'immunoglobulines (IgM, IgG) par les plasmocytes (51). Les CSM peuvent également inhiber l'expression des récepteurs de chimiokines CXCR4 (*C-X-C chemokine receptor type 4*), CXCR5 et CCR7 situés à la surface des LB, limitant leur capacité de chimiotaxie (49). La Gal-9 s'est révélée être un médiateur des effets antiprolifératifs et fonctionnels des CSM, agissant non

seulement sur les lymphocytes T mais aussi sur les lymphocytes B. Une fois les CSM activées, la Gal-9 est surexprimée et inhibe la prolifération des lymphocytes B ainsi que leur production d'anticorps (49).

Par ailleurs, les CSM favorisent l'émergence des lymphocytes B régulateurs (Breg), un sous-type de lymphocytes B à fonction immunosuppressive, notamment ceux synthétisant de l'IL-10. Ces Bregs induisent une tolérance immunologique et facilitent la conversion des LT CD4⁺ effecteurs en LT régulateurs (Tregs) Foxp3⁺, permettant le maintien de la tolérance périphérique et renforçant ainsi l'action anti-inflammatoire globale (figure 13).

Enfin, les effets immunomodulateurs des CSM sur les LB et les plasmocytes sont également associés aux VE. Des études ont montré que les miRs délivrés par les VE, tels que le miR-155-5p, réduisent l'activation du cycle cellulaire des lymphocytes B en ciblant la voie PI3K/AKT impliquée dans la prolifération et la survie des cellules (52). Plus récemment, il a été démontré que les VE bloquent l'interaction entre les cellules T auxiliaires folliculaires et les cellules B germinales, ce qui pourrait entraîner une réduction du score de la maladie du greffon contre l'hôte (GVHD, *Graft-versus-host-disease*) dans un modèle murin de GVHD chronique (43).

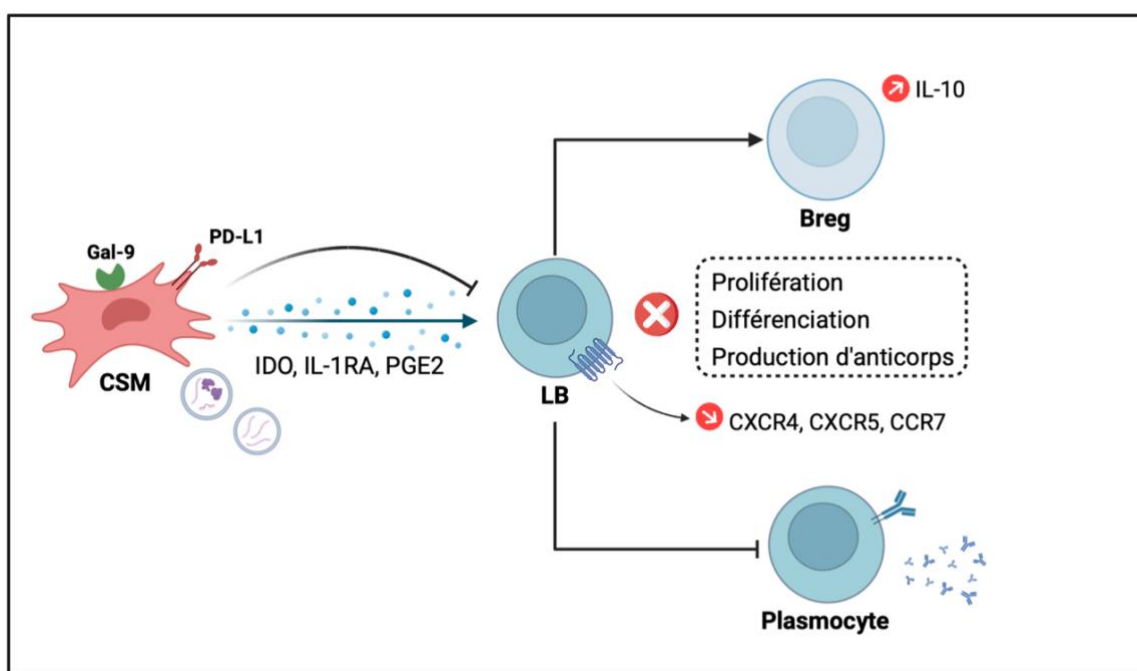


Figure 13 : Mécanisme d'action des CSM sur les lymphocytes B
(réalisée avec BioRender).

2) Action sur les lymphocytes T

Les lymphocytes T sont des cellules immunitaires essentielles à la réponse immunitaire adaptative. Ils dérivent de précurseurs lymphoïdes issus de la moelle osseuse qui migrent vers le thymus pour y achever leur maturation. Ils se distinguent ensuite principalement en deux grandes catégories : les lymphocytes T auxiliaires (CD4+) et les lymphocytes T cytotoxiques (CD8+).

Les lymphocytes T CD4+, ou auxiliaires, jouent un rôle central dans la réponse immunitaire adaptative. En activant et en régulant d'autres cellules immunitaires, notamment les lymphocytes B et les lymphocytes T cytotoxiques, ils orchestrent une réponse immunitaire efficace contre les infections. Les LT CD4+ se divisent en différentes sous-populations, telles que les lymphocytes helpers Th1, Th2 et Th17, chacune ayant des fonctions spécifiques dans la défense de l'organisme et la régulation des réponses inflammatoires. De plus, les lymphocytes T régulateurs dérivés des LT CD4+ sont essentiels pour maintenir la tolérance immunitaire et prévenir les réactions auto-immunes.

En revanche, les lymphocytes T CD8+ sont responsables de l'élimination directe des cellules infectées par des virus ou des cellules tumorales.

Les études ont montré que la prolifération des LT CD4+ et CD8+ peut être inhibée par les CSM soit de façon directe via un contact cellule-cellule, soit par leur activité paracrine. Cela se fait également de manière indirecte en modulant la fonction d'autres effecteurs immunitaires, notamment les CPA. Les CSM sensibilisées par des cytokines pro-inflammatoires telles que l'IFN- γ , le TNF- α , l'IL-1 et l'IL-1 β présentent également une surexpression des molécules d'adhésion ICAM-1 (*Intercellular Adhesion Molecule-1*) et VCAM-1, qui sont cruciales pour le recrutement des LT. Les CSM établissent ensuite un contact cellulaire avec ces lymphocytes grâce à l'expression d'intégrines et de molécules d'adhésion intercellulaires. Une fois ce contact établi, l'inhibition des LT par les CSM peut s'exercer via des voies moléculaires telles que PD1/PD-L1 et FAS/FAS-L (35,51).

Les CSM exercent également une action immunosuppressive par leur activité paracrine et notamment par l'expression d'IDO, l'un des acteurs majeurs de l'inhibition des LT. Cette enzyme, produite par les CSM en réponse à l'IFN- γ , catalyse la conversion du tryptophane en kynurénine. L'inhibition de la prolifération des LT résulte de la déplétion en tryptophane et des métabolites engendrés (53). D'autres molécules

telles que la PGE2, le TGF- β , l'HGF, l'HLA-G5 et l'IL-10 sont également impliquées dans cette immunosuppression (43,49,51). Plus récemment, les galectines, appartenant à la famille des lectines, ont été identifiées comme des acteurs de l'activité des CSM : la Gal-9, dont l'expression augmente en réponse à l'activation des CSM par l'IFN- γ , la Gal-3, qui participe à la modulation de la prolifération des LT et des LB et la Gal-1, qui contribue à réduire la libération de cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF- α et l'IFN- γ (35,54).

En parallèle de cette immunosuppression, les CSM modulent la balance des lymphocytes auxiliaires en inhibant la prolifération des LT auxiliaires Th1 et Th17 et la production de cytokines pro-inflammatoires, tout en induisant une différenciation préférentielle vers un profil Th2, sécrétant de l'IL-4 et de l'IL-5. Cependant, dans certaines maladies où les réponses Th2 sont prédominantes, comme dans l'asthme allergique, cette dynamique peut être renversée et les CSM peuvent exercer la même influence suppressive sur les Th2 (55).

Enfin, les CSM peuvent également induire la différenciation des LT naïfs vers un phénotype régulateur Treg (CD4⁺ CD25⁺ FoxP3⁺). Ces cellules permettent le maintien de la tolérance immunitaire en inhibant l'activation excessive des LT effecteurs, des cellules dendritiques et d'autres cellules inflammatoires via des mécanismes de contact cellulaire direct et la sécrétion de cytokines immunosuppressives telles que l'IL-10 et le TGF- β (43,51) (figure 14).

Les exosomes jouent également un rôle dans la modulation des LT en inhibant leur prolifération et leur différenciation en Th1/Th17, tout en favorisant la production de Treg par diverses voies et mécanismes (déstabilisation du protéasome ROR γ T, miR, molécules de signalisation de tolérance immunitaire, arrêt du cycle cellulaire via la voie p27kip/Cdk2) (56,57).

Par ailleurs, il a été montré que le transfert mitochondrial des BM-MSC humaines vers les Th17 entraîne une diminution de la sécrétion d'IL-17 et favorise leur polarisation en Treg (58). Une autre étude récente s'est intéressée au transfert mitochondrial des CSM médié par des vésicules extracellulaires dans un modèle d'hépatite auto-immune humaine. Ce transfert mitochondrial a permis, au moins partiellement, d'atténuer l'activation des LT CD4⁺ par reprogrammation métabolique entraînant une diminution des lésions hépatiques (59).

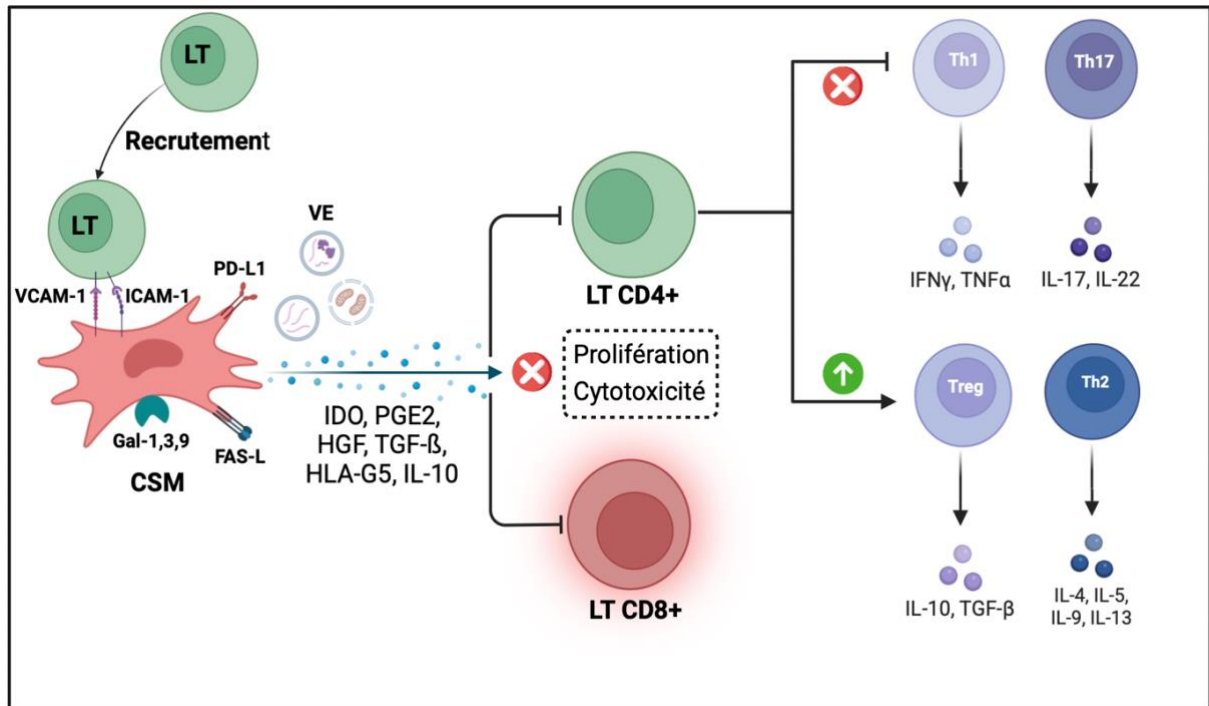


Figure 14 : Mécanisme d'action des CSM sur les LT (réalisée avec BioRender).

III. Aspects techniques

A. Aspects réglementaires des médicaments de thérapie innovante (MTI)

1. Définition des MTI

En 2007, la réglementation européenne définit une nouvelle classe de médicaments, les médicaments de thérapie innovante (MTI) ou ATMP (*Advanced Therapy Medicinal Product*), regroupant les médicaments biologiques basés sur l'utilisation de gènes, des cellules ou des tissus. Les MTI sont régis par un cadre réglementaire spécifique, constitué du règlement 1394/2007/CE et de la directive 2009/120/CE (60).

Ces médicaments sont classés en 4 catégories (61,62) :

- **Les médicaments de thérapie génique :** médicaments biologiques comprenant une substance active qui contient ou est constituée d'acide(s) nucléique(s) recombinant(s) destinés à réguler, réparer, remplacer, ajouter ou supprimer une séquence génétique et dont l'effet thérapeutique résulte directement de cette action (62).

Un exemple représentatif est le Strimvelis® (GSK2696273), premier produit de thérapie génique *ex vivo* à base de cellules souches autorisé en Europe. Il est indiqué dans le traitement du déficit immunitaire combiné sévère dû à une déficience en adénosine désaminase (DICS-ADA). En l'absence d'ADA fonctionnelle, des sous-produits toxiques du métabolisme des purines s'accumulent et provoquent la lyse et l'apoptose des lymphocytes ce qui entraîne une lymphopénie sévère et par conséquent une immunodéficiência profonde. Le principe de Strimvelis® repose sur l'utilisation de CSH autologues (CD34+) prélevées à partir de la moelle osseuse du patient, puis transduites *ex vivo* à l'aide d'un vecteur gamma-rétroviral codant pour une copie fonctionnelle du gène ADA (63). Les cellules corrigées sont ensuite réinjectées au patient où elles assurent la production d'une ADA fonctionnelle, permettant de rétablir une fonction immunitaire efficace.

- **Les médicaments de thérapie cellulaire somatique** : ils contiennent ou consistent en des cellules ou des tissus qui ont fait l'objet d'une manipulation substantielle de façon à modifier leurs caractéristiques biologiques, leurs fonctions physiologiques ou leurs propriétés structurelles par rapport à l'usage clinique prévu, ou en des cellules ou tissus qui ne sont pas destinés à être utilisés pour la ou les mêmes fonctions essentielles chez le receveur et le donneur. Ils possèdent des propriétés permettant de traiter, prévenir ou diagnostiquer une maladie à travers l'action métabolique, immunologique ou pharmacologique de ses cellules ou tissus (62).

Obnitix® est un médicament de thérapie cellulaire somatique à base de CSM allogéniques issues de la moelle osseuse. Ces cellules sont isolées à partir de donneurs sains, puis expansées *ex vivo* et cryoconservées avant administration. Il est indiqué dans le traitement de la réaction du greffon contre l'hôte aiguë résistante aux corticoïdes chez les patients ayant reçu une greffe de CSH allogéniques. Il est actuellement accessible dans le cadre de programmes d'accès compassionnels (64). Son effet thérapeutique repose sur les propriétés immunomodulatrices des CSM qui permettent de réguler la réponse immunitaire pathologique.

- **Les médicaments issus de l'ingénierie tissulaire** : ce sont des médicaments biologiques qui contiennent des cellules ou tissus issus de l'ingénierie tissulaire et qui sont présentés comme possédant des propriétés leur permettant de régénérer, réparer ou remplacer un tissu humain, ou qui sont utilisés chez l'être humain ou administrés à celui-ci dans ce but. Sont considérés comme issus de l'ingénierie tissulaire les cellules ou tissus ayant fait l'objet d'une manipulation substantielle de façon à obtenir des caractéristiques biologiques, des fonctions physiologiques ou des propriétés structurelles utiles à la réparation, la régénération ou au remplacement recherchés, et/ou les cellules ou tissus qui ne sont pas destinés à être utilisés pour la ou les mêmes fonctions essentielles chez le donneur et le receveur (62).

À titre d'exemple, Holoclar® est un traitement composé d'un feuillet circulaire de cellules épithéliales cornéennes humaines autologues viables (300 000 à 1 200 000 cellules) adhérant à un support de fibrine. Ce feuillet comprend en moyenne 3,5% de cellules souches limbiques ainsi que des cellules partiellement ou

totalement différenciées. Il est indiqué chez les patients adultes souffrant d'une déficience en CS limbiques modérée à sévère causée par des brûlures oculaires chimiques ou physiques. Une fois implantées dans l'œil, les cellules cornéennes d'Holoclar contribuent à remplacer la surface cornéenne tandis que les cellules limbiques servent de réservoir pour régénérer la cornée de manière continue (65).

- **Les médicaments combinés de thérapie innovante** : ils incorporent, en tant que partie intégrante du produit, un ou plusieurs dispositifs médicaux couplés à une partie cellulaire ou tissulaire contenant des cellules ou tissus dont l'action est considérée comme essentielle par rapport à celle du ou des dispositifs médicaux seuls (62).

MACI® (Matrix-Induced Autologous Chondrocyte Implantation) est composé de chondrocytes autologues isolés à partir d'une biopsie de cartilage du patient, amplifiés *ex vivo* puis ensemencés sur une membrane de collagène porcine servant de support. Il est indiqué dans le traitement des lésions cartilagineuses symptomatiques du genou chez l'adulte (66). Une fois implanté chirurgicalement, le dispositif adhère aux tissus environnants et s'intègre progressivement au cartilage du patient. Au fil du temps, les chondrocytes implantés commencent à former de nouveaux tissus cartilagineux ce qui aide à réparer la zone endommagée.

2. Contexte réglementaire des MTI

Au niveau réglementaire, l'autorisation des MTI nécessite au préalable l'octroi d'une autorisation de mise sur le marché (AMM) qui relève de la procédure centralisée, délivrée par la Commission européenne après évaluation de l'Agence européenne des médicaments (EMA, *European Medicines Agency*). Ceci a pour but de faciliter l'accès au marché de ces produits (67).

Deux comités vont intervenir :

- Le CHMP (*Committee for Medicinal Products for Human Use*) évalue la demande d'AMM et émet une recommandation transmise à la Commission européenne, qui décide ensuite d'accorder ou non l'autorisation de mise sur le

marché. Si l'AMM est octroyée, elle est valable dans tous les états membres avec un nom commercial unique.

- Le CAT (*Committee for Advanced Therapies*) est le comité de l'EMA chargé de la classification, de l'évaluation de la qualité, de la sécurité et de l'efficacité des ATMP et du suivi des progrès scientifiques dans le domaine. La principale responsabilité de ce comité est de préparer un projet d'avis pour chaque demande d'ATMP soumise à l'EMA afin de soutenir la décision finale du CHMP.

D'autre part, l'EMA a mis en place des stratégies spécifiques pour faire progresser et faciliter le développement des ATMP, en particulier via le régime dit de « l'exemption hospitalière ». Établie par l'article 28 du règlement ATMP et modifiant l'article 3 (7) de la directive 2001/83/CE, cette exemption permet l'utilisation de médicaments de thérapie innovante préparés de manière non routinière, selon des normes de qualité spécifiques, dans un même état membre, et administrés dans un hôpital sous la responsabilité professionnelle d'un médecin. Ces produits doivent répondre à une prescription médicale individuelle et être conçus sur mesure pour un patient unique (68).

3. Distinction entre MTI et préparations de thérapie cellulaire (PTC)

Dans le cadre réglementaire européen, tous les produits cellulaires ou tissulaires à visée thérapeutique ne relèvent pas nécessairement de la catégorie des MTI après la classification par le CAT. Ils répondent alors à la définition de préparations de thérapie cellulaire (PTC), sous compétence de l'ANSM (Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé) et réglementés au niveau national sur la base de la directive 2004/23/CE (60,61).

Deux critères permettent de faire la distinction entre les MTI et les PTC : (69,70)

- **L'existence de manipulations substantielles réalisées au cours du procédé de production des cellules ou tissus c'est à dire une manipulation visant à obtenir des caractéristiques biologiques, des fonctions physiologiques ou des propriétés structurelles pour l'usage clinique prévu.**
- **L'utilisation des cellules et des tissus pour une fonction essentielle différente chez le receveur par rapport au donneur.**

Les manipulations considérées comme non substantielles (liste non exhaustive) et substantielles sont listées dans le tableau ci-après (tableau 1) (70).

Tableau 1 : Liste des manipulations considérées généralement comme substantielles/ non substantielles

<i>Manipulations non substantielles</i>	<i>Manipulations substantielles</i>
<ul style="list-style-type: none"> - Découpage / Broyage / Façonnage - Centrifugation - Trempage dans des solutions antibiotiques ou antimicrobiennes - Stérilisation - Irradiation - Séparation, concentration ou purification de cellules - Filtration - Lyophilisation - Congélation - Cryoconservation - Vitrification 	<ul style="list-style-type: none"> - Culture ex vivo - Expansion / Activation ex vivo - Manipulation génétique (transfert de gènes, modification du génome) - Altération du phénotype

Le deuxième critère utilisé pour distinguer les PTC des MTI repose sur l'usage homologue ou non du produit. Par exemple, un prélèvement de moelle osseuse réalisé en vue d'une greffe allogénique de CSH ou une greffe d'îlots de Langerhans dans le cadre du diabète de type 1 sont considérés comme des PTC, à condition qu'aucune manipulation substantielle n'ait été réalisée.

Il est important de noter que le statut de MTI ou de PTC est évolutif : une modification du processus de fabrication ou un changement d'indication peut faire basculer un produit défini comme un PTC vers un MTI.

Dans le cas des CSM, leur expansion *in vitro* justifie leur classification en tant que médicaments de thérapie innovante. Cette classification implique des exigences réglementaires spécifiques, distinctes de celles applicables aux PTC, notamment en matière de fabrication, de contrôle de la qualité et d'autorisation de mise sur le marché.

B. Production des CSM à usage clinique

1. Généralités

La production des CSM humaines à usage clinique doit être réalisée dans le strict respect des directives européennes en matière de Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF ou *Good Manufacturing Practices, GMP*) en vigueur (Volume 4, part IV de l'EudraLex) (71). En France la production de MTI relève du monopole pharmaceutique, ce qui implique que ces médicaments doivent obligatoirement être produits sous la responsabilité d'un pharmacien exerçant au sein d'un établissement pharmaceutique autorisé. Cette exigence s'inscrit dans une logique de maîtrise rigoureuse du processus de fabrication, conformément aux standards de l'industrie pharmaceutique, qu'il s'agisse d'établissements industriels ou, depuis la loi n°2011-302, d'organismes à but non lucratif disposant d'une structure pharmaceutique agréée (70).

L'ensemble des processus de fabrication des CSM (figure 15) comprend plusieurs étapes telles que la sélection du donneur et de la source de CSM, l'isolement et l'expansion cellulaire, les contrôles qualités, le stockage et l'administration ultérieure des cellules expansées (72).

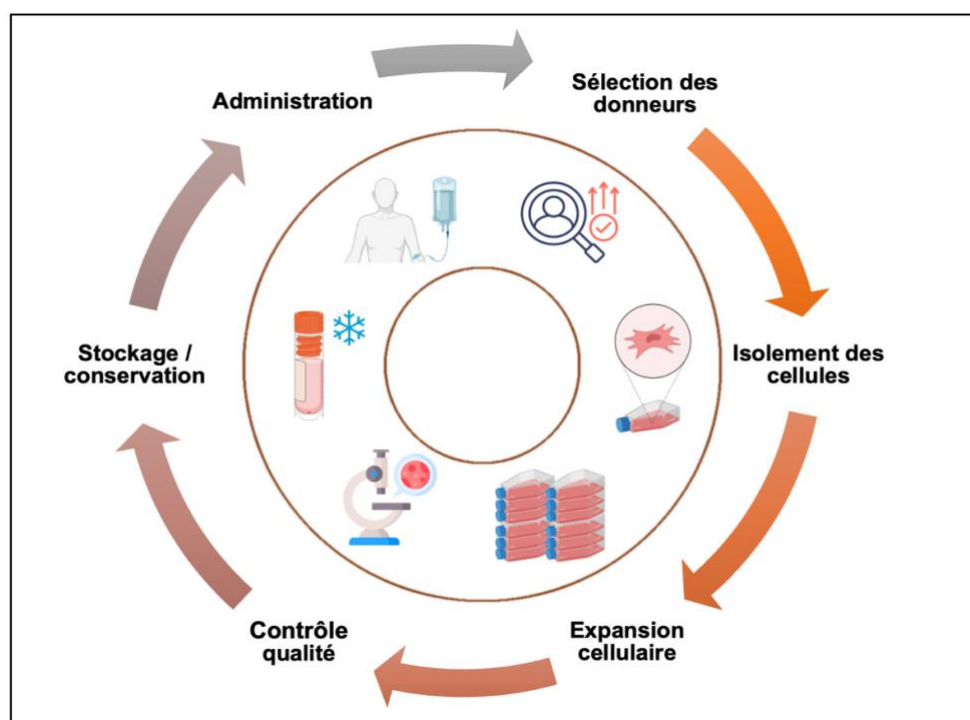


Figure 15 : Diagramme des principales étapes pour la fabrication de CSM humaines (réalisée avec BioRender).

2. Collecte du matériel de départ

Comme abordé précédemment, les CSM ont été isolées à partir de nombreux tissus adultes et périnataux mais, quelle que soit leur origine, toutes les CSM peuvent satisfaire aux critères minimaux de l'ISCT en termes de phénotype, de différenciation et de capacités immunorégulatrices. Cependant, le rendement cellulaire, la cinétique de croissance et la puissance peuvent varier en fonction du tissu source et du protocole utilisé pour obtenir le matériel de départ des cultures.

Aujourd'hui, dans l'état actuel des connaissances, la sélection du matériel de départ ainsi que les méthodes d'isolement et d'expansion des cellules reposent sur un ensemble de facteurs logistiques, scientifiques et d'expériences propres aux centres ou aux industries. Étant donné que l'expansion *in vitro* est une étape nécessaire pour l'utilisation clinique des CSM, il est préférable de sélectionner une source offrant une grande quantité de cellules avec un fort potentiel de prolifération, capables de supporter de longues périodes en culture sans développer d'instabilité génétique ni de profil sénescence. Les CSM peuvent être obtenues à partir des cellules du patient lui-même (autologues) ou de celles d'autres donneurs (allogéniques). Actuellement, les cellules et tissus utilisés comme matières premières pour la fabrication de médicaments à base de cellules doivent respecter les directives 2004/23/CE, 2006/17/CE et 2006/86/CE, qui définissent les exigences légales concernant le don, le prélèvement et les tests des tissus et cellules humains (73).

Un autre facteur crucial à prendre en compte est le donneur lui-même. Des études ont montré que des éléments tels que le sexe, l'âge, les comorbidités et/ou les antécédents cliniques du donneur influencent les propriétés des CSM. L'âge, en particulier, est un facteur déterminant, car il a été observé que les CSM provenant de donneurs plus jeunes sont généralement plus efficaces que celles issues de donneurs plus âgés (74). Par exemple, en comparant le nombre de CFU-F dans la moelle osseuse en fonction de l'âge des donneurs, il a été constaté que celle des enfants en contient davantage. De plus, une diminution des capacités prolifératives et multipotentes des CSM semble être directement liée à l'âge du donneur (75).

Enfin, concernant la source tissulaire, les CSM isolées de la moelle osseuse, du tissu adipeux et du cordon ombilical sont les plus couramment étudiées dans les essais cliniques. Ci-après, nous allons détailler les processus d'isolement concernant ces trois sources principales.

3. Isolement des CSM

a) Isolement des BM-MSC

La moelle osseuse, source historique des CSM, demeure un tissu privilégié pour leur isolement. Sa collecte suit un protocole similaire à celui utilisé pour les CSH.

L'aspiration se fait généralement au niveau de la crête iliaque (antérieure ou postérieure), soit par des ponctions multiples de petits volumes (inférieur à 4 mL) (76) à l'aide de seringues préremplies d'héparine, soit par une aspiration unique en un seul site avec des seringues de plus grande capacité (~ 60 mL) (77).

La première méthode permet de limiter l'hémodilution et d'améliorer le rendement en CSM. Des quantités plus importantes de moelle osseuse humaine peuvent également être prélevées lors d'interventions chirurgicales telles que les arthroplasties de la hanche ou du genou où la moelle devient accessible après ostéotomie (76).

Après centrifugation, le surnageant est aspiré et le culot obtenu est lavé avec une solution tampon phosphate salin (PBS, *phosphate-buffered saline*) contenant de l'EDTA (acide éthylène diamine tétra-acétique), puis ensemencé directement dans un milieu de culture selon la méthode classique (figure 16).

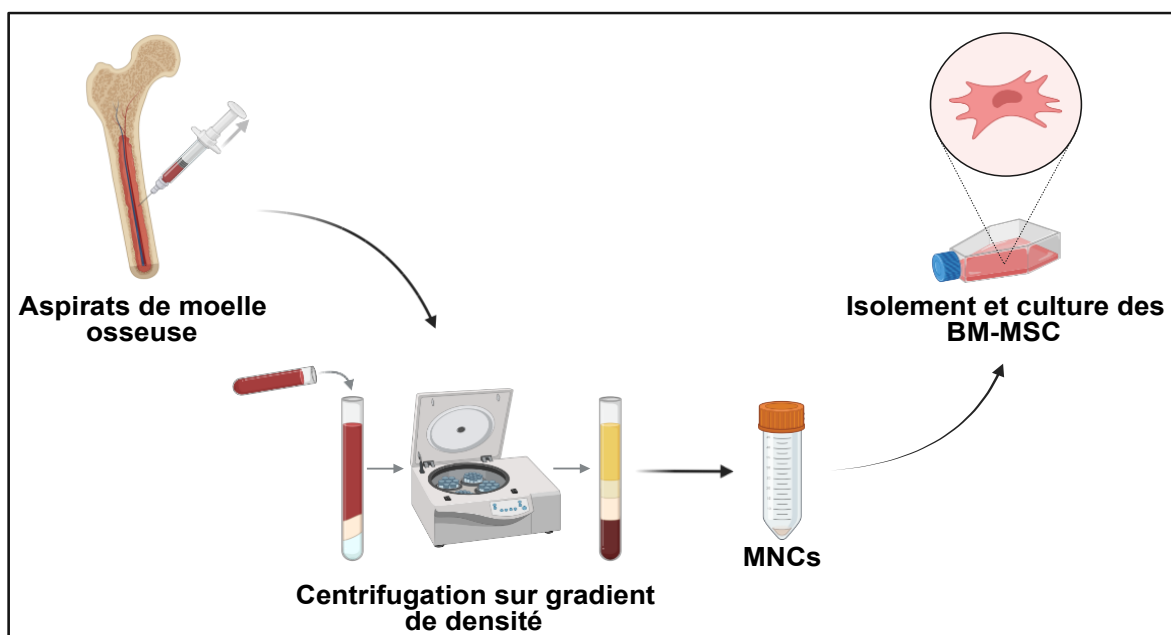


Figure 16 : Schématisation de l'isolement des BM-MSC (réalisée avec BioRender).

Actuellement, pour optimiser l'isolement des CSM, les aspirats de MO sont généralement soumis à une centrifugation sur gradient de densité (Percoll/ Ficoll-Paque) (17) afin d'isoler les cellules mononucléées (MNC, *Mononuclear Cells*).

Les cellules isolées sont ensuite lavées, resuspendues et comptées avant d'être ensemencées dans des plaques de culture pour une première période d'incubation. Après 48 à 72h, les cellules non adhérentes sont éliminées par lavage tandis que les CSM, caractérisées par leur capacité d'adhésion au plastique, commencent à proliférer. Les cultures sont ensuite maintenues jusqu'à atteindre au moins 80% de confluence (passage 0, P0) (76,78,79).

b) Isolement des AT-MS

L'isolement des CSM à partir du tissu adipeux humain est une méthode courante, principalement réalisée à partir d'échantillons de lipoaspiration obtenus par liposuction. Des biopsies de tissu adipeux peuvent également être utilisées pour isoler les CSM. Dans ce cas, le processus comprend une étape préliminaire de découpe et de traitement mécanique afin de fragmenter le tissu (77).

Depuis que Zuk et al. ont décrit en 2001 une procédure d'isolement des CSM à partir du tissu adipeux, cette approche enzymatique reste la méthode la plus couramment utilisée (80). Une fois la fraction lipidique récupérée, celle-ci est soumise à une digestion enzymatique à 37°C pendant environ 30 à 60 minutes avec de la collagénase (de type I ou II) afin de dissocier les tissus. L'étape suivante comprend la neutralisation de l'enzyme et la filtration de la suspension pour éliminer les fragments non digérés. Après centrifugation, la fraction vasculaire stromale (SVF, *Stromal Vascular Fraction*) est obtenue. Elle contient une population hétérogène de cellules incluant des AT-MS, des cellules endothéliales, des érythrocytes, des fibroblastes, des lymphocytes, des macrophages et des péricytes. Un double lavage et une centrifugation sont ensuite réalisés pour éliminer partiellement les érythrocytes (via NH_4Cl ou solution hypotonique) ainsi que les cellules immunitaires résiduelles. Puis la SVF est remise en suspension dans du milieu de culture et ensemencée (passage 0) permettant à un sous-ensemble de cellules d'adhérer au support et d'être purifié au fil du temps (76,80,81) (figure 17). Enfin des méthodes non enzymatiques d'isolement (ex. filtration, centrifugation différentielle) sont en développement bien qu'elles restent moins efficaces en termes de rendement cellulaire.

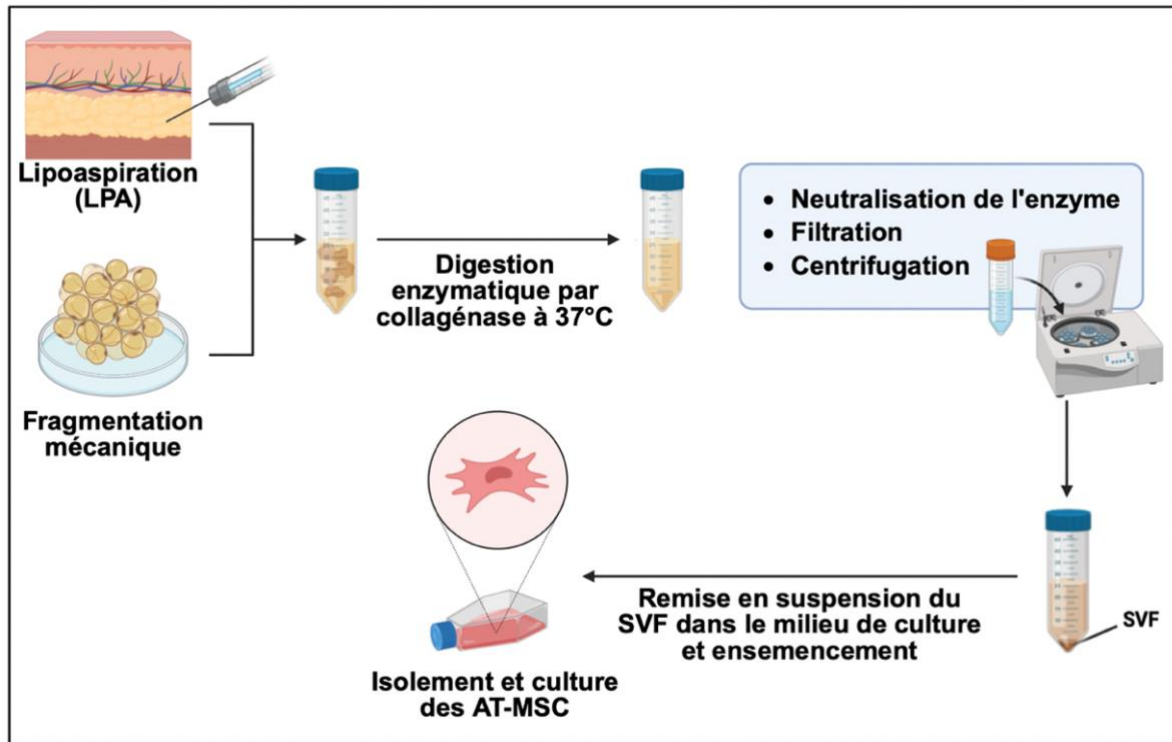


Figure 17 : Schématisation de l'isolement des AT-MSC (réalisée avec BioRender).

c) Isolement des UC-MSC

L'isolement des CSM à partir du cordon ombilical constitue une méthode sûre et non invasive étant donné que le cordon est habituellement jeté après l'accouchement (77). Différents protocoles d'isolement et d'expansion des UC-MSC ont été décrits dans la littérature, avec des variations en termes de collecte, de préparation des tissus et des conditions de culture. De manière générale, le cordon est d'abord placé sur un plateau stérile, lavé avec du PBS pour éliminer toute contamination puis préparé selon différentes approches. L'isolement des UC-MSC peut être réalisé par deux grandes techniques : la culture d'explants et la digestion enzymatique.

La méthode de culture d'explants est considérée comme plus simple car elle ne nécessite pas l'utilisation d'enzymes et repose uniquement sur la capacité des CSM à migrer spontanément hors du tissu pour adhérer aux surfaces de culture.

Dans cette approche, le cordon est découpé en fragments qui sont ensuite déposés dans des plaques de culture et incubés à 37°C.

Après 24 heures, le milieu de culture est remplacé, tout en recueillant les cellules en suspension. Les explants commencent à libérer des cellules, généralement entre 3 à 5 jours après le début de l'incubation. Une fois que les explants ont libéré une quantité

suffisante de cellules, ils sont retirés et les cellules adhérentes, riches en CSM, sont maintenues dans des conditions de culture optimales avec un renouvellement régulier du milieu de culture jusqu'à ce qu'une confluence de 80 à 90% soit atteinte.

Les protocoles basés sur la digestion enzymatique utilisent quant à eux des enzymes comme la collagénase ou l'hyaluronidase pour dissocier la MEC de la gelée de Wharton et libérer les cellules (82,83).

Enfin, bien que le sang de cordon soit également une source potentielle de CSM, son taux d'isolement est relativement faible, avec un succès qui varie généralement entre 20 et 30% pour les unités de sang de cordon à terme (84). La collecte se fait après clampage du cordon en accédant à la veine ombilicale.

Le sang est recueilli dans un sac stérile contenant un anticoagulant, puis traité par centrifugation sur gradient de densité afin d'isoler les cellules mononucléées.

Une fois isolées, les MNC sont rincées etensemencées en culture. Après quelques jours, les cellules non adhérentes sont éliminées et le milieu de culture fréquemment renouvelé pour favoriser la croissance des CSM (77,84) (figure 18).

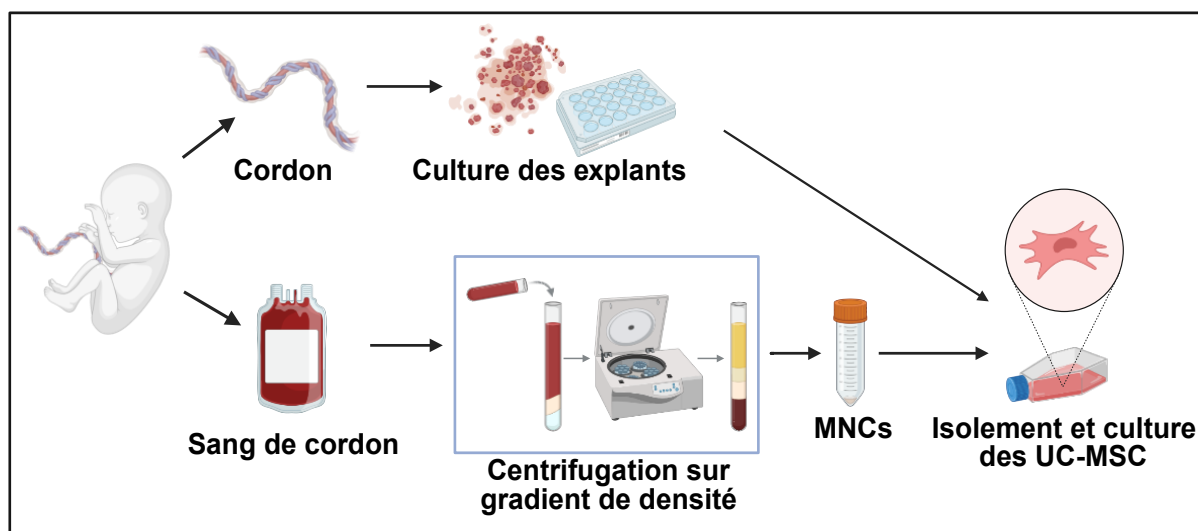


Figure 18 : Schématisation de l'isolement des UC-MSc (réalisée avec BioRender).

4. Expansion des CSM

a) Principe

Une fois les CSM isolées le nombre de cellules issues de la culture primaire est souvent insuffisant pour une application clinique. En effet, les doses administrées de CSM se situent généralement entre 1 et 2 millions de cellules par kilogramme de poids corporel. Pour cette raison, l'expansion cellulaire est essentielle pour atteindre un nombre approprié de CSM. Il existe plusieurs approches pour leur expansion : (1) la culture conventionnelle statique dans des flacons de culture cellulaire, (2) la culture sur microporteurs – en conditions statiques ou dynamiques et (3) la culture dynamique dans divers bioréacteurs (85).

Bien qu'il n'existe pas de protocole standardisé d'expansion *in vitro*, le processus décrit ci-dessous est basé sur les méthodes couramment rapportées dans la littérature.

L'expansion des CSM à partir du passage P0 suit un processus en plusieurs étapes basé sur une dissociation enzymatique et une subculture cellulaire.

Une fois que les cellules de la culture primaire atteignent une confluence autour de 70 à 80%, elles sont détachées par trypsination, un processus qui consiste à détacher les cellules en utilisant une solution de trypsine-EDTA, suivie de l'inactivation de l'enzyme avec du milieu de culture. Les cellules sont ensuite comptées et réensemencées à une densité inférieure pour maintenir leur capacité de prolifération. À partir de ce stade, considéré comme passage P1, les cellules peuvent être congelées pour constituer une banque de cellules maîtresses ou maintenues en culture.

Ces passages (P1, P2, etc.) permettent une amplification progressive tout en évitant la sénescence due à une confluence excessive ou à des cultures prolongées (86).

En effet, au cours des passages successifs, le taux de prolifération diminue et les cellules perdent progressivement leur multipotentialité. Cette perte de potentiel est en partie liée au processus de sénescence qui peut apparaître en culture dès 10 doublements de population, même si ce nombre varie entre les études et dépend également des conditions de culture et de l'origine tissulaire des cellules (75).

Une fois le nombre de cellules suffisant atteint, celles-ci peuvent être cryopréservées pour une utilisation ultérieure ou préparées directement pour des applications thérapeutiques ou expérimentales (figure 19).

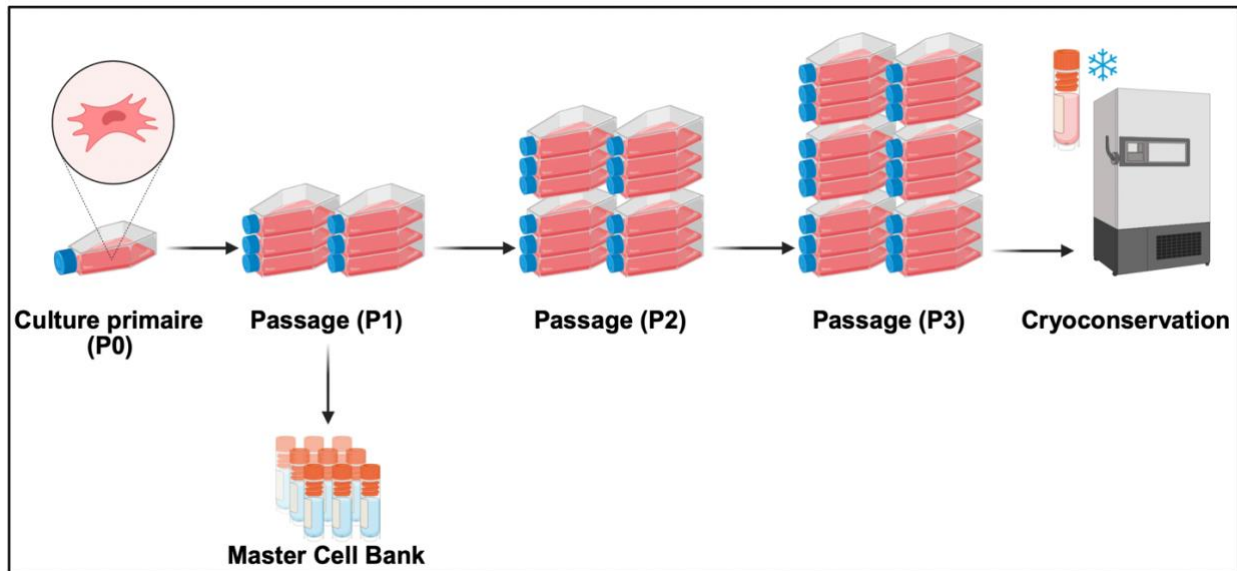


Figure 19 : Principe d'expansion des CSM (réalisée avec BioRender).

b) Milieu de culture

Parmi les variables de culture cellulaire, le choix d'un milieu de culture bien formulé pour l'isolement et l'expansion des CSM est un aspect critique car il conditionne leur croissance, leur fonctionnalité et leur qualité finale.

Les cellules nécessitent un milieu basal enrichi en protéines, facteurs de croissance et enzymes pour soutenir leur attachement et leur prolifération. Les CSM humaines peuvent être cultivées dans divers milieux, tels que le milieu Dulbecco's *modified Eagle's medium* (DMEM), *Iscove's modified Dulbecco's medium* (IMDM) et le milieu essentiel minimum alpha (α MEM), le DMEM étant couramment utilisé par de nombreux groupes pour l'expansion des CSM. Pour fournir aux cellules des signaux biologiques et assurer une croissance optimale, des suppléments sont ajoutés au milieu basal.

Le sérum, en tant que supplément du milieu, est considéré comme l'un des composants les plus importants car il fournit des nutriments et des molécules impliqués dans la prolifération et la survie des cellules. On y trouve des facteurs de croissance, des hormones, des protéines de liaison telles que l'albumine et la transferrine, des protéines d'adhésion cellulaire ainsi que des oligo-éléments.

Initialement, les nutriments et facteurs de croissance étaient apportés par le sérum de veau fœtal (*FBS, Foetal Bovine Serum*) à une concentration comprise entre 5 et 20%. Cependant, l'utilisation de sérum d'origine animale n'est plus recommandée pour des applications cliniques en raison du risque de transmission d'infections associées à des pathogènes tels que des virus, des prions, des mycoplasmes ou d'autres agents

zoonotiques. De plus, la teneur élevée en protéines xénogéniques pourrait provoquer des réactions immunitaires chez les patients lors de l'utilisation clinique des CSM. En ce qui concerne les GMP, la variation importante entre les lots n'est pas compatible avec le besoin de reproductibilité.

Compte tenu de ces problèmes, les instances réglementaires recommandent l'utilisation d'alternatives telles que le sérum autologue humain ou le lysat plaquettaire humain comme substitut valable au FBS. En outre, plusieurs milieux sans sérum ont été développés (85,87).

c) Conditions dans le milieu de culture

La concentration en oxygène constitue également un paramètre essentiel à contrôler. Les CSM étant des cellules aérobies, tout récipient de culture doit assurer un apport en oxygène suffisant. La tension en oxygène artériel dans la moelle osseuse varie entre 10 et 14%, mais les zones spécifiques au sein de la MO où résident les CSM sont plus hypoxiques avec une tension en oxygène estimée entre 4 à 7%. Ainsi, ces dernières années, l'hypoxie (pression partielle d'oxygène (pO_2) de 3 à 5%) a été proposée comme un environnement plus physiologique pour ces cellules que la normoxie (21%).

Plusieurs études ont montré que l'hypoxie améliore leur prolifération, stabilise leur identité cellulaire, prévient l'apoptose et soutient l'angiogenèse médiée par les CSM (87,88). Outre la saturation en oxygène, la température et le pH sont des paramètres critiques du procédé (CPP, *Critical Process Parameter*). En règle générale, l'expansion *in vitro* des CSM se fait à 37°C et à un pH neutre (7,2-7,4), bien que ces valeurs puissent être ajustées en fonction des besoins spécifiques des cellules ou des objectifs de culture (87).

d) Densité d'ensemencement

En raison de la nature adhérente des CSM, la densité d'ensemencement constitue une variable importante pour garantir un taux d'expansion adéquat et le maintien des fonctions cellulaires.

Avant chaque culture, les CSM doivent adhérer à la surface de culture et proliférer sans dépasser un seuil de confluence de 80 %, afin d'éviter l'inhibition due au contact intercellulaire. Ainsi, les CSM doivent êtreensemencées à une densité permettant une

expansion optimale, évitant à la fois des passages précoces et répétés en cas de densité trop élevée et des cultures excessivement longues en cas de densité trop faible. Ces deux situations affectent la prolifération cellulaire et peuvent entraîner la sénescence ou une instabilité génétique (89).

La densité initiale d'ensemencement des MNC est variable ; des essais cliniques publiés ont utilisé aussi bien des densités élevées (par exemple, $1,70 \times 10^5$ MNC/cm²) que des densités plus faibles (par exemple, $5,0 \times 10^4$ MNC/cm²).

Lors des passages suivants, la densité d'ensemencement doit être diminuée. Le choix de la densité cellulaire reste crucial à ce stade : l'utilisation d'une densité faible (par exemple, $1,0 \times 10^3$ à $5,0 \times 10^3$ CSM/cm²) ou très faible ($1,0 \times 10^1$ à $5,0 \times 10^1$ CSM/cm²) peut favoriser le maintien d'un taux de prolifération élevé ainsi que la multipotentialité des CSM (80). Toutefois, l'application de densités très faibles dans un contexte de production clinique reste limitée en raison des contraintes techniques liées aux volumes de culture nécessaires (75).

e) Système de culture

Traditionnellement la culture des CSM s'est appuyée sur des systèmes planaires bidimensionnels (2D) où les cellules adhérentes se développent en monocouches sur des surfaces plastiques adaptées, telles que les flacons de culture (flasques T) ou les plaques multi-puits. Bien que cette approche soit encore largement utilisée dans les laboratoires de recherche et certaines unités de production à petite échelle, elle présente plusieurs limites, notamment une surface de culture restreinte, un fort besoin en main-d'œuvre, une variabilité inter-lots ainsi qu'un risque accru de contamination lié aux manipulations en système ouvert (85).

Pour pallier la contrainte du faible rapport surface/volume des systèmes 2D classiques, des flacons multicouches comme CellSTACKS / HYPERFlask (Corning) ou les Cell Factories (Nunc™, Thermo Fisher) ont été développés (72) (figure 20).

Ces systèmes permettent d'accroître considérablement la surface de culture dans un espace réduit, selon une logique de *scale-out*, c'est-à-dire la multiplication des unités de culture. Toutefois, ces plateformes conservent les inconvénients structurels des systèmes planaires : difficulté de contrôle homogène des conditions de culture, observation cellulaire complexe et exigences logistiques et humaines élevées (88).

Dans ce contexte, des systèmes tridimensionnels (3D) ont été développés et se sont progressivement imposés comme des alternatives prometteuses. Les principaux critères pour la culture des CSM dans les bioréacteurs incluent un rapport surface/volume important, un système fermé, une inoculation et une récolte automatisée (90).

Parmi les bioréacteurs développés on trouve (figure 20) :

- **Les bioréacteurs à suspension** (*stirred tank bioreactor, vertical wheel pneumatically mixed bioreactor, wave bioreactor*), qui permettent de cultiver des CSM généralement fixées sur des microporteurs en suspension dans un récepteur agité mécaniquement.
- **Les bioréacteurs à perfusion** (*packed bed bioreactor, hollow fiber bioreactor*), où les CSM sont fixées sur un substrat immobilisé avec une perfusion du milieu à faible débit (91–93).

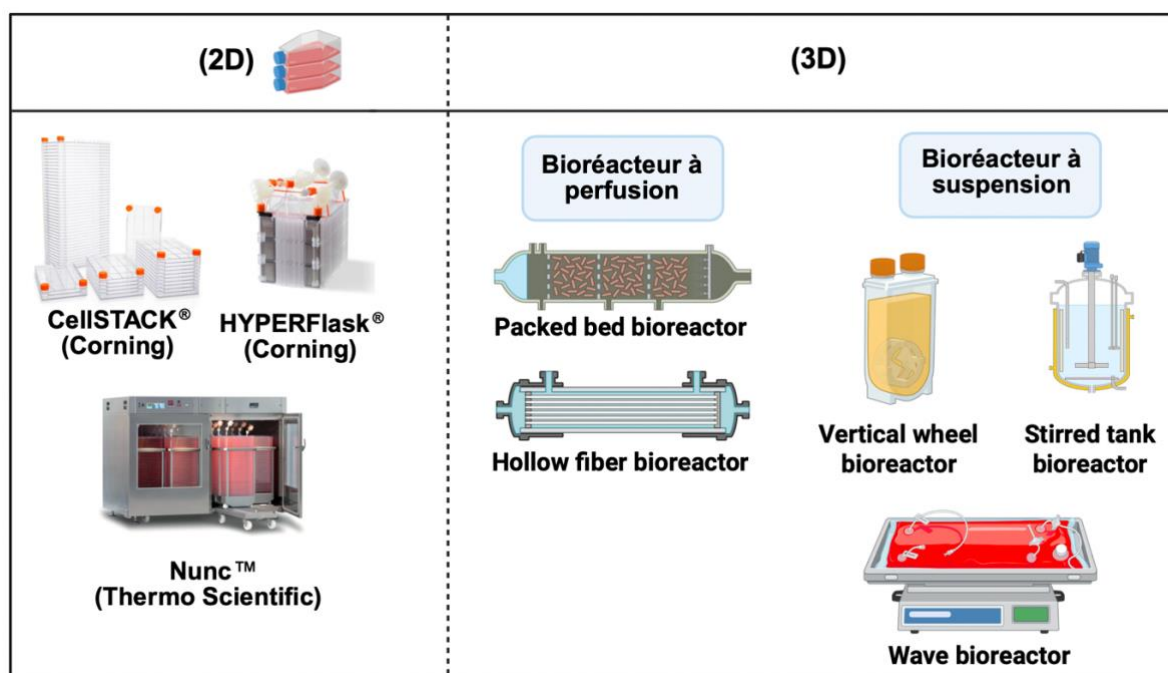


Figure 20 : Vue d'ensemble des différentes approches pour la production des CSM (réalisée avec BioRender).

Ces technologies offrent plusieurs avantages par rapport aux systèmes 2D : automatisation du processus, standardisation, contrôle en temps réel des paramètres de culture (concentration en oxygène dissous, pH, température et métabolites), rendements cellulaires supérieurs et réduction des risques de contamination grâce aux systèmes fermés, qui sont préférés pour les critères GMP (72).

Bien que ces technologies aient démontré leur efficacité pour l'expansion des CSM, leur standardisation à des fins cliniques et commerciales reste un enjeu majeur, en particulier pour garantir la conservation des propriétés fonctionnelles et du phénotype cellulaire tout au long du processus de fabrication.

5. Downstream process

a) Principe

Le traitement en aval (*DSP, Downstream Process*) fait référence à l'ensemble des opérations unitaires qui ont lieu une fois l'expansion cellulaire achevée pour obtenir le produit thérapeutique final.

Traditionnellement le traitement en aval commence par le détachement des cellules de leur substrat et se termine par leur cryoconservation.

b) Détachement cellulaire

Que ce soit pour les systèmes planaires ou pour les bioréacteurs les CSM doivent être détachées du substrat de culture. Les méthodes enzymatiques les plus couramment utilisées font appel à des enzymes protéolytiques ciblant les protéines d'adhésion à la surface des cellules notamment la trypsine (91,92).

c) Lavage et concentration

Le lavage cellulaire est nécessaire pour éliminer toutes les composantes indésirables de la suspension cellulaire telles que les produits d'origine animale (comme le FBS par exemple) et les enzymes protéolytiques utilisées pour détacher les cellules du substrat de culture.

La concentration des cellules dans la dose finale du produit étant généralement beaucoup plus élevée que dans la culture au moment de la récolte, l'étape de concentration est généralement réalisée en tandem avec le lavage.

Il existe deux approches principales pour le lavage et la concentration des cellules : la centrifugation (classique ou en contre-courant) et la filtration en flux tangentiel (91,92).

6. Cryoconservation

La cryopréservation des CSM est essentielle pour les applications thérapeutiques car elles visent à préserver la fonctionnalité des cellules pour une utilisation « prête à l'emploi ». Cette technique implique un refroidissement des cellules à très basse

température, induisant un état de stase métabolique qui empêche la dégradation cellulaire, permettant leur conservation à long terme (94). Deux approches principales sont couramment utilisées pour la cryoconservation : la congélation lente et la vitrification (72,94,95).

La congélation lente est une méthode progressive dans laquelle les cellules sont refroidies de manière contrôlée, souvent à un rythme de l'ordre de -1 à $-2^{\circ}\text{C}/\text{min}$ afin de permettre une déshydratation progressive des cellules, limitant ainsi la formation de cristaux de glace intracellulaire. Des agents cryoprotecteurs (CryoAg, *Cryoprotective Agent*) sont ajoutés pour abaisser le point de congélation de l'eau et améliorer la perméabilité membranaire afin de protéger les cellules. Les étapes incluent un refroidissement initial à -20°C , suivi d'un passage à -80°C , avant le stockage à long terme dans de l'azote liquide (-196°C) (94,95).

Grâce à son efficacité démontrée (70 à 80% de survie cellulaire), sa simplicité de mise en œuvre et son faible risque de contamination, elle reste à ce jour la méthode privilégiée pour la cryoconservation des CSM (95).

À l'inverse, la vitrification repose sur un refroidissement ultra-rapide associé à l'utilisation de concentrations élevées de CryoAg, permettant de transformer la solution cellulaire en un état solide amorphe, sans formation de cristaux de glace (72). Cette méthode présente toutefois certaines contraintes, notamment la toxicité potentielle des CryoAg à haute concentration et le risque de déséquilibre osmotique lors de la décongélation, ce qui exige une manipulation rigoureuse et précise (95).

Parmi les CryoAg, le diméthylsulfoxyde (DMSO) est largement utilisé en raison de sa perméabilité membranaire élevée et de son efficacité à faible concentration. Néanmoins, son utilisation à des concentrations élevées (généralement autour de 10%) peut présenter des risques de toxicité, d'où la nécessité de le combiner avec d'autres substances biocompatibles non cytotoxiques.

Une alternative consiste à utiliser de faibles concentrations de DMSO en combinaison avec d'autres CryoAg pour réduire sa toxicité tout en maintenant une cryoprotection efficace (72,94).

Bien qu'il existe diverses méthodes pour cryoconserver les CSM, le protocole de décongélation reste généralement similaire ; les cellules sont décongelées en les chauffant rapidement dans un bain marie à 37°C (à une vitesse supérieure à $100^{\circ}\text{C}/\text{min}$) jusqu'à dissolution complète des cristaux de glace. Les variations de cette

phase du protocole de décongélation sont pratiquement inexistantes et se limitent principalement à l'équipement utilisé.

Il est ensuite nécessaire d'éliminer le cryoprotecteur de la suspension cellulaire en la diluant avec un milieu de culture adapté, suivi d'une centrifugation. Après élimination du surnageant, les cellules sont remises en suspension dans un milieu de culture frais. Selon certains protocoles, elles sont ensuite cultivées pour une période déterminée et leur état est immédiatement évalué avant toute utilisation ultérieure (94).

7. Administration

L'administration des CSM peut se faire selon deux grandes approches : l'injection systémique et l'injection locale.

L'injection systémique, principalement par voie intraveineuse (IV), est la méthode la plus couramment employée en raison de sa simplicité et de son faible risque de complications. Elle permet une distribution large des cellules dans l'organisme, bien qu'une proportion significative des CSM administrées par voie IV soit piégée dans les capillaires pulmonaires. Malgré ce phénomène, les CSM conservent leur potentiel thérapeutique bien que leur efficacité puisse être limitée en raison d'une distribution limitée aux organes cibles (96).

Une alternative à l'administration IV est l'injection intra-artérielle, qui permet un ciblage plus précis en dirigeant les cellules vers l'organe affecté. Cette méthode améliore la biodisponibilité en augmentant la quantité de cellules atteignant l'organe perfusé, mais comporte un risque de formation de micro-embolies (97).

Parmi les essais recensés, une étude initiée en 2020 évalue, pour la première fois, l'utilisation et l'efficacité des UC-MSK chez des patients souffrant d'un AVC aigu, en combinant l'administration par voies intra-artérielle et intraveineuse (98).

L'administration locale, quant à elle, cible spécifiquement un organe ou un tissu affecté, ce qui permet une meilleure rétention cellulaire et favorise une action paracrine ciblée. Elle peut être réalisée selon deux modalités principales : l'intégration des cellules dans un échafaudage biologique ou leur injection locale, par exemple par voie intrapéritonéale, intramusculaire ou intracardiaque (96).

Cette application topique a montré son intérêt dans le traitement de diverses pathologies, notamment la cicatrisation des plaies et des brûlures, l'arthrose et les maladies cardiovasculaires.

D'autres approches émergent, comme l'administration intranasale pour le traitement des pathologies neurologiques. Les données précliniques ont montré l'efficacité de cette voie pour un large éventail de troubles du système nerveux central (SNC), tels que les lésions cérébrales périnatales, les hémorragies sous-arachnoïdiennes et les maladies neurodégénératives comme la maladie de Parkinson.

L'administration intrathécale des CSM a montré des bénéfices dans des études précliniques et cliniques pour divers troubles neurologiques, notamment la douleur neuropathique chronique secondaire à une lésion de la moelle épinière, la sclérose latérale amyotrophique (SLA) et l'épilepsie (97).

Concernant le dosage, la fréquence et les intervalles d'administration des CSM, ils varient considérablement en fonction des essais cliniques, des pathologies traitées, du type de cellules utilisées (autologues ou allogéniques) et de la voie d'administration choisie. Les doses, généralement exprimées en cellules par kilogramme de poids corporel, vont de 0,5 à 12×10^6 cellules/kg en dose unique et peuvent atteindre jusqu'à 2×10^8 cellules dans certains cas (99).

C. Contrôle qualité

1. Principe

Les BPF garantissent que les produits à base de CSM humaines sont fabriqués de manière reproductible et contrôlés selon des normes de qualité préalablement définies et validées dans le cadre d'un programme de contrôle qualité. La sécurité d'emploi des CSM est subordonnée aux contrôles réalisés à différents niveaux : à la fois en amont (sélection des donneurs, évaluation des échantillons biologiques), au cours du processus de fabrication (suivi des produits intermédiaires) et lors de la libération des lots (évaluation des produits finis).

Pendant tout le processus de production, les étapes critiques doivent être identifiées et décrites. Une fois le processus de fabrication défini, une autorisation de fabrication doit être obtenue auprès des autorités compétentes pour chaque processus.

2. Sélection du donneur

La première étape consiste à sélectionner le donneur (pour les produits allogéniques) et à vérifier leur statut. Tous les donneurs doivent faire l'objet d'un examen clinique

approfondi visant à exclure tout signe ou symptôme de maladie transmissible, complété par des tests sérologiques pour le VIH (types 1 et 2), l'hépatite B, l'hépatite C et la syphilis, conformément aux directives européennes en vigueur.

Par ailleurs, la stérilité du matériel biologique de départ doit également être vérifiée avant le début du processus de fabrication (100,101).

3. Tests évaluant la qualité du produit à base de CSM

a) Principe

Même si aucun protocole universel n'existe concernant la mise en œuvre des exigences techniques tout au long du processus de fabrication ni sur les méthodes analytiques à utiliser, la stratégie de contrôle qualité doit permettre de garantir l'homogénéité du produit, sa qualité (identité, pureté, viabilité cellulaire, capacité de prolifération, puissance) et d'évaluer sa sécurité (stérilité, tumorigénicité). Des contrôles en cours de production (IPC, *In Process Control*) sont effectués et des contrôles de libération sont appliqués au produit final (figure 21).

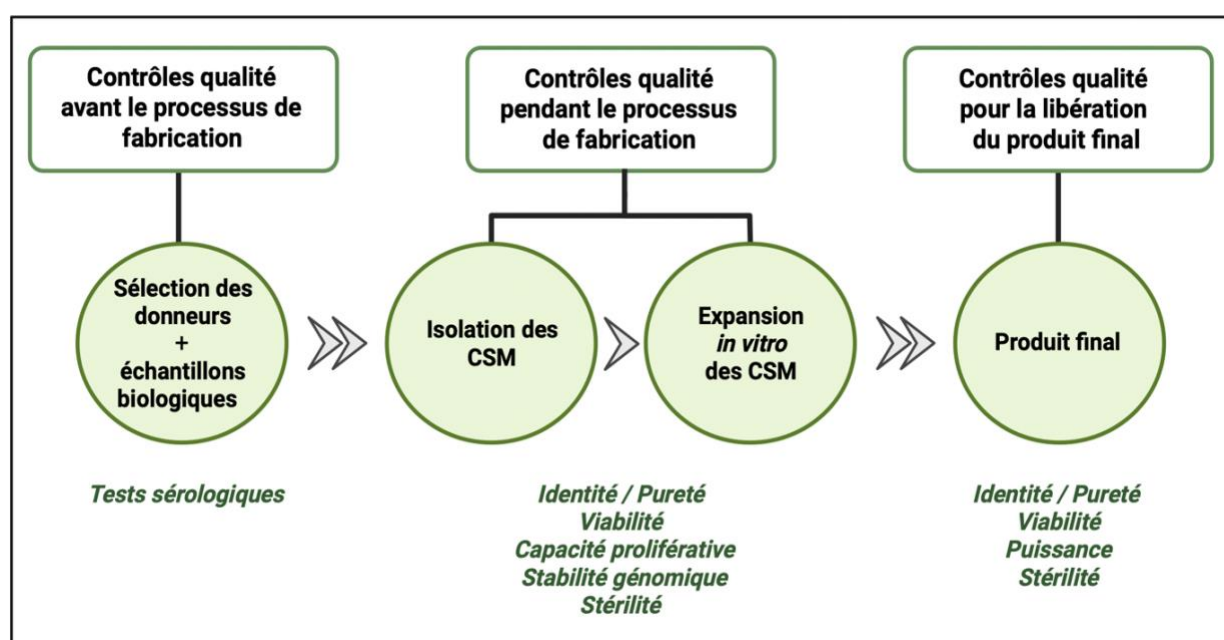


Figure 21 : Vue d'ensemble des contrôles qualité à effectuer
(réalisée avec BioRender).

b) Test d'identité

Les CSM sont des ATMP avec des caractéristiques spécifiques. La première condition est d'assurer leur identité en isolant des populations cellulaires homogènes,

conformément aux recommandations de l'ISCT (adhérence au plastique, expression de marqueurs de surface et potentiel de différenciation). Ces critères peuvent être évalués par microscopie, immunophénotypage et test de différenciation cellulaire.

Les CSM adhérentes au plastique sont généralement visibles 5 à 7 jours après l'ensemencement et apparaissent au microscope comme des cellules fibroblastiques de forme hétérogène, comprenant également des cellules de type endothélial. Cependant, au cours de l'expansion, les cellules adhérentes deviennent moins hétérogènes et les cellules de type fibroblastique deviennent prédominantes.

Le test d'immunophénotypage est généralement réalisé par cytométrie de flux. Le phénotype des CSM doit au moins présenter une expression positive ($\geq 95\%$) pour CD105, CD73, CD90 et une expression négative ($\leq 2\%$) pour CD45, CD34, CD14, CD79 α et HLA-DR (73).

La différenciation cellulaire est également une caractéristique importante. Des tests de coloration sont réalisés et sont faciles à mettre en œuvre avec des kits commerciaux. Ces tests fournissent également des informations sur la pureté du produit car ils permettent de garantir que le composant cellulaire est réellement constitué de CSM, c'est-à-dire qu'il n'y a pas de contamination croisée avec un autre type cellulaire et que les CSM expansées conservent leur phénotype lors d'une culture à long terme. Le test d'identité est utilisé comme essai de libération du produit final ainsi que comme contrôle IPC pendant la culture cellulaire (101).

c) Test de viabilité

Un test de viabilité permet de déterminer le nombre de cellules vivantes dans une culture ou un produit. La viabilité est évaluée par test d'exclusion de colorant (bleu de trypan, iodure de propidium), en distinguant les cellules viables (non colorées) des cellules non viables (colorées), soit manuellement, soit par des méthodes automatisées comme la cytométrie en flux. Elle est exprimée en pourcentage.

Le lot final doit afficher une viabilité minimale de 80% conformément à la Pharmacopée Européenne 2.7.29 (73,100,101). En tant que produit constitué de cellules vivantes, la viabilité cellulaire est analysée lors du processus d'expansion *in vitro* et avant la libération du produit (89).

d) Test de prolifération cellulaire

Le taux de croissance de l'expansion cellulaire des CSM doit être évalué en comptant les cellules à chaque passage et exprimé en termes de CPD (*Cumulative Population Doublings*), en utilisant la formule $\log N / \log 2$, où N est le nombre final de cellules en confluence divisé par le nombre initial de cellulesensemencées (73,100).

e) Test de puissance / efficacité

La puissance (*potency*) est définie comme une mesure de l'activité biologique. Un test de puissance doit être basé sur un effet biologique défini, étroitement lié au(x) mécanisme(s) responsable(s) des bénéfices fonctionnels.

En Europe, contrairement aux États-Unis où des recommandations techniques sont fournies, les autorités réglementaires n'ont pas proposé de spécifications précises sur ces tests *in vitro* ou (pré)cliniques *in vivo*, ce qui complique leur développement.

Des détails publics sur les tests de puissance des produits à base de CSM commercialisés sont rares, bien qu'il soit possible que certains tests aient été proposés dans le cadre d'essais cliniques sous protection de la propriété intellectuelle.

Une difficulté majeure réside dans la diversité des mécanismes d'action des CSM, rendant complexe l'utilisation d'un test unique pour évaluer précisément leurs attributs et prédire leur efficacité clinique. La puissance est ainsi le paramètre le plus difficile à évaluer pour les produits cellulaires car elle doit refléter une ou plusieurs fonctions pertinentes des cellules *in vivo*. Elle ne peut donc reposer uniquement sur le phénotype cellulaire mais nécessite une évaluation fonctionnelle.

Le choix des tests à réaliser dépend également du contexte clinique et du mécanisme d'action attendu des CSM dans l'indication visée.

Compte tenu du nombre d'essais cliniques explorant les propriétés anti-inflammatoires et immunomodulatrices des CSM, l'ISCT a publié des recommandations pour le développement de tests fonctionnels en tant que critères de libération.

Plusieurs tests immunomodulateurs ont été proposés (voir annexe). Parmi eux on retrouve (102) :

- **Les tests d'activation** : utilisant des cytokines pro-inflammatoires pour stimuler les CSM et mesurer l'expression de protéines (surface, intracellulaires) et de médiateurs solubles.

- **Les tests d'inhibition des cellules immunitaires** : les CSM sont co-cultivées avec des cellules mononucléées du sang périphérique ou des LT stimulés, afin de mesurer l'inhibition de leur prolifération, la production de cytokines ou l'expression de marqueurs.
- **Les tests de migration** : évaluant l'effet des CSM sur la chimiotaxie des LT.
- **Les test d'induction des cellules suppressives** : mesurant la capacité des CSM à induire des cellules immunorégulatrices (ex. Treg).

Concernant la fonction de régénération tissulaire, les tests ont généralement pour but de démontrer la capacité des CSM expansées à se différencier dans des lignées cellulaires spécifiques en fonction de l'application clinique.

La quantification de la production de facteurs trophiques a été également intégrée dans la notion d'essai de puissance pour les CSM. L'activité angiogénique, par exemple, est souvent mesurée par la capacité des CSM à soutenir les cellules endothéliales ou par la mesure quantitative des facteurs angiogéniques (VEGF, IL-6, PDGF, CXCL5) (103).

L'établissement de tests de puissance adéquats est impératif pour les chercheurs et les agences réglementaires pour prédire l'efficacité thérapeutique des produits expérimentaux ou autorisés à base de CSM.

Cependant il est peu probable qu'un seul test soit suffisant pour refléter l'ensemble des effets biologiques. L'ISCT a publié une déclaration qui recommande une approche matricielle, combinant plusieurs tests fonctionnels, moléculaires et de sécrétion afin de mieux traduire la complexité des mécanismes d'action et leur lien avec l'efficacité clinique.

Plus récemment, des tests innovants ont été développés et validés, incluant l'analyse de l'expression génique, la longueur des télomères, la taille cellulaire, les propriétés d'auto-renouvellement, les tests protéiques du sécrétome, ainsi que l'étude de marqueurs de surface par cytométrie de flux (100).

4. Tests évaluant la sécurité du produit à base de CSM

a) Stérilité

Un produit à base de CSM doit être stérile, mais en raison de la taille des cellules, il n'est pas possible de recourir à des méthodes comme la filtration, ni à une stérilisation par la chaleur ou par rayonnement car cela compromettrait la viabilité cellulaire (100). Par conséquent, le processus de fabrication doit être réalisé dans des conditions aseptiques, lesquelles doivent être validées par un test de stimulation de procédé.

Conformément à la réglementation GMP pour les ATMP, les locaux doivent être qualifiés et contrôlés de manière adéquate pour garantir un environnement aseptique. En particulier, les étapes critiques de manipulation cellulaire doivent être effectuées sous des hottes à flux laminaire (zones de classe A), situées dans des salles de classe B. De plus, un système de surveillance des particules et des agents microbiologiques doit être mis en place.

Les tests de sécurité doivent inclure la stérilité, l'absence d'endotoxines et, au moins pour les cellules cultivées, l'absence de mycoplasmes (101).

1) *Contrôle microbiologique*

Ce test est réalisé pour évaluer la stérilité en détectant les contaminations fongiques et bactériennes dans les produits médicamenteux à base de cellules.

La méthode classique de stérilité de la Pharmacopée Européenne repose sur l'inoculation directe de l'échantillon dans un milieu de culture. Cependant, ce test nécessite une incubation de 14 jours et n'est pas adapté aux produits ayant une courte durée de vie. Des tests rapides alternatifs (par exemple : le test BacT/ALERT) sont désormais recommandés et réalisés conformément à la Pharmacopée Européenne 2.6.27, pour évaluer la stérilité avant la libération du produit final.

Le surnageant sans cellule peut également être utilisé comme test de contrôle IPC à condition que le test soit validé en conséquence.

2) *Endotoxines*

Un autre test lié aux enjeux de sécurité est le test des endotoxines, qui sont des lipopolysaccharides provenant de bactéries à Gram négatif, responsables de réactions

toxiques (104). Le test est réalisé pour détecter les endotoxines bactériennes dans le produit final et repose sur la Pharmacopée Européenne 2.6.14. Il est conçu comme un test de libération du produit final, à effectuer sur une suspension congelée de cellules. La méthode utilise une technique chromogénique, basée sur le développement d'une coloration à la suite de la coupure d'un complexe peptide-chromogène synthétique par la réaction des endotoxines avec le lysat d'amœbocytes de limule (LAL). Le temps nécessaire au développement de la couleur (temps d'apparition) est directement lié à la concentration d'endotoxines dans l'échantillon (101).

3) *Mycoplasmes*

La contamination par des mycoplasmes dans les produits à base de CSM peut provenir des matières premières, des réactifs ou des échantillons biologiques (biopsies) contaminés, mais également du personnel, des installations ou de l'environnement, bien que les risques soient théoriquement maîtrisés par une fabrication en conditions aseptiques (104).

Toute contamination par des mycoplasmes peut être détectée par une réaction de PCR semi-quantitative. En alternative il est possible de recourir à des méthodes de culture, à la technique de culture sur cellules indicatrices ou à des méthodes basées sur la technologie d'amplification des acides nucléiques (NAT, *Nucleic Acid Testing*) (101). Toutes ces techniques doivent être validées et réalisées conformément au chapitre 2.6.7 de la Pharmacopée Européenne en vigueur (73). Ce test est utilisé comme critère de libération du produit final.

b) Tumorigénèse

À ce jour, les données scientifiques actuelles ne montrent pas de potentiel tumorigène intrinsèque des CSM, l'expérience clinique avec ces cellules n'ayant pas révélé de cas de malignité secondaire.

La tumorigénicité est définie par l'EMA comme « la capacité d'une population cellulaire administrée à un modèle animal à produire une tumeur par prolifération au site d'administration et/ou à un site distant par métastase » (100).

Conformément aux directives actuelles, le processus de tumorigénèse doit être évalué lors de la phase de validation d'un produit à base de CSM afin d'analyser la stabilité

chromosomique et la sénescence cellulaire. Toutefois, il ne s'agit pas à ce jour de tests requis pour la libération des lots cliniques finaux.

Les méthodes valides pour exclure cette tumorigenèse incluent : (73)

- **L'évaluation de l'activité télomérase** ; les CSM humaines présentent un niveau d'activité télomérase faible ou indétectable.
- **Le test en milieu mou (*soft agar test*)** : réalisé avec une lignée cellulaire commerciale comme contrôle positif ou avec un test *in vivo*, comme indiqué dans la Pharmacopée Européenne 5.2.3.
- **L'analyse du caryotype** : afin de déterminer si le processus d'expansion permet de maintenir la stabilité génétique des cellules. Cette analyse doit être menée parallèlement à la phase de culture *in vitro*.

L'absence d'anomalies chromosomiques peut être vérifiée par une analyse du caryotype, soit par des méthodes moléculaires (hybridation *in situ* en fluorescence ((FISH), caryotypage spectral (SKY), puces à polymorphisme mononucléotidique (SNP arrays), ou hybridation génomique comparative sur puce (aCGH)) soit par des méthodes conventionnelles (marquage par bandes Giemsa, marquage au DAPI, bandes QFQ (fluorescence à l'aide de la quinacrine)) (100).

Conformément aux directives générales et aux standards d'assurance qualité en cytogénétique, 20 métaphases doivent être examinées ; en cas d'anomalies chromosomiques, 20 métaphases supplémentaires doivent être analysées (73).

La sénescence répllicative, quant à elle, est un processus qui débute lors de l'expansion clinique des CSM et qui progresse à chaque passage lors de la culture *in vitro*. Les cellules présentent alors un raccourcissement des télomères, une perte partielle de leur potentiel de différenciation et un profil de sécrétion de cytokines altéré. Ainsi, dans le cadre du contrôle qualité des préparations cellulaires, il est recommandé d'évaluer l'état de sénescence (attrition des télomères, β -galactosidase associée à la sénescence, expression de p53/p21 ou p16, modifications spécifiques de la méthylation de l'ADN caractéristiques de la sénescence) (100).

IV. Applications cliniques

A. État des lieux

Après avoir détaillé les aspects techniques liés à la production des CSM à visée thérapeutique, il convient d'en aborder la traduction en clinique.

Depuis plusieurs décennies, les CSM suscitent un intérêt croissant en recherche biomédicale en raison de leurs propriétés biologiques ; elles sont facilement isolables et amplifiables *in vitro* et présentent un privilège immunologique lié à leur hypo-immunogénicité.

Deux orientations thérapeutiques se dégagent dans les applications cliniques actuelles. D'une part, les CSM peuvent être exploitées dans des approches d'ingénierie tissulaire, en les différenciant au préalable vers une lignée cellulaire spécifique, avant leur implantation chirurgicale souvent en association avec un biomatériau de support. Mais c'est surtout leur capacité à moduler l'environnement pathologique, en favorisant la réparation endogène et en régulant la réponse immunitaire via leur sécrétome, qui a permis l'exploitation de leur potentiel thérapeutique dans un large éventail d'indications cliniques chez l'homme.

Selon *ClinicalTrials.gov* 1244 études ont été enregistrées au 1^{er} janvier 2025 avec le terme « *Mesenchymal Stem Cells* ». La plupart des essais explorant leurs capacités ont été menés au cours des deux dernières décennies. Durant la première décennie (1995-2005) seuls 9 essais cliniques ont été enregistrés. Entre 2006 et 2015 ce nombre est passé à 500 dans le monde. Une augmentation significative du nombre d'essais a également été rapportée en 2020 à la suite de la pandémie du COVID-19 (99). La majorité des essais est en phase précoce (phase I, I/II, II) et concerne de nombreuses pathologies allant de la maladie du greffon contre l'hôte aux maladies cardiovasculaires, neurologiques, immunitaires, respiratoires, gastro-intestinales, ostéoarticulaires, endocriniennes, urogénitales, dermatologiques et d'autres affections (figure 22) (105).

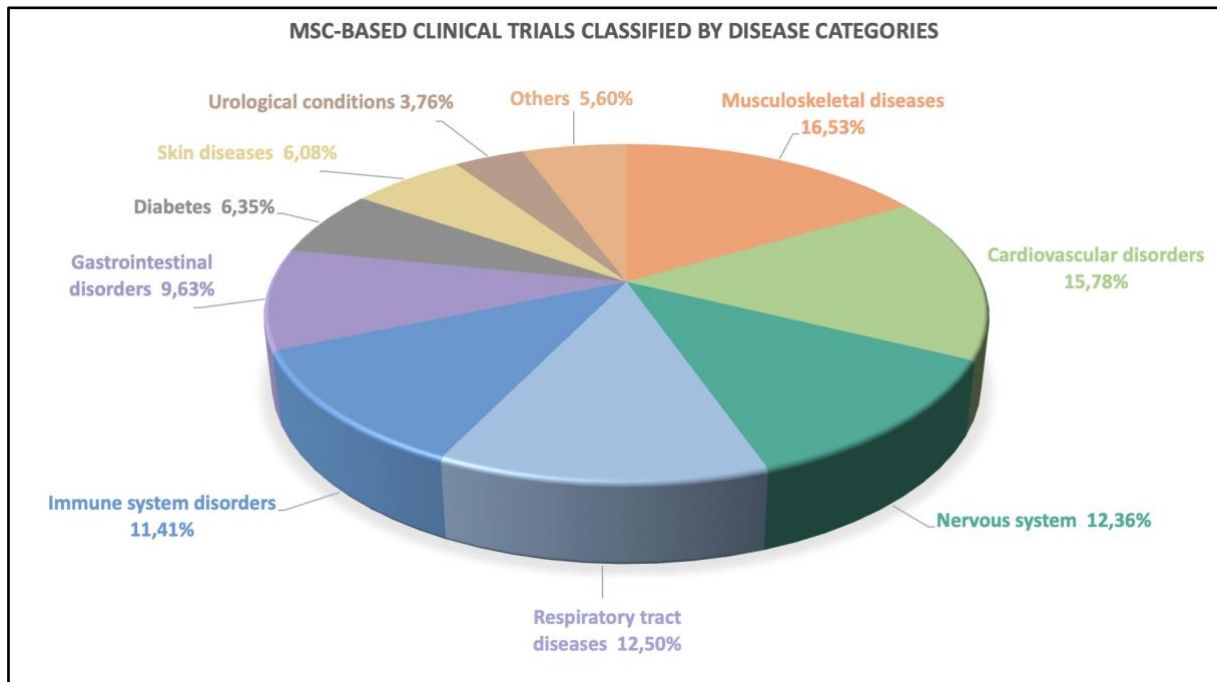


Figure 22 : Répartition des essais cliniques utilisant les CSM selon la catégorie de pathologies. Données reprises et adaptées de Maldonado et al., 2023, *Journal of Biological Engineering*, DOI : <https://doi.org/10.1186/s13036-023-00361-9>

Dans le cadre de cette thèse nous nous focaliserons sur leur utilisation dans quatre aires pathologiques distinctes (la maladie du greffon contre l'hôte, maladies neurologiques, ostéoarticulaires et dysimmunitaires). Nous aborderons ensuite l'état actuel des approbations réglementaires des produits à base de CSM.

B. Maladies hématologiques : maladie du greffon contre l'hôte

1. Contexte

Depuis leur identification, les recherches fondamentales et précliniques ont mis en lumière le rôle des CSM dans la régulation de l'hématopoïèse et suscité l'intérêt pour leur application clinique notamment dans le domaine de l'hématologie.

Les premières utilisations des CSM ont été menées dans ce contexte. Dès 1995, les CSM ont été utilisées dans des essais cliniques dans le contexte de la transplantation de CSH pour favoriser la reconstitution hématologique, prévenir ou traiter le rejet de greffe ainsi que pour traiter la maladie du greffon contre l'hôte résistante aux corticoïdes.

Environ 20 000 allogreffes de CSH (allo-CSH) sont réalisées annuellement en Europe (106). Elles constituent une approche thérapeutique curative pour de nombreuses hémopathies malignes et non malignes.

La maladie du greffon contre l'hôte est la complication la plus fréquente de l'allogreffe de CSH. Il s'agit d'une réaction immunologique allogénique dans laquelle les cellules immunitaires du greffon (issues du donneur) reconnaissent les tissus du receveur comme étranger et déclenchent une réponse immune contre eux (107).

Deux formes cliniques de GVHD ont classiquement été distinguées : la GVHD aiguë et la GVHD chronique. Initialement différenciées selon leur délai d'apparition par rapport à la greffe (avant ou après J+100), cette classification a depuis été révisée car ces deux formes présentent des mécanismes physiopathologiques et cliniques distincts. La GVHD aiguë se présente avec des lésions inflammatoires et affecte principalement trois organes cibles : la peau, le foie et le tube digestif. La forme chronique, quant à elle, se présente sous la forme d'une multitude de manifestations cliniques et peut conceptuellement toucher tous les organes.

On estime que la GVHD aiguë survient chez environ 30 à 50% des patients après une allogreffe de CSH, tandis que l'incidence de la forme chronique est estimée à environ 50% (108). Le traitement de première intention repose sur la corticothérapie. Cependant, 30% des patients vont présenter une GVHD corticorésistante (ou réfractaire) qui se définit comme une progression de la GVHD aiguë après 3 à 5 jours de traitement ou en l'absence d'amélioration après 5 à 7 jours de traitement. Les patients atteints de ces formes de GVHD ont un mauvais pronostic : la survie à 6 mois a été estimée à 49% et la survie à 2 ans à 17% (109).

En 2020, selon les recommandations actualisées de l'EBMT (*European Society for Blood and Marrow Transplantation*), les options thérapeutiques de seconde ligne pour la GVHD corticorésistante comprenaient l'alemtuzumab, l'alpha-1-antitrypsine (AAT), le basiliximab, les thérapies cellulaires (CSM et les cellules T régulatrices), le daclizumab, la photophrèse extracorporelle (PEC), la transplantation du microbiote fécal (TMF), les inhibiteurs de JAK (Janus Kinase), le mycophénolate mofétil (MMF), le méthotrexate (MTX), la pentostatine, le sérum anti-lymphocytaire, le sirolimus et le vedolizumab. Cependant, aucun consensus thérapeutique ne prévaut à ce jour du fait de l'absence de données comparatives robustes entre les études (110).

Depuis lors, le ruxolitinib (JAKAVI®) a reçu une AMM en 2022 pour le traitement de première intention des patients âgés de 12 ans et plus atteints d'une GVHD aiguë ou chronique présentant une réponse inadéquate (résistants ou dépendants) aux corticostéroïdes ou à d'autres traitements systémiques.

Néanmoins, entre les patients non répondeurs au ruxolitinib ou pour lesquels le ruxolitinib s'avère contre-indiqué ou non applicable et compte tenu d'une morbidité élevée liée à la GVHD aiguë corticorésistante, un besoin médical persiste, d'où la nécessité de développer de nouvelles approches thérapeutiques. C'est dans ce contexte que les CSM ont émergé en tant qu'option prometteuse pour moduler la réponse immunitaire dysrégulée observée dans cette pathologie (110).

2. Rationnel de l'utilisation des CSM dans la GVHD aiguë

Le développement de la GVHD aiguë implique plusieurs étapes. La première consiste en l'amorce de la réponse immunitaire ; le conditionnement pré-greffe et/ ou la pathologie primaire vont induire des lésions dans les tissus cibles (peau, tube digestif, foie) ainsi que des signaux de danger : des DAMPs et des PAMPs (*Pathogen-Associated Molecular Patterns*). Ces signaux de danger vont, après liaison aux PRR (*Pattern Recognition Receptors*), induire l'activation des cellules présentatrices d'antigènes ce qui conduit à la production de cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF- α et des interleukines (IL-1, IL-6). Les lymphocytes T du donneur vont migrer vers les tissus périphériques à la suite de cette production d'interleukines.

Dans la deuxième phase, les CPA vont interagir avec les LT alloréactifs du donneur. À la suite de cette activation, les LT vont proliférer, se différencier et migrer via un gradient de chimiokines dans les tissus cibles où ils exercent leur fonction effectrice (110).

Au vu de la dysrégulation immunitaire impliquée dans la pathogenèse de la GVHD, les propriétés immunomodulatrices des CSM et leur capacité à favoriser la régénération des tissus lésés ont justifié leur utilisation en tant qu'approche thérapeutique dans ce contexte (figure 23) (111).

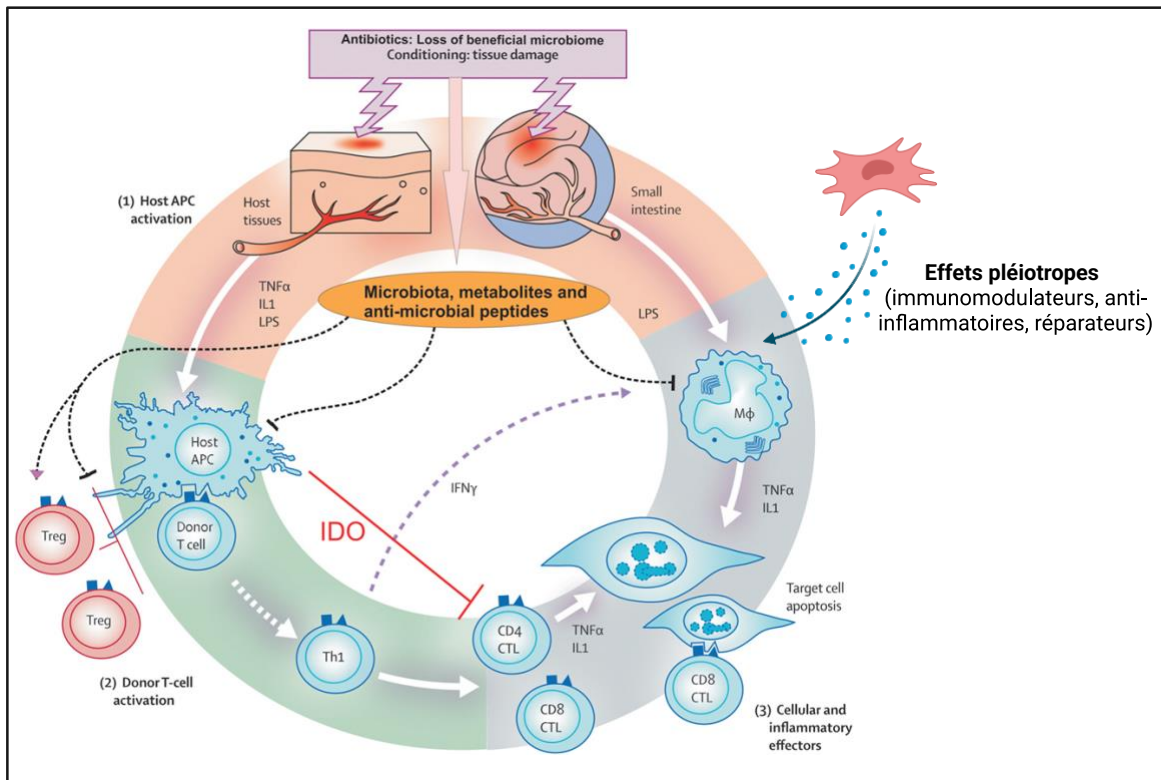


Figure 23 : Schématisation de la physiopathologie de la GVHD (réalisée avec BioRender). Adaptée de Ghimire et al., 2017, DOI : 10.3389/fimmu.2017.00079

3. Expérience clinique

L'intérêt clinique pour les CSM dans ce cadre a été mis en lumière dès 2002, lorsqu'une patiente de 20 ans atteinte d'une leucémie aiguë myéloblastique a reçu une allogreffe de CSH, suivie d'une injection de CSM issues de la moelle osseuse de son père haplo-identique. Plusieurs mois après la greffe, la patiente présentait une réponse complète sans signe de rechute ni de GVHD (112).

Le Blanc et al. ont rapporté pour la première fois en 2004 le cas d'un patient pédiatrique souffrant d'une GVHD aiguë réfractaire de grade IV du foie et de l'intestin après une transplantation de CSH allogénique d'un donneur non apparenté. L'enfant a été traité par une perfusion de CSM provenant de la moelle osseuse de sa mère, indiquant que les CSM pouvaient agir de manière non HLA dépendante (113).

Dans le prolongement de ces observations, un essai multicentrique de phase II a été mis en place. 55 patients, adultes et pédiatriques, présentant une GVHD aiguë réfractaire aux corticoïdes ont été traités par perfusions de CSM allogéniques.

30 patients ont obtenu une réponse complète (CR, *Complete Response*) et 9 une réponse partielle (PR, *Partial Response*). Aucun effet indésirable n'a été rapporté pendant ou après l'administration des CSM (114).

Depuis lors, de nombreux essais cliniques utilisant les CSM pour prévenir ou traiter la GVHD ont été menés, la plupart avec des résultats prometteurs et validant le profil de sécurité des CSM. Ces essais restent toutefois hétérogènes en termes de population, de source cellulaire et de protocole d'administration, compliquant l'interprétation globale des résultats.

Malgré les résultats prometteurs rapportés lors des essais de phase précoce, le premier essai clinique de phase III (NCT00366145) utilisant le produit industriel à base de CSM Prochymal® (remestemcel-L, Osiris Therapeutics, Inc, Columbia, MD, Etats-Unis) n'a pas atteint son critère principal d'évaluation, à savoir une augmentation significative de la réponse complète durant au moins 28 jours chez les patients atteints de GVHD corticorésistante, comparativement au placebo (115). L'échec des premiers résultats de cette étude a conduit à un premier paradoxe quant à leur utilité thérapeutique dans le traitement de la GVHD.

Une analyse post hoc a néanmoins révélé une meilleure efficacité du traitement chez les patients présentant une atteinte hépatique mais aussi dans la population pédiatrique (116). Ces résultats ont permis l'approbation conditionnelle de Prochymal® dans le traitement de la GVHD aiguë chez l'enfant par les autorités de santé canadiennes et néo-zélandaises.

En parallèle, au Japon, Temcell® (JCR Pharmaceuticals Co. Ltd, Ashiya, Japan), l'équivalent de remestemcel-L, a obtenu son approbation en 2015 pour le traitement de la GVHD aiguë corticorésistante chez l'adulte. Cette autorisation s'appuie sur les résultats favorables issus d'une série d'essais cliniques menés sur plusieurs phases (117) :

- Une étude de phase I/II (JR-031-201), ayant montré une réponse globale (OR, *Overall Response*) chez 13 des 14 patients traités (92,9%) dont 8 ont présenté une réponse complète et 5 une réponse partielle.
- Une étude de phase II/III ouverte et non contrôlée (JR-031-301) conduite sur 25 patients. L'étude a montré que 48% des patients (12 sur 25) ont atteint le critère principal de l'étude (CR \geq 28 jours), avec une survie à 180 jours de 60%.

De plus, le taux de réponse global a été jugé non inférieur à celui observé avec les agents de seconde ligne tels que le sérum anti-lymphocytaire et le MMF.

Aux États-Unis et en Europe, les patients ne pouvaient bénéficier de traitement à base de CSM que dans le cadre d'essais cliniques. En 2013, Osiris a transféré les droits de Prochymal® à Mesoblast qui a rebaptisé le produit Ryoncil®.

Une étude de phase III (NCT02336230) à bras unique, ouverte, multicentrique a ensuite été conçue pour évaluer l'efficacité et l'innocuité du remestemcel-L chez des patients pédiatriques atteints de GVHD aiguë corticorésistante. Sur les 55 patients recrutés, 54 ont reçu au moins une perfusion de CSM. La réponse globale à J28 a été atteinte chez 38 des 54 patients (70,4%, 16 CR et 22 PR), un taux significativement supérieur au seuil prédéfini de 45%. La survie à J100 atteignait 74,1% (116).

Sur la base de ces résultats, Mesoblast a déposé en 2020 une demande de licence biologique auprès de la Food and Drug Administration (FDA) pour le traitement de la GVHD aiguë corticorésistante chez l'enfant. Initialement rejetée en raison de l'absence d'étude randomisée, une nouvelle soumission a été présentée en janvier 2023, intégrant des données de suivi à long terme. Bien que la FDA ait exigé des données supplémentaires en août 2023, l'AMM a finalement été accordée en décembre 2024 (118).

D'autres études récentes ont continué à enrichir les données cliniques. Un programme d'accès compassionnel mené sur 242 enfants dans huit pays a confirmé l'efficacité et la sécurité du traitement (OR à J28 de 65,1%, survie à J100 de 82,1% chez les répondeurs). Une étude randomisée de phase III menée en Chine (Zhao et al., 2022) a montré que l'ajout de CSM au traitement standard augmentait significativement le taux de réponse (OR : 82,8% vs 70,7%) tout en réduisant la survenue de GVHD chronique et les effets indésirables liés aux immunosuppresseurs (116). Le récapitulatif des essais est détaillé ci-après (tableau 2).

Tableau 2 : Synthèse des essais cliniques détaillés dans la GVHD (*N = Nombre de patient).

Étude	Pays	Type de CSM/ Voie administration	Design de l'étude	Résultats
<i>Le Blanc et al.</i> 2004	Suède	BM-MSC allogéniques IV	Étude de cas Pédiatrique N = 1	<ul style="list-style-type: none"> • Sécurité ☑ • Résolution GVHD aiguë grade IV • Effet non HLA dépendant
<i>Le Blanc et al.</i> 2008	Multicentrique (Suède)	BM-MSC allogéniques IV	Phase II N = 55	<ul style="list-style-type: none"> • Sécurité ☑ • Effets cliniques : (55 patients : 30 CR ; 9 PR)
<i>Prochymal®</i> NCT00366145	Multicentrique (États-Unis, Australie, Canada, Europe)	BM-MSC allogéniques (<i>Prochymal®</i>) IV	Phase III Randomisée (vs placebo) N = 260	<ul style="list-style-type: none"> • Sécurité ☑ • Critère principal non atteint (CR \geq28 j) Analyse post hoc : efficacité supérieure chez les enfants
<i>Temcell®</i> JR-031-201 JR-031-202 JR-031-301	Japon	BM-MSC allogéniques (<i>Temcell®</i>) IV	Phase I/II N = 14 Phase II/III, ouverte non contrôlée N = 25	<ul style="list-style-type: none"> • Sécurité ☑ • Résultats favorables 48% de CR, taux de survie à 180 jours de 60% • Efficacité jugée non inférieure aux traitements de 2nd ligne
<i>Ryoncil®</i> (<i>Remestemcel-L</i>) NCT02336230	Multicentrique (États-Unis)	BM-MSC Allogéniques (<i>Ryoncil®</i>) IV	Phase III ouverte à bras unique N = 55	<ul style="list-style-type: none"> • Sécurité ☑ • Résultats favorables : OR à J28 = 70,4% (16 CR, 22 PR), survie à J100 = 74,1%)

C. Maladies neurodégénératives

1. Contexte

Les troubles neurologiques constituent un ensemble hétérogène de pathologies affectant le système nerveux central et périphérique. En fonction des mécanismes physiopathologiques sous-jacents à leur apparition et à leur progression, ces affections peuvent être classées en plusieurs catégories. On distingue les maladies

neurodégénératives, caractérisées par une dégénérescence progressive et sélective de populations neuronales spécifiques (maladie d'Alzheimer, maladie de Parkinson, maladie de Huntington etc.). D'autre part, figurent les pathologies induites par une perte neuronale non spécifique consécutive à une atteinte aiguë, telles qu'un AVC ou un traumatisme crânien. Enfin, figurent les affections se caractérisant par une altération de la fonction neuronale, incluant notamment les dysfonctionnements de la jonction neuromusculaire (119).

À l'échelle mondiale, les maladies neurologiques représentent aujourd'hui un enjeu de santé publique majeur. Selon les données de l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) et d'une étude publiée par *The Lancet* on estime que plus de 3 milliards de personnes sont touchées par une maladie neurologique (120). Cette prévalence croissante est corrélée à l'augmentation de l'espérance de vie et au vieillissement global des populations. Face à cette situation, les efforts de recherche et d'investissement dans la lutte contre les pathologies neurologiques se sont intensifiés au cours des dernières décennies.

Malgré des avancées notables, les traitements actuellement disponibles demeurent pour la plupart symptomatiques. L'enjeu majeur de la neuropharmacologie reste donc le développement de stratégies thérapeutiques curatives.

Dans ce contexte, la thérapie cellulaire s'est imposée comme une approche prometteuse fondée sur le concept de neuroplasticité et sur la capacité des cellules exogènes à moduler, voire restaurer, certaines fonctions altérées. Divers types cellulaires ont ainsi été explorés dans le cadre des maladies neurologiques parmi lesquels figurent les CSPi, les CSE, les cellules souches neurales (CSN) et les CSM (119).

2. Rationnel de l'utilisation des CSM dans les maladies neurologiques

Le principal défi dans le traitement des maladies neurologiques réside dans le fait que les lésions sont souvent irréversibles en raison de la capacité limitée du tissu neural à se régénérer. Sur la base de leur aptitude à se différencier *in vitro* en cellules nerveuses (neurones, astrocytes, oligodendrocytes), les CSM ont suscité un intérêt croissant dans le cadre des pathologies neurologiques. Toutefois, la fonctionnalité réelle de ces cellules à se différencier *in vivo*, à s'implanter durablement dans les tissus receveurs et à établir des connexions fonctionnelles avec les circuits neuronaux

existants, demeure sujet à controverse (121). Ainsi, les améliorations notables observées dans divers modèles précliniques ont été plus largement attribuées aux propriétés paracrine et immunomodulatrices des CSM, plutôt qu'à leur potentiel de différenciation.

La neuroinflammation est un mécanisme délétère commun à de nombreux troubles neurologiques, impliquant divers processus chroniques et pro-inflammatoires médiés par le système immunitaire. Au-delà des lésions induites au tissu neural, elle entrave l'activation des mécanismes endogènes de réparation, ce qui souligne l'importance d'inhiber ce processus.

Dans un contexte pro-inflammatoire, l'activation accrue des microglies et des astrocytes, associée à des niveaux élevés de médiateurs pro-inflammatoires, est observée dans plusieurs maladies telles que la maladie de Parkinson, la sclérose latérale amyotrophique, la maladie de Huntington et la maladie d'Alzheimer.

Au regard de leurs propriétés immunomodulatrices précédemment décrites, les CSM représentent une stratégie thérapeutique pertinente pour atténuer la réponse inflammatoire au sein du système nerveux (figure 24). Elles influencent notamment le phénotype des cellules gliales en favorisant la polarisation des microglies d'un état pro-inflammatoire (M1) vers un état anti-inflammatoire (M2), contribuant ainsi à limiter les dommages neuronaux et à promouvoir un environnement propice à la réparation tissulaire (121). Par ailleurs, les CSM peuvent limiter l'astrogliose, ce qui participe à l'atténuation des processus cicatriciels au sein du SNC (122).

De plus, de nombreuses études ont démontré que les CSM favorisent la production de facteurs neurotrophiques (NTF). Parmi ceux-ci figurent le facteur neurotrophique dérivé du cerveau (BDNF), le facteur de croissance nerveuse (NGF), le facteur neurotrophique dérivé de la lignée gliale (GDNF) ainsi que la neurotrophine-3. Ils participent à la survie et à la différenciation neuronale, soutiennent la régénération axonale et contribuent à la réparation des tissus nerveux lésés (122,123).

Outre leurs effets neurotrophiques, l'action pro-angiogénique des CSM est une propriété particulièrement pertinente dans diverses conditions pathologiques et notamment dans les lésions cérébrales ischémiques où la restauration de l'apport en oxygène et en nutriments est cruciale. Les facteurs sécrétés par les CSM (VEGF, HGF, TGF- β etc.) améliorent la perfusion cérébrale, soutiennent la survie neuronale et facilitent la récupération neurologique (122). Les CSM soutiennent également la

survie, la migration et la fonction de cellules impliquées dans la régénération axonale et la remyélinisation telles que les cellules de Schwann et les cellules CNP-positives (123). Par ailleurs, en modulant le microenvironnement lésionnel et en réduisant l'inflammation, les CSM contribuent à limiter la formation de cicatrices gliales, lesquelles constituent un obstacle majeur à la régénération axonale.

Elles jouent également un rôle dans le maintien de l'intégrité de la barrière hémato-encéphalique (BHE), souvent altérée dans divers contextes neuropathologiques. Des études récentes ont notamment démontré que les exosomes dérivés des CSM peuvent transférer des microARN, comme le miR-132-3p, aux cellules endothéliales, favorisant leur prolifération et réduisant les dommages subis par la BHE (124).

Enfin, les CSM pourraient aussi jouer un rôle dans la dégradation des agrégats protéiques anormaux. Par exemple, il a été démontré que les exosomes issus d'AT-MSC contiennent des enzymes telles que la néprilysine, capable de dégrader les peptides β -amyloïdes ($A\beta$), impliqués dans la physiopathologie de la maladie d'Alzheimer (124,125).

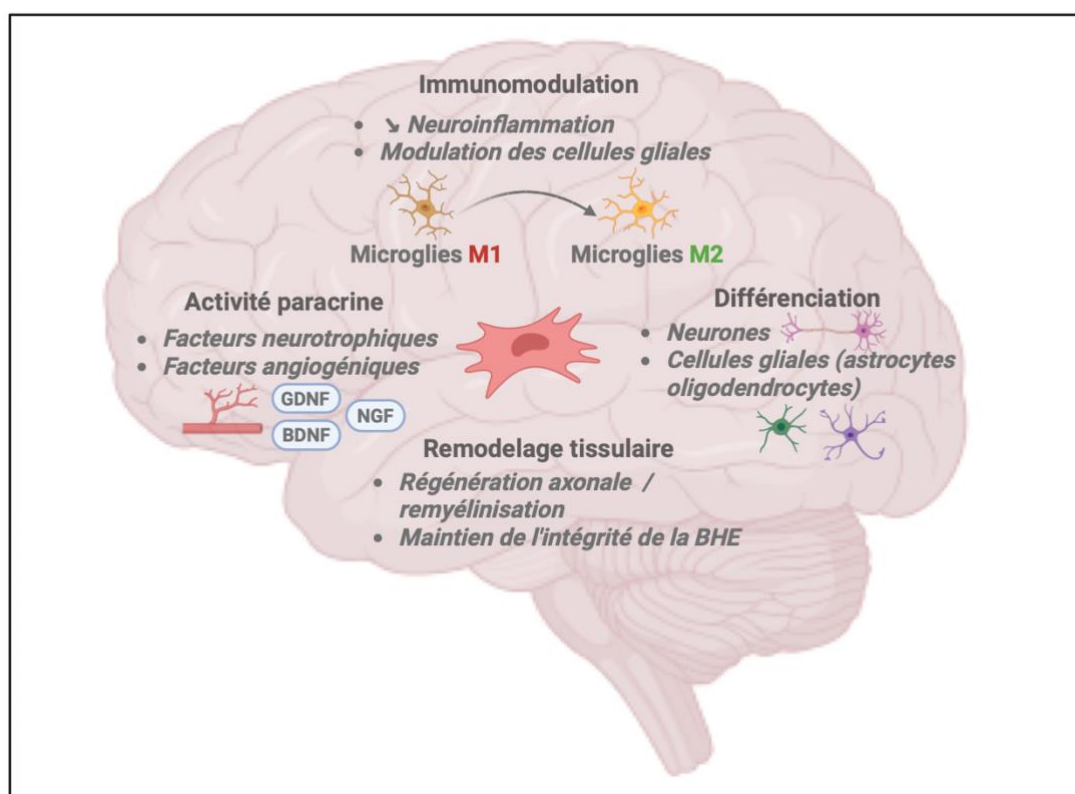


Figure 24 : Schématisation des mécanismes d'action des CSM dans les maladies neurologiques (réalisée avec Biorender).

3. Expérience clinique

À ce jour, les CSM ont été explorées dans un large éventail de maladies neurologiques telles que les lésions de la moelle épinière, les accidents vasculaires cérébraux, les traumatismes crâniens, la sclérose en plaque (SEP), la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, la maladie de Huntington ainsi que dans la SLA, entre autres. Nous nous concentrerons sur la SEP en raison des mécanismes immuno-inflammatoires de cette pathologie.

En raison de leurs capacités immunosuppressives et de leurs propriétés neuroprotectrices, les CSM ont été proposées comme une option thérapeutique prometteuse pour le traitement de la SEP, une maladie neurodégénérative auto-immune chronique du SNC. Elle se caractérise par une infiltration de cellules immunitaires, en particulier de LT CD4+ helper pathogéniques, au sein du parenchyme cérébral. Cette dérégulation du système immunitaire conduit à une attaque ciblée contre les protéines constitutives de la gaine de myéline, conduisant à une démyélinisation progressive, à des lésions neuro-axonales et, à terme, à un handicap neurologique irréversible.

Plusieurs études précliniques, menées principalement sur des modèles animaux de SEP tels que l'encéphalomyélite auto-immune expérimentale (EAE), ont mis en évidence la capacité des CSM à réduire la sévérité des symptômes cliniques et à prévenir la démyélinisation (126). Ces résultats encourageants ont conduit au lancement de plusieurs essais cliniques chez l'homme, dont la majorité avait pour objectif principal d'évaluer la sécurité et la faisabilité de cette approche thérapeutique.

Jusqu'en janvier 2025, 33 essais cliniques ont été référencés sur *ClinicalTrials.gov* pour la SEP. Il s'agit principalement d'essais de phase I/II utilisant des CSM autologues ou allogéniques, dérivées de la moelle osseuse, du tissu adipeux, du cordon ombilical ou encore du placenta et administrées par voie intraveineuse ou intrathécale.

La première étude pilote a été menée en Iran en 2007 (Bonab et al.) chez 10 patients atteints de SEP progressive. Aucun événement indésirable majeur n'a été rapporté. Un patient a présenté une amélioration significative de son score EDSS (*Expanded Disability Status Scale*), 4 sont restés stables et 5 ont connu une légère aggravation. Sur le plan fonctionnel, 6 patients ont montré une amélioration partielle de leurs fonctions sensorielles, pyramidales ou cérébelleuses. À 12 mois, l'imagerie par

résonance magnétique (IRM) révélait une stabilité des lésions chez la majorité des patients (127).

Au-delà de la sécurité, certaines études ont également mis en évidence des effets thérapeutiques. Un essai clinique publié en 2010 (Karussis et al.) a porté sur 15 patients atteints de SEP. Les patients ont reçu une injection de BM-MSc autologues, administrées par voie intrathécale et intraveineuse. Aucun effet indésirable majeur n'a été rapporté pendant les 25 mois suivant l'injection et une stabilisation ou une amélioration clinique a été rapportée chez certains patients ; le score EDSS est resté stable chez 4 patients et s'est amélioré chez 11 patients.

Par ailleurs, l'analyse immunologique réalisée chez 12 patients (dont 7 atteints de SEP) a mis en évidence les effets immunomodulateurs *in vivo* des CSM, détectables dès 4 heures après l'injection. Une augmentation des LT régulateurs (CD4+, CD25+), une diminution de l'expression des marqueurs d'activation sur les cellules dendritiques myéloïdes ainsi qu'une réduction de la prolifération lymphocytaire ont été observées (128).

Une autre étude, menée au Royaume-Uni en 2012 (Connick et al.) s'est intéressée à 10 patients atteints d'une SEP secondaire progressive avec atteinte visuelle. Une injection unique de BM-MSc autologues par voie IV a été administrée. Les résultats de l'étude ont confirmé la faisabilité et la sécurité de cette approche. De plus, après le traitement, la preuve d'une amélioration fonctionnelle et physiologique de certains paramètres visuels laissait suggérer un effet neuroprotecteur des CSM (129). Malgré ces données, la petite taille des échantillons, le caractère non randomisé de ces études et l'absence de groupe contrôle ont limité la portée des conclusions quant à l'efficacité réelle des CSM dans la SEP.

L'étude MESEMS est le premier essai multicentrique de phase II, randomisé, en double aveugle (versus placebo), évaluant l'administration unique de BM-MSc autologues. L'objectif principal de l'étude était de mesurer l'effet du traitement sur le nombre de lésions réhaussées au gadolinium sur l'IRM à 24 semaines. Les résultats ont confirmé la sécurité de l'approche, mais aucune différence statistiquement significative n'a été observée sur le critère principal d'évaluation (130).

À ce jour, les données cliniques disponibles ne permettent pas encore de valider l'efficacité thérapeutique des CSM dans la SEP. Afin de confirmer ou non leur potentiel immunomodulateur et neuroprotecteur dans cette pathologie, des essais cliniques de

plus grande ampleur, randomisés et reposant sur des critères d'inclusion homogènes, demeurent indispensables. Le récapitulatif des essais est détaillé ci-après (tableau 3).

Tableau 3 : Synthèse des essais cliniques détaillés dans la SEP.

Étude	Pays	Type de CSM/ Voie administration	Design de l'étude	Résultats
Bonal et al., 2007	Iran	BM-MSA autologues IV	Étude pilote N = 10	<ul style="list-style-type: none"> • Sécurité ☑ • Effets cliniques présents mais limités
Karussis et al., 2010	Israël	BM-MSA autologues IV / IT	Phase I/II ouverte N = 15 (SEP)	<ul style="list-style-type: none"> • Sécurité ☑ • Score EDSS amélioré (11 patients) ou stable (4 patients) • Effets immunomodulateurs
Connick et al., 2012	Royaume-Uni	BM-MSA autologues IV	Phase II ouverte N = 10	<ul style="list-style-type: none"> • Sécurité ☑ • Effets cliniques, amélioration de l'acuité visuelle
MESEMS, 2020	Multicentrique (Europe, Canada)	BM-MSA autologues IV	Phase II randomisée N = 144	<ul style="list-style-type: none"> • Sécurité ☑ • Pas d'effets démontrés (critère principal non atteint)

D. Maladies ostéoarticulaires

1. Contexte

Les maladies ostéoarticulaires englobent un ensemble hétérogène de pathologies affectant les os, les articulations, les muscles, les ligaments et les tendons. Certaines sont liées au vieillissement physiologique et se traduisent par une usure des structures osseuses ou articulaires (arthrose/ostéoporose). D'autres présentent une étiologie inflammatoire, à l'instar des arthrites, ou sont secondaires à des traumatismes, à une surcharge mécanique ou à des désordres métaboliques (131).

Selon les estimations de l'OMS, près de 1,71 milliards de personnes dans le monde sont atteintes d'affections ostéoarticulaires et musculaires (132), faisant de ce groupe de pathologies l'une des principales causes d'incapacité fonctionnelle, en particulier chez les personnes âgées.

Au cours des dernières décennies la communauté scientifique a déployé des efforts considérables pour développer des méthodes et des protocoles de réparation et de régénération des tissus conjonctifs tels que l'os, le cartilage, les ligaments et les tendons. Depuis leur isolement initial, les CSM ont été fermement associées à la physiologie osseuse et cartilagineuse en raison de leur capacité de différenciation en ostéocytes et en chondrocytes tant *in vitro* qu'*in vivo*.

La plupart des essais cliniques sur les CSM enregistrés à ce jour portent sur le domaine ostéoarticulaire. Les stratégies thérapeutiques comprennent l'administration des cellules par voie locale (intra-articulaire) ou implantées en combinaison avec des biomatériaux. Parmi les nombreuses pathologies ostéoarticulaires, l'arthrose demeure la plus largement étudiée pour l'application thérapeutique des CSM. Cette pathologie chronique d'évolution progressive représente aujourd'hui un enjeu majeur de santé publique en raison de son impact socio-économique et du vieillissement de la population.

2. Rationnel de l'utilisation des CSM dans l'arthrose

L'arthrose est une pathologie articulaire chronique caractérisée par un dysfonctionnement global de l'articulation. Elle se caractérise par la destruction progressive du cartilage, une inflammation de la membrane synoviale ainsi qu'un remodelage de l'os sous-chondral. Elle résulte d'un déséquilibre entre les processus qui régissent la dégradation de la matrice et ceux qui tentent de la réparer (133).

Ce déséquilibre est lié à l'activation du métabolisme des chondrocytes sous l'effet d'un facteur initiateur (traumatique, métabolique, inflammatoire etc.), ainsi qu'à la participation du tissu synovial qui libère de nombreux médiateurs pro-inflammatoires comme le VEGF, l'IL-1, l'IL-6, l'IL-8, le TNF- α . Ces médiateurs contribuent au cercle vicieux impliquant les cellules synoviales et les chondrocytes contribuant à la dégradation progressive du cartilage. Au niveau cellulaire, les chondrocytes adoptent un phénotype dysfonctionnel et hypertrophique, caractérisé par une activité catabolique accrue. Ils vont surexprimer des enzymes protéolytiques, telles que les métalloprotéinases matricielles, responsables de la dégradation de la MEC (134). En parallèle de l'hypertrophie des chondrocytes, l'inflammation chronique peut contribuer à leur sénescence et à la dégénérescence du cartilage (135). Enfin, la dégradation du cartilage articulaire entraîne un remodelage de l'os sous-chondral, se traduisant par

une ossification endochondrale à l'origine de la formation des ostéophytes (excroissances fibrocartilagineuses) (134).

Les traitements actuels sont principalement palliatifs et symptomatiques. L'arthroplastie étant la dernière alternative dans le cadre où l'arthrose engendre un handicap sévère. Compte tenu des tissus touchés et de l'implication de différentes voies inflammatoires, la polyvalence proposée par les CSM est apparue comme une option thérapeutique potentielle. Dans l'arthrose, les CSM sont utilisées comme source de cellules régénératrices afin de stimuler la réparation du cartilage endogène lésé et pour diminuer l'inflammation locale. En raison de leur capacité de différenciation en chondrocytes et leurs effets anti-apoptotiques, anti-fibrotiques et anti-inflammatoires les CSM peuvent moduler l'environnement inflammatoire dans les articulations arthrosiques et exercer un effet chondroprotecteur (136) (figure 25) (135).

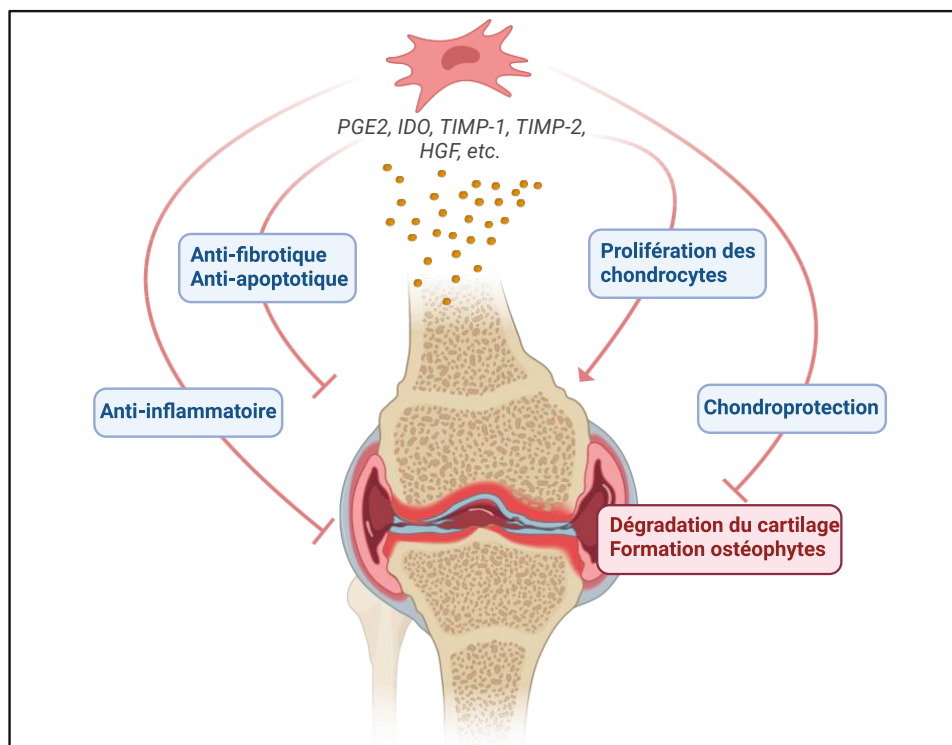


Figure 25 : Schématisation des mécanismes d'action des CSM dans l'arthrose (réalisée avec BioRender). Adaptée de Maumus et al., médecine/sciences, 2018 ; DOI : 10.1051/medsci/2018294

3. Expérience clinique

Les études précliniques ont mis en évidence une réduction des dommages au niveau du cartilage, une atténuation de la synovite ainsi qu'une réduction de la formation d'ostéophytes après injection de CSM chez divers modèles animaux.

Sur le plan clinique, l'étude pionnière de Wakitani et al. (2002) constitue la première application documentée de BM-MSc autologues chez des patients atteints de gonarthrose, tous ayant bénéficié d'une ostéotomie tibiale de valgisation. Parmi les 24 patients inclus, la moitié a reçu une transplantation de CSM expansées *in vitro* et intégrées dans un gel de collagène, tandis que l'autre moitié constituait le groupe contrôle. Les résultats ont montré un bon profil de tolérance, une amélioration significative des scores arthroscopiques et histologiques ainsi que des signes de régénération cartilagineuse (présence de tissu cartilagineux *hyalin-like*) dans le groupe traité. Cette étude constitue la première démonstration clinique de la faisabilité et du potentiel régénératif des BM-MSc dans le contexte de l'arthrose.

Depuis, de nombreux essais cliniques ont été menés afin d'approfondir le potentiel thérapeutique des CSM dans ce contexte, en particulier au niveau du genou. Ces travaux ont exploré différentes sources cellulaires (BM-MSc, AT-MSc, UC-MSc), différentes modalités d'administration (injection intra-articulaire seule ou combinée à un biomatériau) ainsi que des comparaisons entre formes autologues ou allogéniques.

On peut mentionner l'étude pilote d'Orozco et al (2013), dans laquelle 12 patients souffrant de douleurs chroniques au genou et présentant des signes radiologiques d'arthrose ont été traités par une injection intra-articulaire de BM-MSc préalablement expansées. Le suivi clinique sur un an a mis en évidence une amélioration rapide et progressive des scores algofonctionnels. Sur le plan structurel, une amélioration significative de la qualité du cartilage a été observée chez 11 des 12 patients avec une réduction notable des zones de cartilage altéré (137).

Par ailleurs, les CSM allogéniques ont également montré des résultats prometteurs. Dans un essai randomisé de phase I/II Vega et al. (2015) ont comparé l'efficacité d'une injection intra-articulaire de BM-MSc allogéniques à celle d'une injection d'acide hyaluronique chez 30 patients atteints d'arthrose du genou. Le suivi clinique sur un an a mis en évidence une amélioration significative des scores algofonctionnels chez le groupe traité accompagnée d'une amélioration de la qualité du cartilage et d'une réduction des lésions structurelles à l'imagerie (138).

Dans un essai clinique randomisé de phase I/II (Lamo-Espinosa et al.), 30 patients atteints d'arthrose du genou ont été répartis en trois groupes : injection intra-articulaire d'acide hyaluronique seul (groupe contrôle) ou combiné avec une faible (10×10^6 cellules) ou forte (100×10^6 cellules) dose de BM-MSC autologues. Les résultats à court et moyen terme ont révélé une amélioration significative de la douleur, de la fonction articulaire et une amélioration modérée des dommages articulaires à l'imagerie notamment dans le groupe à forte dose. Après un suivi prolongé de 4 ans, les effets cliniques étaient maintenus sans effets indésirables et sans différence significative entre les deux doses (139,140).

Enfin, on peut mentionner l'approche d'ingénierie tissulaire *in situ* adoptée par Park et al., reposant sur l'implantation d'un hydrogel d'acide hyaluronique contenant des UC-MSC allogéniques dans des lésions cartilagineuses sévères chez des patients souffrant d'arthrose du genou. L'évaluation arthroscopique à 12 semaines a mis en évidence une maturation du cartilage corroborée par l'IRM qui montrait une amélioration significative de sa qualité (141,142). Par ailleurs, les scores de douleur et de fonction articulaire se sont nettement améliorés dès 6 mois et ces bénéfices se sont maintenus jusqu'à sept ans, sans nécessité de chirurgie supplémentaire. Ce produit, commercialisé sous le nom de Cartistem® en Corée, est en cours d'évaluation clinique au Japon et en Amérique du Nord (143). Le récapitulatif des essais est détaillé ci-après (tableau 4).

Tableau 4 : Synthèse des essais cliniques détaillés dans l'arthrose

Étude	Pays	Type de CSM/ Voie administration	Design de l'étude	Résultats
Wakitani et al., 2002	Japon	BM-MSC autologues Implantation chirurgicale avec gel de collagène	Étude pionnière N = 24	<ul style="list-style-type: none"> • Sécurité ☺ • Signes de régénération cartilagineuse • Amélioration des scores histologiques et arthroscopiques
Orozco et al., 2013	Espagne	BM-MSC autologues Intra-articulaire	Étude pilote N = 12	<ul style="list-style-type: none"> • Sécurité ☺ • Amélioration des indices algofonctionnels • Amélioration de la qualité du cartilage

Vega et al., 2015	Espagne	BM-MSC allogéniques Intra-articulaire	Phase I/II randomisée (vs acide hyaluronique) N = 30	<ul style="list-style-type: none"> • Sécurité ☑ • Amélioration significative des indices algofonctionnels • Réduction des lésions cartilagineuses
Lamo-Espinosa et al., 2016	Espagne	BM-MSC autologues Injection intra-articulaire combinée avec de l'acide hyaluronique	Phase I/II randomisée (vs acide hyaluronique) N = 30	<ul style="list-style-type: none"> • Sécurité ☑ (suivi 4 ans) • Amélioration clinique dose-dépendant • Stabilité radiologique • Réduction des lésions cartilagineuses (forte dose)
Park et al., 2017	Corée du Sud	UC-MSC allogéniques Hydrogel d'acide hyaluronique implanté chirurgicalement Cartistem®	Phase I/II ouverte, à un seul bras Suivi sur 7 ans N = 7	<ul style="list-style-type: none"> • Sécurité ☑ (suivi 7 ans : effets indésirables légers à modérés chez 5 patients) • Amélioration clinique durable (jusqu'à 7 ans) • Régénération cartilagineuse

E. Maladies auto-immunes

1. Contexte

Les maladies auto-immunes (MAI) regroupent un large éventail de pathologies résultant d'un dysfonctionnement du système immunitaire qui s'attaque aux constituants de l'organisme. On distingue les MAI systémiques, qui touchent plusieurs organes ou systèmes comme le lupus érythémateux systémique et les MAI spécifiques d'organes à l'instar du diabète de type 1 (144).

On estime qu'elles affectent entre 5 et 10% de la population mondiale, avec une incidence en constante augmentation. Une étude publiée dans *The Lancet* portant sur 22 millions de personnes a révélé qu'environ une personne sur dix est concernée par au moins une MAI, soulignant leur impact en termes de santé publique (145).

Les traitements classiques reposent principalement sur une suppression généralisée du système immunitaire afin de stopper le processus inflammatoire, incluant les corticoïdes et les immunosuppresseurs (cyclophosphamide, méthotrexate,

azathioprine, ciclosporine etc.). S'y ajoutent les biothérapies qui ciblent des acteurs clés des processus pathologiques concernés (anticorps monoclonaux, récepteurs solubles des cytokines, cytokines recombinantes, petites molécules mimétiques).

D'autres traitements comme la plasmaphérèse ou l'administration IV d'immunoglobulines restent utilisés dans des cas particuliers, notamment lorsque les options thérapeutiques sont limitées.

La thérapie cellulaire à base de CSM a été largement étudiée dans des études précliniques et cliniques pour le traitement de diverses MAI (sclérose systémique, lupus érythémateux systémique, polyarthrite rhumatoïde, diabète de type 1, maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, maladie de Sjögren).

Parmi les indications les plus avancées figurent la maladie de Crohn (MC), une pathologie inflammatoire chronique de l'intestin (146).

2. Rationnel de l'utilisation des CSM dans la maladie de Crohn

La maladie de Crohn est une maladie inflammatoire chronique de l'intestin (MICI) résultant d'une dérégulation du système immunitaire. Elle affecte généralement l'iléon terminal mais peut toucher l'ensemble du tube digestif. Elle évolue par poussées, d'intensité variable, entrecoupées de phase de rémission plus ou moins prolongées. Elle se caractérise par une inflammation transmurale du tractus gastro-intestinal entraînant douleurs, inconfort, troubles du transit et problèmes digestifs (147).

La maladie de Crohn se caractérise par une réponse inappropriée contre les antigènes luminaux du tube digestif, provoqués par un système immunitaire intestinal dérégulé résultant d'une interaction complexe entre des facteurs génétiques, immunitaires, microbiens et environnementaux. Chez les patients atteints de MC on observe une augmentation de la perméabilité de la muqueuse intestinale permettant le passage d'antigènes bactériens à travers la barrière épithéliale. Cette altération stimule le recrutement des cellules immunitaires dans la paroi intestinale, entraînant une inflammation chronique. Les macrophages et les cellules dendritiques anormalement activés vont conduire à une production de cytokines pro-inflammatoires et induisent une différenciation préférentielle des LT CD4 naïfs en sous-types effecteurs Th1 et Th17, au détriment des lymphocytes régulateurs. Cette réponse entraîne un déséquilibre cytokinique (TNF- α , IFN- γ , IL-6, IL-12, IL-17), qui entretient le recrutement

des cellules effectrices générant l'inflammation transmurale et les lésions caractéristiques observées dans les tissus.

Les CSM ont le potentiel de restaurer l'homéostasie immunitaire chez les patients atteints de MICI en modulant les réponses immunitaires pro-inflammatoires vers un profil anti-inflammatoire. L'administration de CSM d'origine humaine a montré un effet thérapeutique significatif dans des modèles animaux de maladie de Crohn, notamment par l'inhibition des réponses Th1 et Th17 tout en favorisant l'expansion et l'activité des Tregs. Par ailleurs, les CSM peuvent contribuer à la réparation des tissus lésés en stimulant la prolifération et la survie cellulaire via la sécrétion d'enzymes protéolytiques et de facteurs angiogéniques. Elles exercent également des effets anti-apoptotiques et anti-fibrotiques, favorisant ainsi la régénération de la muqueuse intestinale et le maintien de l'intégrité de la barrière épithéliale (148,149) (figure 26).

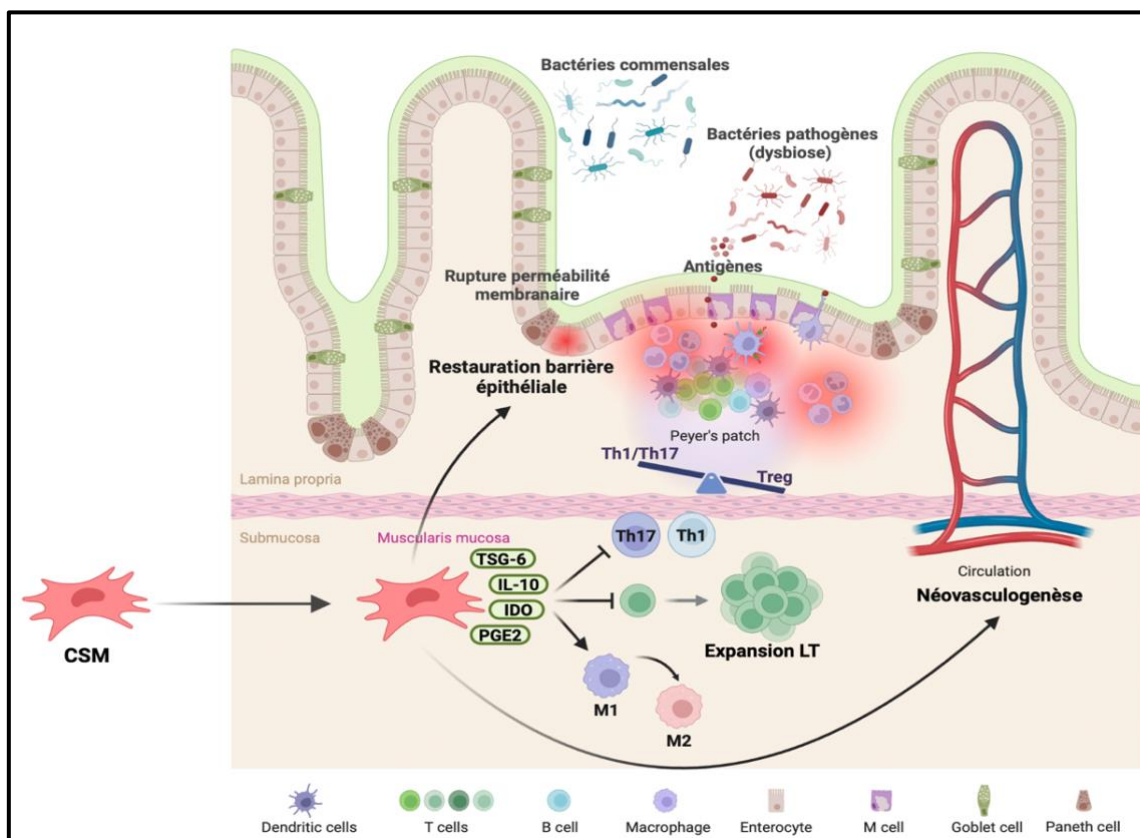


Figure 26 : Schématisation des mécanismes d'action des CSM dans la MC
(réalisée avec BioRender).

3. Expérience clinique

Le premier essai de thérapie cellulaire utilisant des CSM autologues (AT-MSC) obtenues à partir d'un lipoaspirat pour le traitement des fistules de la MC chez 5 patients a été publié en 2005. L'étude a montré une cicatrisation dans la majorité des cas, posant ainsi les bases de l'utilisation des CSM pour les fistules complexes de la MC. Le même groupe a publié en 2009 un essai multicentrique randomisé de phase II, comparant l'efficacité de la colle de fibrine seule à celle combinée à 20 millions de CSM. Le taux de cicatrisation était significativement plus élevé dans le groupe CSM (71% vs. 16%), avec une amélioration notable de la qualité de vie (150).

D'autres sources tissulaires ont été explorées comme les BM-MSC. L'étude de Molendijk et al. publiée en 2015 visait à évaluer la sécurité et l'efficacité de l'injection de BM-MSC allogéniques chez des patients atteints de fistules périanales réfractaires liées à la MC. 21 patients ont été répartis en trois groupes recevant des doses croissantes de CSM (1×10^7 , 3×10^7 , 9×10^7 cellules) avec un groupe placebo. La cicatrisation de la muqueuse a été évaluée à 6, 12 et 24 semaines. Une amélioration significative a été observée, en particulier dans le groupe 2 (3×10^7) avec un taux de cicatrisation atteignant 80% contre 16,7% dans le groupe placebo. Cette réponse clinique a été maintenue jusqu'à la 24^{ème} semaine et les injections locales de CSM ont été bien tolérées, sans effets indésirables graves ni réactions systémiques rapportées (151).

Parallèlement aux injections locales, plusieurs essais ont évalué l'efficacité systémique des CSM dans les formes lumorales réfractaires de la maladie. Onken et al., de l'université de Duke, ont conduit le premier essai clinique chez l'homme dans cette indication. 10 patients ont été randomisés pour recevoir soit une faible dose (2×10^6 de cellules/kg) soit une forte dose (8×10^6 de cellules/kg), administrée à deux reprises à sept jours d'intervalle. Les 9 patients ayant reçu le traitement ont montré une diminution du score CDAI (*Crohn Disease Activity Index*) avec une réponse clinique significative (réduction d'au moins 100 points du score CDAI) observée chez 33% des patients à J14. Bien que non statistiquement significative, la réduction moyenne du score CDAI à J28 était plus importante dans le groupe à forte dose que dans celui à faible dose. Toutes les perfusions ont été bien tolérées sans événement indésirable grave lié au traitement (150).

La première étude de phase III pour les CSM dans la MC a été initiée en 2007 par Osiris Therapeutics. L'objectif était d'inclure 270 patients atteints de MC active présentant un échec ou une intolérance aux traitements conventionnels.

Les patients étaient randomisés pour recevoir Prochymal® (BM-MSD allogéniques) à faible dose (600 millions de cellules), forte dose (1200 millions de cellules) ou un placebo par voie intraveineuse. Le critère principal était la rémission clinique à 28 jours et les critères secondaires comprenaient la réponse clinique, l'amélioration de la qualité de vie et la réduction du nombre de fistules drainantes. Malgré un taux de réponse placebo élevé qui a nécessité une révision du protocole, les analyses intermédiaires ont montré une amélioration significative des scores cliniques dans les groupes traités avec un bon profil de sécurité (149).

L'étude multicentrique randomisée en double aveugle vs placebo conduite par Panés et al. en 2016 (ADMIRE-CD) a évalué l'efficacité et la sécurité du darvadstrocel (Alofisel®), un produit de thérapie cellulaire à base d'AT-MSD pour le traitement des fistules périanales complexes chez des patients atteints de MC.

Au total 212 patients ont été inclus et ont reçu soit une injection locale de darvadstrocel soit un placebo. Le critère principal d'évaluation était le taux de réponse combinée à 24 semaines, défini comme la fermeture de tous les orifices fistuleux externes drainants à l'examen clinique, associé à l'absence de collections > 2 cm en imagerie (IRM). Ce critère a été atteint chez 50% des patients traités contre 34% dans le groupe placebo. Le traitement a également montré un bon profil de sécurité, sans augmentation du taux d'effets indésirables graves comparé au placebo. Cette étude a permis de valider pour la première fois l'efficacité d'un produit à base de CSM dans un essai de phase III, conduisant à une AMM européenne du darvadstrocel en 2018 pour le traitement des fistules périanales complexes réfractaires chez l'adulte (150,152).

Le récapitulatif des essais est détaillé ci-après (tableau 5).

Tableau 5 : Synthèse des essais cliniques détaillés dans la maladie de Crohn.

Étude	Pays	Type de CSM/ Voie administration	Design de l'étude	Résultats
Garcia-Olmo et al., 2005	Espagne	AT-MSD autologues (lipoaspirat) Injection locale au niveau des fistules	Phase I prospective N = 5	<ul style="list-style-type: none"> • Sécurité ☺ • Taux de cicatrisation : 75% à 8 semaines

Garcia-Olmo et al., 2009	Espagne	AT-MSC autologues + colle de fibrine Injection locale	Phase II randomisée (vs colle fibrine seule) N = 14 (fistules associées à la MC)	<ul style="list-style-type: none"> • Sécurité ☑ • Cicatrisation : 71% (AT-MSC + colle) vs 16% (colle fibrine seule) • Amélioration de la qualité de vie
Molendijk et al., 2015	Pays-Bas	BM-MSC allogéniques Injection locale	Phase I/II randomisée (vs placebo) N = 21	<ul style="list-style-type: none"> • Sécurité ☑ • 3 doses testées (1×10^7, 3×10^7, 9×10^7) • Meilleure cicatrisation dans le groupe 2 (3×10^7) : 80% vs 16,7% placebo
Osiris Therapeutics, 2007	Multicentrique (États-Unis, Canada, Nouvelle-Zélande)	BM-MSC allogéniques (Prochymal®) Injection IV	Phase III randomisée (vs placebo) N = 270	<ul style="list-style-type: none"> • Sécurité ☑ (suivi 4 ans) • Révision du protocole à cause du fort taux de réponse placebo • Amélioration des scores cliniques
Panés et al., 2016 (ADMIRE-CD)	Multicentrique (Europe, Israël)	AT-MSC allogéniques (Darvadstrocel / Alofisel®) Injection locale	Phase III randomisée (vs placebo) N = 212	<ul style="list-style-type: none"> • Sécurité ☑ • Taux de réponse combinée à 24 semaines : 50% vs 34% (placebo) • Première AMM européenne d'un produit à base de CSM

F. Produits à base de CSM approuvés

Après avoir passé en revue les applications cliniques investiguées pour les CSM il est pertinent de s'intéresser à leur traduction clinique à travers les produits déjà approuvés sur le marché international. À ce jour, on recense 11 produits à base de CSM ayant obtenu une autorisation de mise sur le marché dans différents pays (tableau 6).

Cinq produits ont été approuvés en Corée à savoir : (153–155)

- **Queencell® (Anterogen)** : approuvé en mars 2010, il s'agit d'une préparation autologue de CSM dérivées du tissu adipeux indiqué dans le traitement des défauts du tissu sous-cutané.

- **Cellgram-AMI® (Pharmicell)** : approuvé depuis juillet 2011, il est composé de CSM autologues de la moelle osseuse. Il est utilisé pour améliorer la fraction d'éjection ventriculaire gauche chez les patients présentant un infarctus aigu du myocarde reperfusé par angioplastie coronaire dans les 72 heures suivant l'apparition de la douleur thoracique.
- **Cartistem® (Medipost)** : approuvé depuis janvier 2012, il est composé de CSM allogéniques dérivées du sang de cordon ombilical et est indiqué dans le traitement des lésions du cartilage du genou.
- **Cupistem® (Anterogen)** : approuvé depuis janvier 2012, il est composé de CSM autologues du tissu adipeux et est indiqué dans le traitement des fistules associées à la maladie de Crohn.
- **Neuronata-R® (Corestem)** : approuvé depuis juillet 2014, il est composé de CSM autologues de la moelle osseuse et est indiqué dans le traitement de la sclérose latérale amyotrophique.

Au Japon, deux produits ont été autorisés : (154,155)

- **Temcell HS® (JCR Pharmaceuticals)** : approuvé depuis septembre 2015, il s'agit d'une thérapie à base de CSM allogéniques dérivées de la moelle osseuse indiquée dans le traitement de la maladie du greffon contre l'hôte aiguë.
- **Stemirac® (Nipro Corporation)** : approuvé sous condition par l'agence réglementaire japonaise (PMDA, *Pharmaceuticals and Medical Devices Agency*) depuis décembre 2018, il est composé de CSM autologues provenant de la moelle osseuse et est indiqué dans le traitement des lésions traumatiques de la moelle épinière.

Deux autres thérapies ont été autorisées hors des grands marchés :

En Inde, **Stempeucel® (Stempeutics Research)** est approuvé depuis mai 2016, il contient des CSM adultes dérivées de la moelle osseuse de plusieurs donneurs sains et est utilisé pour traiter l'ischémie critique chronique des membres inférieurs due à la maladie de Buerger ou à l'artériopathie périphérique (156).

En Iran, **Mesestrocell® (Cell Tech Pharmed)** est approuvé depuis janvier 2018. Il est composé de CSM autologues de la moelle osseuse pour le traitement de l'arthrose (157).

En Europe, **Alofisel® (Takeda Pharmaceutical Company Limited)** est le seul produit à base de CSM à avoir reçu une AMM de la part de l'EMA (2018). Il est constitué de CSM humaines adultes allogéniques amplifiées d'origine adipeuse, indiqué pour le traitement de fistules périanales complexes chez les patients adultes atteints de maladie de Crohn, sur la base de l'essai ADMIRE CD I (158).

Cependant, il a depuis lors été retiré du marché dans l'Union Européenne en décembre 2024, son bénéfice clinique ayant été réévalué et jugé insuffisant pour justifier le maintien de son utilisation (159).

Aux États-Unis, **Prochymal® (Osiris Therapeutics)** un produit expérimental constitué de CSM allogéniques dérivées de la MO, n'a pas démontré son efficacité dans la maladie de Crohn, la BPCO et lors de deux essais de phase III ratés dans la GVHD sévère. Malgré ces résultats décevants, des autorisations conditionnelles ont été accordées en 2012 au Canada et en Nouvelle-Zélande, sur la base d'une analyse d'un sous-groupe pédiatrique montrant une meilleure réponse chez les enfants atteints de GVHD aiguë gastro-intestinale. Malgré cette approbation conditionnelle, l'utilisation clinique est restée marginale dans ces juridictions et Osiris a finalement vendu les droits de développement commercial de Prochymal® à Mesoblast en 2013.

Mesoblast a optimisé le processus de fabrication avec le nouveau **Ryoncil® (remestemcel-L-rknd)** qui est devenu la première et unique thérapie à base de CSM approuvée aux États-Unis. Il est composé de BM-MSC allogéniques et a obtenu son approbation dans le cadre de la maladie aiguë du greffon contre l'hôte en population pédiatrique (160).

Dernièrement, le 2 janvier 2025, l'administration nationale chinoise des produits médicaux (NMPA, *National Medical Products Administration*) a accordé une autorisation conditionnelle à l'injection d'**amimestrocel (UC-MSC PLEB-001, Ruibosheng, Platinum Life Excellence Biotech Co. Ltd)**. Cette approbation en fait la première thérapie cellulaire chinoise à base d'UC-MSC, offrant une option thérapeutique prometteuse pour la GVHD aiguë (153).

Tableau 6 : Thérapies à base de CSM actuellement approuvées

MFDS : Ministry of Food and Drug Safety, **PMDA** : Pharmaceuticals and Medical Devices Agency,

DCGI : Drug Controller General of India, **IFDA** : Iran Food and Drugs Administration, **NMPA** :

National Medicinal Products Administration

Nom commercial	Pays	Date d'approbation	Compagnie	Description du composant cellulaire	Indication
Queencell	Corée (MFDS)	03/2010	Anterogen	AT-MSC autologues	Défauts du tissu sous-cutané
Cellgram-AMI	Corée (MFDS)	07/2011	Pharmicell	BM-MSC autologues	Infarctus aigu du myocarde
Cartistem	Corée (MFDS)	01/2012	Medipost	UCB-MSC allogéniques	Lésions du cartilage du genou
Cupistem	Corée (MFDS)	01/2012	Anterogen	AT-MSC autologues	Fistules dans la maladie de Crohn
Neuronata-R	Corée (MFDS)	07/2014	Corestem	BM-MSC autologues	Sclérose latérale amyotrophique
Temcell HS	Japon (PMDA)	09/2015	JCR Pharmaceuticals	BM-MSC allogéniques	GVHD aiguë
Stemirac	Japon (PMDA)	12/2018	Nipro corporation	BM-MSC autologues	Lésions traumatiques de la moelle épinière
Stempeucel	India (DCGI)	05/2016	Stempeutics Research	BM-MSC allogéniques	ICC (maladie de Buerger/artériopathie périphérique)
Mesestrocell	Iran (IFDA)	01/2018	Cell Tech Pharmed	BM-MSC autologues	Arthrose
Ryoncil	États-Unis (FDA)	12/2024	Mesoblast Limited	BM-MSC allogéniques	GVHD aiguë
Ruibosheng	Chine (NMPA)	01/2025	Platinum Life Excellence Biotech	UC-MSC	GVHD aiguë

V. Défis, limites et stratégies d'optimisation des CSM

A. Défis cliniques des CSM

1. Hétérogénéité des CSM

Malgré un fort potentiel thérapeutique et plusieurs décennies d'investigation dans la recherche, la traduction clinique des CSM demeure limitée. Cette réalité se reflète dans le nombre restreint de thérapies à base de CSM approuvées par les agences réglementaires et ce malgré le nombre d'essais cliniques référencés (161).

En effet, bien que leur profil de sécurité soit globalement très satisfaisant, la preuve de leur efficacité chez l'homme reste inconstante, comme en témoignent certains essais cliniques n'ayant pas réussi à atteindre leur critère principal d'évaluation. Plusieurs facteurs peuvent expliquer ces résultats cliniques sous-optimaux.

Tout d'abord, les CSM constituent intrinsèquement une population cellulaire hétérogène dont les profils d'expression génique et protéique varient en fonction des caractéristiques du donneur, du tissu d'origine, de la méthode d'isolement ainsi que des conditions de préparation *in vitro* (protocole de culture cellulaire et d'expansion) et de conservation (figure 27) (162). Par ailleurs, leur biodistribution et leur pharmacocinétique varient selon la voie d'administration utilisée et les connaissances actuelles restent limitées quant à l'impact de la réponse immunitaire de l'hôte sur l'efficacité thérapeutique post-administration (163).

a) Variabilité intrinsèque

Les variabilités inter-donneurs telles que l'état de santé, le profil génétique, le sexe et l'âge peuvent se manifester par des différences de phénotype, de morphologie et de fonctionnalité entre des CSM issues du même tissu d'origine. Ces variations peuvent influencer la capacité de prolifération, le potentiel de différenciation et les propriétés immunomodulatrices des CSM (164) et constituent un paramètre clé à prendre en compte dans toute stratégie de standardisation, en particulier dans le cadre des thérapies allogéniques.

Dans cette optique, certaines stratégies visent à limiter l'impact de cette variabilité inter-donneurs. Parmi elles, l'utilisation d'un « pool » de CSM issues de plusieurs

donneurs permettrait d'atténuer cette variabilité et de garantir des lots plus homogènes tant sur le plan phénotypique que fonctionnel. Cette approche développée notamment par Kuçi et ses collègues consiste à créer une banque de CSM à partir d'un pool de cellules mononucléées de moelle osseuse de plusieurs donneurs sains (non compatibles HLA). Le produit « MSC-Frankfurt » a conduit après expansion à un potentiel allosuppresseur significativement plus élevé que celui généré à partir de donneurs individuels (165). Ces résultats mettent en évidence l'avantage de regrouper les CSM de moelle osseuse pour générer un produit de qualité clinique. La présence de plusieurs donneurs incompatibles dans une même culture cellulaire induit une réaction allogénique forte et multidirectionnelle, susceptible de sélectionner des CSM particulièrement puissantes ou de les orienter vers un phénotype plus fortement immunomodulateur que celui obtenu par sélection et expansion des CSM d'un seul donneur.

Les interactions entre les CSM et les cellules ou tissus de l'hôte représentent également un facteur important dans la médiation de leurs effets thérapeutiques, en particulier dans un contexte inflammatoire (53). En effet, malgré l'utilisation de CSM présentant des caractéristiques d'identité et de fonctionnalité similaires, la réponse clinique des patients reste parfois hétérogène. Cette variabilité peut s'expliquer par l'hétérogénéité génétique des patients mais aussi par les différences dans leur microenvironnement cellulaire et moléculaire, leur statut immunitaire ou encore le stade de leur maladie, autant de facteurs qui contrastent avec l'uniformité des modèles animaux précliniques (163).

En particulier, l'activation locale des CSM souvent désignée sous le terme de « *licensing* » semble être une condition essentielle à l'expression de leurs fonctions immunomodulatrices, qui constituent un mécanisme central dans de nombreuses pathologies. Ce constat soutient les efforts récents visant à identifier chez les patients des phénotypes cliniques (liés à la présentation clinique de la maladie) et des endotypes moléculaires (liés aux mécanismes physiologiques sous-jacents) permettant de stratifier ceux qui seraient les plus susceptibles de répondre favorablement au traitement (166).

Par exemple, l'expérience des CSM dans la GVHD a montré que les sous-populations pédiatriques pouvaient présenter un meilleur taux de réponse que les adultes, ce qui constitue un biomarqueur simple d'ordre démographique. De même, certaines propriétés fonctionnelles des patients telles que la capacité de leurs lymphocytes à

induire la lyse des CSM *in vitro* se profilent comme des marqueurs prédictifs prometteurs de la réponse thérapeutique chez les adultes atteints de GVHD (167).

En effet, l'approfondissement des connaissances sur le mécanisme d'action des CSM a révélé que leur apoptose *in vivo*, déclenchée par les interactions avec les cellules immunitaires de l'hôte, contribue à l'expression de leurs effets immunomodulateurs. Ce phénomène serait médié, d'une part, par la libération de médiateurs anti-inflammatoires et de vésicules extracellulaires apoptotiques par les CSM et, d'autre part, par leur efferocytose. Une fois phagocytées par les macrophages, les CSM apoptotiques induisent la production d'IDO dans les phagocytes receveurs, inhibant ainsi la prolifération des LT et favorisant un profil immunorégulateur. Ainsi, la variabilité interindividuelle dans la capacité à induire l'apoptose des CSM pourrait conditionner l'efficacité clinique de la thérapie (168).

En ce sens, une compréhension encore plus approfondie des mécanismes d'action est indispensable non seulement pour éclairer la conception d'essais cliniques mais également pour guider la sélection des patients en fonction de leurs profils biologiques et cliniques. L'établissement de biomarqueurs spécifiques et prédictifs pourrait ouvrir la voie à des essais cliniques plus rationnels et à une utilisation optimisée de ces thérapies cellulaires.

La source tissulaire est un autre facteur majeur d'hétérogénéité fonctionnelle. En fonction de leur origine, les CSM présentent des profils différents en termes de prolifération, de capacité de différenciation et de propriétés immunomodulatrices (169). Ainsi, le choix de la source tissulaire doit être adapté en fonction des objectifs cliniques visés. Pour garantir une reproductibilité et une standardisation optimale des produits cellulaires, il est crucial de bien caractériser ces variations et d'intégrer ces paramètres dans les protocoles de fabrication et d'évaluation des CSM.

b) Variabilité extrinsèque

Outre les facteurs intrinsèques liés au donneur ou à la source tissulaire, les CSM sont soumises à une variabilité dite extrinsèque directement influencée par les procédés de fabrication, de conservation et d'administration.

En effet, les méthodes d'isolement et les protocoles de mise en culture et d'expansion (composition du milieu de culture, densité d'ensemencement, tension en oxygène, flasques ou bioréacteurs, nombre de passages) peuvent moduler le profil d'expression

génique, le phénotype et l'état épigénétique des CSM. Par ailleurs, les procédés de cryoconservation (vitesse de congélation, cryoprotecteurs utilisés) et les conditions de stockage et de décongélation peuvent affecter la viabilité, l'adhérence et les propriétés fonctionnelles des CSM (163,164).

Enfin, la voie d'administration, qu'elle soit systémique ou locale, ainsi que les paramètres associés (dose, fréquence) varient d'un protocole à l'autre et influencent la biodistribution, la capacité de migration, la survie *in vivo* et par conséquent l'efficacité clinique des CSM (163). Ainsi, la compréhension de ces facteurs extrinsèques constitue un enjeu majeur dans la standardisation des procédés afin d'optimiser la reproductibilité et la performance des thérapies à base de CSM.

2. Limitation des essais cliniques

L'hétérogénéité des CSM peut contribuer aux incohérences observées dans les résultats de certains essais cliniques. Les facteurs évoqués précédemment peuvent aboutir à la production de lots présentant des profils fonctionnels distincts. Par conséquent, deux études portant sur la même indication thérapeutique peuvent en réalité administrer des produits substantiellement différents, ce qui complique la comparaison des résultats. La compréhension approfondie de la biologie des CSM ainsi que la standardisation et l'harmonisation des procédés de fabrication restent des objectifs en cours de développement, indispensables pour améliorer la reproductibilité et la prédictibilité des effets cliniques.

Au-delà de cette variabilité inhérente au produit cellulaire, d'autres facteurs limitent également la robustesse et l'interprétation des essais cliniques. Dans de nombreux cas, la caractérisation des cellules est incomplète avec un manque d'informations précises sur leur identité, leur pureté, leur viabilité et leur puissance (170,171). Cela soulève des incertitudes quant à la nature exacte du produit cellulaire administré et complique l'analyse comparative des résultats par les chercheurs. Face à ces constats, plusieurs initiatives ont été proposées pour améliorer la qualité et la transparence du reporting.

Parmi elles, le format DOSES (*Donor, Origin of tissue, Separation method, Exhibited cell characteristics, Site of delivery*) a été développé par un panel international d'experts pour normaliser la description des thérapies cellulaires (172).

Une autre contrainte rapportée est la publication partielle ou sélective des résultats notamment lorsque ceux-ci sont négatifs ce qui entrave la compréhension globale des performances cliniques et limite la possibilité d'identifier les causes d'échec, d'éviter la répétition d'approches inefficaces et d'optimiser les protocoles (170,173).

À cela s'ajoutent des limites méthodologiques récurrentes ; de nombreux essais sont de petite taille, souvent non randomisés, sans groupe contrôle et avec des critères d'évaluation hétérogènes ou intermédiaires. Ce manque d'harmonisation dans le design des essais rend les comparaisons entre études d'autant plus difficiles.

De plus, certaines indications traitées par les CSM concernent des pathologies rares ou à des stades très avancés, ce qui complique le recrutement d'un nombre suffisant de patients. Dans ce contexte, la faible taille des cohortes et l'état clinique des participants peuvent limiter la détection d'un bénéfice thérapeutique, soit parce que le microenvironnement tissulaire est défavorable, soit parce que l'impact potentiel des CSM reste limité face à la gravité de la maladie.

Ainsi, la combinaison de la variabilité des CSM, de leur caractérisation insuffisante, des limites méthodologiques et des biais de publication freine non seulement l'évaluation objective de leur efficacité, mais également la progression vers des approches cliniques robustes et reproductibles.

Ces constats soulignent qu'au-delà d'une meilleure standardisation et d'un reporting des essais plus rigoureux il est également nécessaire d'agir directement sur le produit cellulaire lui-même.

B. Stratégies d'optimisation des CSM

Compte tenu de l'hétérogénéité des résultats démontrant l'efficacité des CSM dans le traitement de différentes pathologies, il est nécessaire d'améliorer les propriétés thérapeutiques des CSM. Face à ces défis, plusieurs axes de recherche émergent pour optimiser leur efficacité et leur sécurité, améliorer leur développement industriel et faciliter leur mise en œuvre clinique (figure 27) (162).

1. Préconditionnement cellulaire

Le preconditionnement des CSM, aussi appelé *priming* ou *licensing*, est reconnu pour améliorer leur efficacité thérapeutique. L'objectif est de renforcer leurs propriétés

immunomodulatrices et trophiques et leur survie/viabilité lors de leur administration. Plusieurs approches existent (172,174) :

- **L'amorçage avec des médiateurs pro-inflammatoires** (comme l'IFN- γ , le TNF- α , l'IL-1 α) induit fortement l'expression de molécules immunorégulatrices (IDO, TSG-6, PGE2) ainsi que des ligands spécifiques pour les récepteurs des chimiokines impliqués dans la chimiotaxie des lymphocytes T. Par exemple, le préconditionnement des CSM avec de l'IFN- γ active la transcription et la synthèse d'IDO et conduit à une amélioration durable du phénotype suppressif des CSM vis-à-vis des lymphocytes T.
- **Le préconditionnement par hypoxie** imite le microenvironnement physiologique des CSM et favorise la sécrétion de facteurs angiogéniques (VEGF, HGF) et la régénération tissulaire comme observé dans des lésions rénales ou pulmonaires.
- **L'utilisation d'agents pharmacologiques** (ex. : acide valproïque, acide tout-trans rétinolique, isoflurane) permet de moduler les voies de signalisation intracellulaires par des mécanismes distincts.

Ces signaux de *priming* activent divers médiateurs potentiels des CSM, incluant des récepteurs de surface et leurs ligands, des molécules de signalisation impliquées dans la survie et la croissance, des régulateurs tels que les microARN ainsi que des facteurs de transcription capables de modifier le phénotype des CSM. L'ensemble de ces mécanismes conduit à une amélioration des fonctions thérapeutiques.

Plusieurs produits à base de CSM préconditionnées ont déjà été évalués en clinique. Le plus notable est NurOwn, développé par *Brainstorm Cell Therapeutics*. Il est obtenu à partir de BM-MS-C autologues cultivées selon des conditions brevetées favorisant la sécrétion de facteurs neurotrophiques tels que le GDNF, le BDNF, le VEGF et l'HGF (162). *Brainstorm* se concentre sur l'autorisation réglementaire de NurOwn pour la SLA et a reçu en mai 2025 l'approbation de la FDA pour un essai de phase IIIb (NCT06973629) (175). Cette thérapie a également fait l'objet d'une extension d'indication thérapeutique dans la SEP dans un essai clinique de phase II (NCT03799718) (176).

2. Biomatériaux

Outre les stratégies de *priming*, les outils de bio-ingénierie tissulaire comme les biomatériaux sont utilisés pour optimiser les thérapies à base de CSM dans l'optique de pallier certaines limites liées à leur administration.

L'un des principaux obstacles rencontrés est la faible survie et la mauvaise rétention des CSM dans les tissus lésés. Cela s'explique en partie par leur culture bidimensionnelle *in vitro* très éloignée de la complexité tridimensionnelle de leur niche physiologique. Dans leur environnement naturel les CSM interagissent avec des facteurs solubles, d'autres types cellulaires ainsi qu'avec la matrice extracellulaire. Ces composantes de la niche et leurs interactions fournissent aux cellules des signaux spécifiques conditionnant leur survie et leur fonction (177,178).

Étant donné que la MEC est composée de biomacromolécules, les polymères sont largement utilisés comme biomatériaux dans les applications d'ingénierie tissulaire à base de CSM, notamment en raison de leur biocompatibilité et de leurs propriétés physicochimiques modulables. Qu'ils soient naturels (collagène, alginate, acide hyaluronique, etc.) ou synthétiques (PLGA, PEG, etc.) ces derniers sont conçus pour imiter les propriétés structurelles et fonctionnelles de la MEC (177). Ils offrent ainsi un support physique qui protège les cellules et permet de créer un microenvironnement favorable à leur survie, leur prolifération et leur différenciation. De plus, ils peuvent être conjugués à des molécules bioactives telles que des facteurs de croissance ou des peptides adhésifs ce qui leur confère une capacité unique à délivrer des signaux ciblés et contrôlés, renforçant ainsi l'efficacité thérapeutique des produits à base de CSM (177). Ces biomatériaux polymériques peuvent être utilisés sous diverses formes (films, échafaudage ou « *scaffold* », hydrocolloïdes, hydrogels, etc.).

Parmi eux, les hydrogels sont largement utilisés dans les applications d'ingénierie tissulaire en raison de leur capacité à mimer la MEC et sont donc les plus exploités pour encapsuler les CSM dans le but d'améliorer leur survie et leur viabilité (179).

À titre d'illustration, Anterogen Ltd développe un film d'hydrogel contenant des AT-MSA allogéniques qui est évalué dans plusieurs pathologies et notamment dans un essai de phase III sur les ulcères du pied diabétique (NCT03370874) (163).

3. Modification génétique

La modification génétique des CSM constitue une stratégie prometteuse pour améliorer leur efficacité thérapeutique et élargir leurs applications cliniques. Les techniques employées incluent l'édition génique (ex. CRISPR/Cas9) pour inactiver, modifier ou remplacer des gènes cibles ainsi que les technologies transgéniques reposant sur la transduction virale (adénovirus, lentivirus, etc.) ou la transfection non virale (électroporation, sonoporation, nanoparticules, etc.) (180). Cette approche vise, d'une part, à optimiser les fonctions biologiques des CSM telles que leur survie, leur migration et leur prolifération. Plusieurs exemples illustrent ce potentiel dans des modèles animaux : la surexpression de CXCR4 améliore la migration des CSM vers les sites lésés, tandis que l'augmentation de l'expression de gènes de survie cellulaire (Akt, Bcl-2) permet de prolonger leur viabilité après administration (181).

D'autre part, la modification génétique permet d'accroître les capacités thérapeutiques des CSM en régulant à la hausse ou à la baisse leurs gènes natifs, entraînant une production contrôlée de leurs facteurs naturels (médiateurs pro ou anti-inflammatoires, cytokines, facteurs de croissance), ou en introduisant des gènes exogènes pour cibler des pathologies spécifiques. Par exemple, des CSM génétiquement modifiées pour exprimer la thiorédoxine-1 (un facteur antioxydant) ont amélioré la fonction cardiaque dans des modèles murins d'infarctus du myocarde (163).

L'un des domaines où cette stratégie s'avère pertinente est l'oncologie. Les CSM possèdent en effet plusieurs propriétés naturelles favorables à un usage antitumoral car elles sont immunoprivilégiées et capables de migrer vers les tumeurs. Elles sont ainsi envisagées comme des « chevaux de Troie » capables de délivrer ou de produire des agents anticancéreux. Parmi les approches explorées, l'expression de TRAIL (*TNF-related apoptosis-inducing ligand*) par les CSM est prometteuse. Ce ligand induit sélectivement l'apoptose des cellules malignes mais sa courte demi-vie limite son efficacité. Sasportas et al. ont démontré que les CSM génétiquement modifiées pour exprimer TRAIL étaient capables d'inhiber la croissance tumorale dans un modèle murin de glioblastome hautement malin (163).

Parallèlement aux résultats obtenus dans les modèles précliniques, plusieurs thérapies basées sur des CSM génétiquement modifiées sont actuellement en développement clinique. Parmi elles, un essai de phase I/II TACTICAL a été conçu pour évaluer la sécurité et l'efficacité de la thérapie « MSCTRAIL » chez des patients

atteints d'adénocarcinome pulmonaire. Elle se compose de CSM allogéniques dérivées de cordon ombilical transduites avec un vecteur lentiviral pour exprimer la protéine anticancéreuse TRAIL (182). La modification génétique des CSM ouvre donc la voie à des thérapies cellulaires de nouvelle génération, plus ciblées et plus puissantes. Que ce soit pour la régénération tissulaire, la modulation immunitaire ou le traitement ciblé des cancers, ces approches combinent le potentiel naturel des CSM avec les outils les plus avancés de la biotechnologie, visant à optimiser leur efficacité *in vivo*. Cependant, la transposition clinique des CSM génétiquement modifiées est en cours d'investigation et nécessite des études approfondies sur la sécurité et l'efficacité de chaque stratégie, à court et à long terme.

4. Utilisation du sécrétome des CSM

Les effets thérapeutiques des CSM sont aujourd'hui largement attribués à leur sécrétome constitué de facteurs solubles (cytokines, chimiokines, facteurs de croissance, protéines, acides nucléiques, etc.) et de différents types de vésicules extracellulaires. Sur cette base est née l'idée d'une approche acellulaire « *cell-free* », utilisant le sécrétome comme un composant pharmaceutique à part entière.

Cette stratégie permet de s'affranchir de certains inconvénients liés à la transplantation cellulaire. En effet, le fait de ne pas administrer de cellules viables limite davantage le risque d'immunogénicité et de tumorigenèse renforçant ainsi le profil de sécurité déjà favorable des CSM. Par ailleurs, le sécrétome, en plus de sa biocompatibilité, présente des avantages logistiques : son stockage est facilité (sans recours à des agents cryoprotecteurs cytotoxiques) et son transport est plus simple et plus économique que celui de cellules entières (183).

Quelques études ont été menées sur l'utilisation du sécrétome des CSM ou de leurs VE dans différentes indications cliniques notamment les pathologies respiratoires (COVID-19), neurologiques (AVC), inflammatoires (diabète de type 1) (184) ainsi que dans d'autres affections comme l'infertilité (insuffisance ovarienne prématurée) (185). Actuellement, il n'existe aucun traitement approuvé basé sur le sécrétome des CSM car les profils de sécurité et d'efficacité ne sont pas encore suffisamment démontrés. De plus, l'un des principaux obstacles à leur application clinique réside dans le fait que le sécrétome peut lui aussi présenter des caractéristiques variables en fonction des tissus sources, des conditions de culture et du microenvironnement cellulaire auquel

les CSM sont exposées. Cette variabilité souligne la nécessité d'établir des lignes directrices de bonnes pratiques de fabrication pour la production à grande échelle des produits dérivés des CSM. D'un point de vue technique, l'isolement du sécrétome consiste généralement à cultiver les CSM pendant une période déterminée, puis à recueillir le surnageant de culture avant de procéder à des étapes de centrifugation et de purification (183). Ainsi, pour que ces constituants puissent atteindre la pratique clinique, il est nécessaire de disposer d'un protocole standardisé, non seulement pour la culture et la production des CSM, mais également pour l'isolement du sécrétome. Un tel protocole permettrait de réduire l'hétérogénéité des produits et d'améliorer leur prévisibilité en termes de composition biochimique et de fonction biologique (183,186).

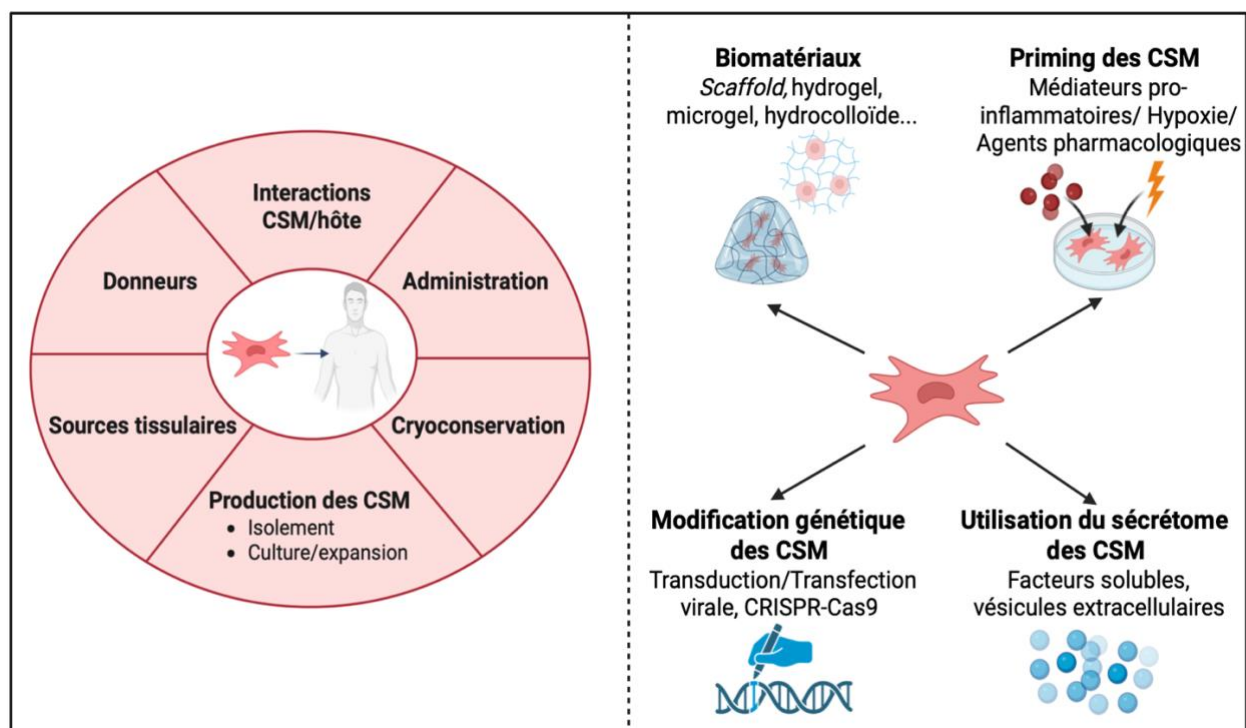


Figure 27 : Schématisation des facteurs majeurs responsables de l'hétérogénéité des CSM et stratégies d'optimisation thérapeutique (réalisée avec BioRender).
Adaptée de Zhou et al., *J Hematol Oncol* (2021) ; DOI : 10.1186/s13045-021-01037-

CONCLUSION

Ces dernières années la recherche sur les CSM a pris une ampleur considérable. Initialement étudiées pour leur capacité de différenciation, la compréhension de leur mécanisme d'action a depuis profondément évolué. Loin de se limiter à un rôle de précurseurs capables de remplacer les cellules lésées, une grande partie de leur potentiel thérapeutique est désormais attribuée à leurs propriétés paracrine et immunomodulatrices. Ce changement de paradigme a conduit à un élargissement de leur champ d'application et à la multiplication des essais cliniques, dans des indications allant de la réparation tissulaire à la modulation des réponses immunitaires et inflammatoires.

Malgré un profil de sécurité bien documenté, les résultats cliniques obtenus restent hétérogènes et parfois décevants, ce qui explique le faible nombre de produits à base de CSM actuellement autorisés au niveau mondial. Ces limites traduisent plusieurs défis majeurs : l'hétérogénéité liée aux cellules elles-mêmes, les variations introduites par les protocoles de fabrication et d'administration, le manque de standardisation au niveau des essais cliniques ainsi que l'absence de biomarqueurs fiables permettant de prédire la puissance thérapeutique.

Pour surmonter ces obstacles, de nouvelles stratégies ont émergé afin d'accroître l'efficacité thérapeutique des CSM et de mieux contrôler leur devenir après transplantation. Parmi elles figurent le préconditionnement cellulaire, l'intégration de biomatériaux comme supports ou vecteurs, la modification génétique destinée à renforcer ou orienter certaines fonctions spécifiques, ainsi que l'exploitation du sécrétome et des vésicules extracellulaires issues des CSM.

En définitive, ces cellules apparaissent comme des agents thérapeutiques singuliers, situées à l'intersection de la régénération tissulaire, de l'immunothérapie et de la biotechnologie. Leur avenir dépendra de la capacité de la communauté scientifique et médicale à affiner leur définition, à standardiser leur utilisation et à intégrer les innovations technologiques. Si ces conditions sont réunies, les CSM et leurs dérivés pourraient transformer durablement la prise en charge de nombreuses pathologies dépourvues de traitements efficaces.

BIBLIOGRAPHIE

1. Médecine régénératrice : quelles avancées à ce jour ? [Internet]. [cité 16 oct 2024]. Disponible sur: <https://www.leem.org/100-questions/medecine-regeneratrice-queelles-avancees-ce-jour>
2. Appasani K, Appasani RK, éditeurs. Stem Cells & Regenerative Medicine: From Molecular Embryology to Tissue Engineering [Internet]. Totowa, NJ: Humana Press; 2011 [cité 8 oct 2025]. (Stem Cell Biology and Regenerative Medicine). Disponible sur: <https://link.springer.com/10.1007/978-1-60761-860-7>
3. Sampogna G, Guraya SY, Forgione A. Regenerative medicine: Historical roots and potential strategies in modern medicine. *J Microsc Ultrastruct*. 2015;3(3):101-7.
4. Appasani K, Appasani RK, éditeurs. Stem Cells & Regenerative Medicine: From Molecular Embryology to Tissue Engineering [Internet]. Totowa, NJ: Humana Press; 2011 [cité 30 déc 2024]. (Stem Cell Biology and Regenerative Medicine). Disponible sur: <https://link.springer.com/10.1007/978-1-60761-860-7>
5. Cellules souches.pdf [Internet]. [cité 27 juin 2024]. Disponible sur: https://facmed-univ-oran.dz/ressources/fichiers_produits/fichier_produit_2064.pdf
6. Kolios G, Moodley Y. Introduction to Stem Cells and Regenerative Medicine. *Respiration*. 2013;85(1):3-10.
7. Lectures on General Pathology | work by Cohnheim | Britannica [Internet]. [cité 24 sept 2025]. Disponible sur: <https://www.britannica.com/topic/Lectures-on-General-Pathology>
8. Hernigou P. Bone transplantation and tissue engineering, part IV. Mesenchymal stem cells: history in orthopedic surgery from Cohnheim and Goujon to the Nobel Prize of Yamanaka. *Int Orthop*. avr 2015;39(4):807-17.
9. Stefańska K, Bryl R, Moncrieff L, Pinto N, Shibli JA, Dyszkiewicz-Konwińska M. Mesenchymal stem cells – a historical overview. *Med J Cell Biol*. 1 juin 2020;8(2):83-7.
10. Tavassoli M, Crosby WH. Transplantation of Marrow to Extramedullary Sites. *Science*. 5 juill 1968;161(3836):54-6.
11. Afanasyev BV, Elstner EE, Zander AR. A. J. Friedenstein, founder of the mesenchymal stem cell concept.
12. Ayna M, Gülses A, Wiltfang J, Açıl Y. Mesenchymal Stem Cells for Optimizing Bone Volume at the Dental Implant Recipient Site. In: Pham PV, éditeur. *Mesenchymal Stem Cells - Isolation, Characterization and Applications* [Internet]. InTech; 2017 [cité 24 sept 2025]. Disponible sur: <http://www.intechopen.com/books/mesenchymal-stem-cells-isolation-characterization-and-applications/mesenchymal-stem-cells-for-optimizing-bone-volume-at-the-dental-implant-recipient-site>
13. Bartholomew A, Sturgeon C, Siatskas M, Ferrer K, McIntosh K, Patil S, et al. Mesenchymal stem cells suppress lymphocyte proliferation in vitro and prolong skin graft survival in vivo. *Exp Hematol*. 1 janv 2002;30(1):42-8.
14. Dominici M, Blanc KL, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini FC, Krause DS, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*. 1 janv 2006;8(4):315-7.
15. Tavakoli S, Ghaderi Jafarbeigloo HR, Shariati A, Jahangiryan A, Jadidi F, Jadidi Kouhbanani MA, et al. Mesenchymal stromal cells; a new horizon in regenerative medicine. *J Cell Physiol*. déc 2020;235(12):9185-210.
16. Roux S, Leotot J, Chevallier N, Bierling P, Rouard H. Cellules stromales mésenchymateuses : propriétés biologiques et perspectives thérapeutiques. *Transfus Clin Biol*. févr 2011;18(1):1-12.

17. Mastrolia I, Foppiani EM, Murgia A, Candini O, Samarelli AV, Grisendi G, et al. Challenges in Clinical Development of Mesenchymal Stromal/Stem Cells: Concise Review. *Stem Cells Transl Med.* 1 nov 2019;8(11):1135-48.
18. Costa LA, Eiro N, Fraile M, Gonzalez LO, Saá J, Garcia-Portabella P, et al. Functional heterogeneity of mesenchymal stem cells from natural niches to culture conditions: implications for further clinical uses. *Cell Mol Life Sci CMLS.* 22 juill 2020;78(2):447-67.
19. Yun Cheng H. The Impact of Mesenchymal Stem Cell Source on Proliferation, Differentiation, Immunomodulation and Therapeutic Efficacy. *J Stem Cell Res Ther* [Internet]. 2014 [cité 25 sept 2025];04(10). Disponible sur: <https://www.omicsonline.org/open-access/the-impact-of-mesenchymal-stem-cell-source-on-proliferation-differentiation-immunomodulation-and-therapeutic-efficacy-2157-7633.1000237.php?aid=33199>
20. Teoh PL, Mohd Akhir H, Abdul Ajak W, Hiew VV. Human Mesenchymal Stromal Cells Derived from Perinatal Tissues: Sources, Characteristics and Isolation Methods. *Malays J Med Sci MJMS.* avr 2023;30(2):55-68.
21. Ullah M, Liu DD, Thakor AS. Mesenchymal Stromal Cell Homing: Mechanisms and Strategies for Improvement. *iScience.* 9 mai 2019;15:421-38.
22. Naji A, Eitoku M, Favier B, Deschaseaux F, Rouas-Freiss N, Suganuma N. Biological functions of mesenchymal stem cells and clinical implications. *Cell Mol Life Sci CMLS.* 4 mai 2019;76(17):3323-48.
23. Fan XL, Zhang Y, Li X, Fu QL. Mechanisms underlying the protective effects of mesenchymal stem cell-based therapy. *Cell Mol Life Sci CMLS.* 21 janv 2020;77(14):2771-94.
24. Gnecci M, éditeur. *Mesenchymal Stem Cells: Methods and Protocols* [Internet]. New York, NY: Springer New York; 2016 [cité 26 sept 2024]. (Methods in Molecular Biology; vol. 1416). Disponible sur: <http://link.springer.com/10.1007/978-1-4939-3584-0>
25. Andrzejewska A, Lukomska B, Janowski M. Concise Review: Mesenchymal Stem Cells: From Roots to Boost. *STEM CELLS.* 2019;37(7):855-64.
26. Wu X, Jiang J, Gu Z, Zhang J, Chen Y, Liu X. Mesenchymal stromal cell therapies: immunomodulatory properties and clinical progress. *Stem Cell Res Ther.* déc 2020;11(1):345.
27. Eiro N, Fraile M, González-Jubete A, González LO, Vizoso FJ. Mesenchymal (Stem) Stromal Cells Based as New Therapeutic Alternative in Inflammatory Bowel Disease: Basic Mechanisms, Experimental and Clinical Evidence, and Challenges. *Int J Mol Sci.* 10 août 2022;23(16):8905.
28. Stavely R, Nurgali K. The emerging antioxidant paradigm of mesenchymal stem cell therapy. *Stem Cells Transl Med.* 1 sept 2020;9(9):985-1006.
29. Dictionnaire médical de l'Académie de Médecine [Internet]. [cité 8 janv 2025]. Disponible sur: <https://www.academie-medecine.fr/le-dictionnaire/index.php?q=fibrose>
30. Rockel JS, Rabani R, Viswanathan S. Anti-fibrotic mechanisms of exogenously-expanded mesenchymal stromal cells for fibrotic diseases. *Semin Cell Dev Biol.* mai 2020;101:87-103.
31. Taherian M, Bayati P, Mojtabavi N. Stem cell-based therapy for fibrotic diseases: mechanisms and pathways. *Stem Cell Res Ther.* 18 juin 2024;15(1):170.
32. Usunier B, Benderitter M, Tamarat R, Chapel A. Management of Fibrosis: The Mesenchymal Stromal Cells Breakthrough. *Stem Cells Int.* 2014;2014:1-26.
33. Shaw TD, Krasnodembskaya AD, Schroeder GN, Zumla A, Maeurer M, O'Kane CM. Mesenchymal Stromal Cells: an Antimicrobial and Host-Directed Therapy for Complex Infectious Diseases. *Clin Microbiol Rev.* 34(4):e00064-21.
34. Fu Y, Karbaat L, Wu L, Leijten J, Both SK, Karperien M. Trophic Effects of Mesenchymal Stem Cells in Tissue Regeneration. *Tissue Eng Part B Rev.* déc 2017;23(6):515-28.

35. Alvites R, Branquinho M, Sousa AC, Lopes B, Sousa P, Maurício AC. Mesenchymal Stem/Stromal Cells and Their Paracrine Activity—Immunomodulation Mechanisms and How to Influence the Therapeutic Potential. *Pharmaceutics*. 9 févr 2022;14(2):381.
36. Yuan YG, Wang JL, Zhang YX, Li L, Reza AMMT, Gurunathan S. Biogenesis, Composition and Potential Therapeutic Applications of Mesenchymal Stem Cells Derived Exosomes in Various Diseases. *Int J Nanomedicine*. 14 juin 2023;18:3177-210.
37. Velarde F, Ezquerro S, Delbruyere X, Caicedo A, Hidalgo Y, Khoury M. Mesenchymal stem cell-mediated transfer of mitochondria: mechanisms and functional impact. *Cell Mol Life Sci CMLS*. 5 mars 2022;79(3):177.
38. Fan XL, Zhang Y, Li X, Fu QL. Mechanisms underlying the protective effects of mesenchymal stem cell-based therapy. *Cell Mol Life Sci CMLS*. 21 janv 2020;77(14):2771-94.
39. Paliwal S, Chaudhuri R, Agrawal A, Mohanty S. Regenerative abilities of mesenchymal stem cells through mitochondrial transfer. *J Biomed Sci*. 30 mars 2018;25:31.
40. Guo X, Can C, Liu W, Wei Y, Yang X, Liu J, et al. Mitochondrial transfer in hematological malignancies. *Biomark Res*. 5 oct 2023;11(1):89.
41. Zhang L, Liu Q, Hu H, Zhao L, Zhu K. Progress in mesenchymal stem cell mitochondria transfer for the repair of tissue injury and treatment of disease. *Biomed Pharmacother*. sept 2022;153:113482.
42. Lu D, Jiao X, Jiang W, Yang L, Gong Q, Wang X, et al. Mesenchymal stem cells influence monocyte/macrophage phenotype: Regulatory mode and potential clinical applications. *Biomed Pharmacother*. sept 2023;165:115042.
43. Müller L, Tunger A, Wobus M, von Bonin M, Towers R, Bornhäuser M, et al. Immunomodulatory Properties of Mesenchymal Stromal Cells: An Update. *Front Cell Dev Biol* [Internet]. 9 févr 2021 [cité 31 oct 2024];9. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/journals/cell-and-developmental-biology/articles/10.3389/fcell.2021.637725/full>
44. Lu D, Xu Y, Liu Q, Zhang Q. Mesenchymal Stem Cell-Macrophage Crosstalk and Maintenance of Inflammatory Microenvironment Homeostasis. *Front Cell Dev Biol* [Internet]. 25 juin 2021 [cité 31 oct 2024];9. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/journals/cell-and-developmental-biology/articles/10.3389/fcell.2021.681171/full>
45. Galipeau J. Macrophages at the Nexus of Mesenchymal Stromal Cell Potency: The Emerging Role of Chemokine Cooperativity. *Stem Cells*. 1 sept 2021;39(9):1145-54.
46. Breton G. Origine et développement des cellules dendritiques humaines. *médecine/sciences*. 1 août 2015;31(8-9):725-7.
47. Wang M, Yuan Q, Xie L. Mesenchymal Stem Cell-Based Immunomodulation: Properties and Clinical Application. *Stem Cells Int*. 14 juin 2018;2018:3057624.
48. Zhang Y, Ge X hui, Guo XJ, Guan S bin, Li X ming, Gu W, et al. Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Inhibit the Function of Dendritic Cells by Secreting Galectin-1. *BioMed Res Int*. 2017;2017:3248605.
49. Zhao Q, Ren H, Han Z. Mesenchymal stem cells: Immunomodulatory capability and clinical potential in immune diseases. *J Cell Immunother*. mars 2016;2(1):3-20.
50. Abbasi B, Shamsasenjan K, Ahmadi M, Beheshti SA, Saleh M. Mesenchymal stem cells and natural killer cells interaction mechanisms and potential clinical applications. *Stem Cell Res Ther*. 7 mars 2022;13(1):97.
51. Huang Y, Wu Q, Tam PKH. Immunomodulatory Mechanisms of Mesenchymal Stem Cells and Their Potential Clinical Applications. *Int J Mol Sci*. 2 sept 2022;23(17):10023.
52. Liu J, Liu Q, Chen X. The Immunomodulatory Effects of Mesenchymal Stem Cells on Regulatory B Cells. *Front Immunol*. 14 août 2020;11:1843.

53. Shi Y, Wang Y, Li Q, Liu K, Hou J, Shao C, et al. Immunoregulatory mechanisms of mesenchymal stem and stromal cells in inflammatory diseases. *Nat Rev Nephrol*. août 2018;14(8):493-507.
54. Ungerer C, Quade-Lyssy P, Radeke HH, Henschler R, Königs C, Köhl U, et al. Galectin-9 Is a Suppressor of T and B Cells and Predicts the Immune Modulatory Potential of Mesenchymal Stromal Cell Preparations. *Stem Cells Dev*. 1 oct 2013;23(7):755.
55. Duffy MM, Ritter T, Ceredig R, Griffin MD. Mesenchymal stem cell effects on T-cell effector pathways. *Stem Cell Res Ther*. août 2011;2(4):34.
56. Hu H, Li H, Li R, Liu P, Liu H. Re-establishing immune tolerance in multiple sclerosis: focusing on novel mechanisms of mesenchymal stem cell regulation of Th17/Treg balance. *J Transl Med*. 15 juill 2024;22:663.
57. Yang C, Sun J, Tian Y, Li H, Zhang L, Yang J, et al. Immunomodulatory Effect of MSCs and MSCs-Derived Extracellular Vesicles in Systemic Lupus Erythematosus. *Front Immunol*. 16 sept 2021;12:714832.
58. Luz-Crawford P, Hernandez J, Djouad F, Luque-Campos N, Caicedo A, Carrère-Kremer S, et al. Mesenchymal stem cell repression of Th17 cells is triggered by mitochondrial transfer. *Stem Cell Res Ther*. 1 août 2019;10:232.
59. Shen M, Zhou L, Fan X, Wu R, Liu S, Deng Q, et al. Metabolic Reprogramming of CD4+ T Cells by Mesenchymal Stem Cell-Derived Extracellular Vesicles Attenuates Autoimmune Hepatitis Through Mitochondrial Protein Transfer. *Int J Nanomedicine*. 23 sept 2024;19:9799-819.
60. EUR-Lex - 02007R1394-20190726 - EN - EUR-Lex [Internet]. [cité 4 avr 2025]. Disponible sur: <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2007/1394/2019-07-26/eng>
61. Définitions | AFMPS [Internet]. [cité 4 avr 2025]. Disponible sur: <https://www.afmps.be/fr/definitions>
62. ANSM [Internet]. [cité 4 avr 2025]. Nos missions - Les produits biologiques. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/qui-sommes-nous/notre-perimetre/les-produits-biologiques/p/les-produits-biologiques-1>
63. Strimvelis - an overview | ScienceDirect Topics [Internet]. [cité 12 oct 2025]. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/topics/pharmacology-toxicology-and-pharmaceutical-science/strimvelis>
64. ANSM [Internet]. [cité 12 oct 2025]. Liste des spécialités en accès dérogatoire - Obnitix. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/tableau-acces-derogatoire/obnitix>
65. holoclar_hcp_fr.pdf [Internet]. [cité 12 oct 2025]. Disponible sur: https://fagg-afmps.be/sites/default/files/content/RMA/H/Holoclar/holoclar_hcp_fr.pdf
66. https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2013/20130627126166/anx_126166_fr.pdf [Internet]. [cité 12 oct 2025]. Disponible sur: https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2013/20130627126166/anx_126166_fr.pdf
67. Marketing Authorisation Application file for ATMPs | EuroGCT [Internet]. [cité 4 avr 2025]. Disponible sur: <https://www.eurogct.org/research-pathways/commercialisation/market-access-atmps/standard-marketing-authorisation-pathway-0>
68. Voie d'"exemption hospitalière" spécifique aux ATMP | EuroGCT [Internet]. [cité 4 avr 2025]. Disponible sur: <https://www.eurogct.org/research-pathways/therapy-classification/atmps-applicable-regulatory-pathways/atmps-specific>
69. Article 2c du règlement (CE) n°1394/2007. Disponible sur: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32007R1394>
70. Chabannon C, Sabatier F, Rial-Sebbag E, Calmels B, Veran J, Magalon G, et al. Les unités de thérapie cellulaire à l'épreuve de la réglementation sur les médicaments de thérapie innovante. *médecine/sciences*. mai 2014;30(5):576-83.
71. 2017_11_22_guidelines_gmp_for_atmps-2.pdf.

72. Strecanska M, Sekelova T, Smolinska V, Kuniakova M, Nicodemou A. Automated Manufacturing Processes and Platforms for Large-scale Production of Clinical-grade Mesenchymal Stem/ Stromal Cells. *Stem Cell Rev Rep*. 1 févr 2025;21(2):372-89.
73. Torre ML, Lucarelli E, Guidi S, Ferrari M, Alessandri G, De Girolamo L, et al. Ex Vivo Expanded Mesenchymal Stromal Cell Minimal Quality Requirements for Clinical Application. *Stem Cells Dev*. 15 mars 2015;24(6):677-85.
74. Sanz-Nogués C, O'Brien T. Current good manufacturing practice considerations for mesenchymal stromal cells as therapeutic agents. *Biomater Biosyst*. 5 mai 2021;2:100018.
75. Sensebé L, Bourin P. Cellules souches mésenchymateuses: Production à usage clinique et contraintes sécuritaires. *médecine/sciences*. mars 2011;27(3):297-302.
76. Zhao RC, éditeur. Biology of MSCs Isolated from Different Tissues. In: *Essentials of Mesenchymal Stem Cell Biology and Its Clinical Translation* [Internet]. Dordrecht: Springer Netherlands; 2013 [cité 12 avr 2025]. Disponible sur: <https://link.springer.com/10.1007/978-94-007-6716-4>
77. Hunter CW, Davis TT, DePalma MJ, éditeurs. Chapter 8 : Adult Mesenchymal Stem Cell Collection and Banking. In: *Regenerative Medicine: A Complete Guide for Musculoskeletal and Spine Disorders* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2023 [cité 9 avr 2025]. Disponible sur: <https://link.springer.com/10.1007/978-3-030-75517-1>
78. Gneccchi M, éditeur. Chapter 18 : Isolation and Manufacture of Clinical-Grade Bone Marrow-Derived Human Mesenchymal Stromal Cells. In: *Mesenchymal stem cells: methods and protocols*. Second edition. New York: Humana Press; 2016. (Methods in molecular biology).
79. Ferrin I, Belouqui I, Zabaleta L, Salcedo JM, Trigueros C, Martin AG. Isolation, Culture, and Expansion of Mesenchymal Stem Cells. In: Crook JM, Ludwig TE, éditeurs. *Stem Cell Banking* [Internet]. New York, NY: Springer New York; 2017 [cité 12 avr 2025]. p. 177-90. (Methods in Molecular Biology; vol. 1590). Disponible sur: http://link.springer.com/10.1007/978-1-4939-6921-0_13
80. Sharma RR, Pollock K, Hubel A, McKenna D. Mesenchymal stem or stromal cells: a review of clinical applications and manufacturing practices. *Transfusion (Paris)*. mai 2014;54(5):1418-37.
81. Gneccchi M, éditeur. Chapter 15 : Isolation, Expansion, and Immortalization of Human Adipose-Derived Mesenchymal Stromal Cells from Biopsies and Liposuction Specimens. In: *Mesenchymal stem cells: methods and protocols*. Second edition. New York: Humana Press; 2016. (Methods in molecular biology).
82. Ferrin I, Belouqui I, Zabaleta L, Salcedo JM, Trigueros C, Martin AG. Isolation, Culture, and Expansion of Mesenchymal Stem Cells. In: Crook JM, Ludwig TE, éditeurs. *Stem Cell Banking* [Internet]. New York, NY: Springer New York; 2017 [cité 10 avr 2025]. p. 177-90. (Methods in Molecular Biology; vol. 1590). Disponible sur: http://link.springer.com/10.1007/978-1-4939-6921-0_13
83. Aydoğdu N, Öztel ON, Karaöz E. Isolation, Culture, Cryopreservation, and Preparation of Umbilical Cord-Derived Mesenchymal Stem Cells as a Final Cellular Product Under Good Manufacturing Practices–Compliant Conditions. In: Turksen K, éditeur. *Stem Cells and Good Manufacturing Practices* [Internet]. New York, NY: Springer US; 2020 [cité 10 avr 2025]. p. 73-84. (Methods in Molecular Biology; vol. 2286). Disponible sur: http://link.springer.com/10.1007/978-1-4939-6921-0_13
84. Gneccchi M, éditeur. Chapter 14 : Isolation, Culture, and Characterization of Human Umbilical Cord Blood-Derived Mesenchymal Stromal Cells. In: *Mesenchymal stem cells: methods and protocols*. Second edition. New York: Humana Press; 2016. (Methods in molecular biology).
85. Fleischhammer TM, Kirsch M, Abyzova M, Dienemann S, Pepelanova I, Lavrentieva A. Essential Aspects of Mesenchymal Stem Cell Manufacturing. In: Pörtner R, éditeur.

- Biopharmaceutical Manufacturing [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2023 [cité 9 avr 2025]. p. 339-78. (Cell Engineering; vol. 11). Disponible sur: https://link.springer.com/10.1007/978-3-031-45669-5_12
86. Gnecci M, éditeur. Mesenchymal stem cells: methods and protocols. Second edition. New York: Humana Press; 2016. 570 p. (Methods in molecular biology).
 87. Barekzai J, Petry F, Zitzmann J, Czermak P, Salzig D, Barekzai J, et al. Bioprocess Development for Human Mesenchymal Stem Cell Therapy Products. In: New Advances on Fermentation Processes [Internet]. IntechOpen; 2019 [cité 26 avr 2024]. Disponible sur: <https://www.intechopen.com/chapters/69881>
 88. Yin JQ, Zhu J, Ankrum JA. Manufacturing of primed mesenchymal stromal cells for therapy. *Nat Biomed Eng.* 28 janv 2019;3(2):90-104.
 89. Fernández-Santos ME, Garcia-Arranz M, Andreu EJ, García-Hernández AM, López-Parra M, Villarón E, et al. Optimization of Mesenchymal Stromal Cell (MSC) Manufacturing Processes for a Better Therapeutic Outcome. *Front Immunol.* 9 juin 2022;13:918565.
 90. Sensebé L, Gadelorge M, Fleury-Cappellesso S. Production of mesenchymal stromal/stem cells according to good manufacturing practices: a review. *Stem Cell Res Ther.* 7 juin 2013;4(3):66.
 91. Serra M, Cunha B, Peixoto C, Gomes-Alves P, Alves PM. Advancing manufacture of human mesenchymal stem cells therapies: technological challenges in cell bioprocessing and characterization. *Curr Opin Chem Eng.* déc 2018;22:226-35.
 92. Abraham E. Chapter 6 - Bioreactor for Scale-Up: Process Control.
 93. Robb KP, Fitzgerald JC, Barry F, Viswanathan S. Mesenchymal stromal cell therapy: progress in manufacturing and assessments of potency. *Cytotherapy.* mars 2019;21(3):289-306.
 94. Linkova DD, Rubtsova YP, Egorikhina MN. Cryostorage of Mesenchymal Stem Cells and Biomedical Cell-Based Products. *Cells.* 29 août 2022;11(17):2691.
 95. Wang J, Li R. Effects, methods and limits of the cryopreservation on mesenchymal stem cells. *Stem Cell Res Ther.* 29 sept 2024;15:337.
 96. Kean TJ, Lin P, Caplan AI, Dennis JE. MSCs: Delivery Routes and Engraftment, Cell-Targeting Strategies, and Immune Modulation. *Stem Cells Int.* 1 janv 2013;2013(1):732742.
 97. Caplan H, Olson SD, Kumar A, George M, Prabhakara KS, Wenzel P, et al. Mesenchymal Stromal Cell Therapeutic Delivery: Translational Challenges to Clinical Application. *Front Immunol.* 31 juill 2019;10:1645.
 98. Ever Supreme Bio Technology Co., Ltd. A Phase I, Open Label Study to Evaluate the Safety and to Explore the Efficacy of Allogeneic Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells in Patients with Acute Ischemic Stroke [Internet]. [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov/study/NCT04434768); 2024 sept [cité 2 avr 2025]. Report No.: NCT04434768. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT04434768>
 99. Jovic D, Yu Y, Wang D, Wang K, Li H, Xu F, et al. A Brief Overview of Global Trends in MSC-Based Cell Therapy. *Stem Cell Rev Rep.* juin 2022;18(5):1525-45.
 100. Guadix JA, López-Beas J, Clares B, Soriano-Ruiz JL, Zugaza JL, Gálvez-Martín P. Principal Criteria for Evaluating the Quality, Safety and Efficacy of hMSC-Based Products in Clinical Practice: Current Approaches and Challenges. *Pharmaceutics.* 24 oct 2019;11(11):552.
 101. Gnecci M, éditeur. Chapter 19 : Quality Control Assays for Clinical-Grade Human Mesenchymal Stromal Cells: Methods for ATMP Release. In: Mesenchymal stem cells: methods and protocols. Second edition. New York: Humana Press; 2016. (Methods in molecular biology).
 102. De Wolf C, Van De Bovenkamp M, Hoefnagel M. Regulatory perspective on in vitro potency assays for human mesenchymal stromal cells used in immunotherapy. *Cytotherapy.* juill 2017;19(7):784-97.

103. Bieback K, Kuçi S, Schäfer R. Production and quality testing of multipotent mesenchymal stromal cell therapeutics for clinical use. *Transfusion* (Paris). juin 2019;59(6):2164-73.
104. Van Pham P, Vu NB. Production of Clinical-Grade Mesenchymal Stem Cells. In: Pham PV, éditeur. *Stem Cell Processing* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2016 [cité 2 mai 2025]. p. 107-29. (Stem Cells in Clinical Applications). Disponible sur: http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-40073-0_6
105. Maldonado VV, Patel NH, Smith EE, Barnes CL, Gustafson MP, Rao RR, et al. Clinical utility of mesenchymal stem/stromal cells in regenerative medicine and cellular therapy. *J Biol Eng*. 11 juill 2023;17(1):44.
106. Lancesseur, Charles, Coiteux, Valérie, Yakoub-Agha, Ibrahim. Indications de l'allogreffe. In: *Allogreffe de CSH Manuel de pratique*. Le Grand Métier; (LGM Sciences).
107. A-Barzin_2022_77_5-6_0.pdf [Internet]. [cité 6 mai 2025]. Disponible sur: https://rmlg.uliege.be/download/3628/2933/A-Barzin_2022_77_5-6_0.pdf
108. Boelens JJ, Bonifazi F, Gjørde LK, Michonneau D, Ruggeri A, Saavedra L, et al. GVHD Prophylaxis. In: Sureda A, Corbacioglu S, Greco R, Kröger N, Carreras E, éditeurs. *The EBMT Handbook: Hematopoietic Cell Transplantation and Cellular Therapies* [Internet]. 8th éd. Cham (CH): Springer; 2024 [cité 3 mai 2025]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK608285/>
109. Penack O, Marchetti M, Ruutu T, Aljurf M, Bacigalupo A, Bonifazi F, et al. Prophylaxis and management of graft versus host disease after stem-cell transplantation for haematological malignancies: updated consensus recommendations of the European Society for Blood and Marrow Transplantation. *Lancet Haematol*. févr 2020;7(2):e157-67.
110. Dherbecourt C. Mise à disposition d'un médicament de thérapie innovante sur le marché français [Mémoire]. Lille;
111. Ghimire S, Weber D, Mavin E, Wang X nong, Dickinson AM, Holler E. Pathophysiology of GvHD and Other HSCT-Related Major Complications. *Front Immunol* [Internet]. 20 mars 2017 [cité 13 oct 2025];8. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2017.00079/full>
112. Squillaro T, Peluso G, Galderisi U. Clinical Trials with Mesenchymal Stem Cells: An Update. *Cell Transplant*. mai 2016;25(5):829-48.
113. Le Blanc et al. - 2004 - Treatment of severe acute graft-versus-host diseases.pdf.
114. Le Blanc K, Frassoni F, Ball L, Locatelli F, Roelofs H, Lewis I, et al. Mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant, severe, acute graft-versus-host disease: a phase II study. *The Lancet*. mai 2008;371(9624):1579-86.
115. Gneocchi M, éditeur. Chapter 1 : Mesenchymal Stromal Cells in Hematopoietic Stem Cell Transplantation. In: *Mesenchymal Stem Cells: Methods and Protocols* [Internet]. New York, NY: Springer New York; 2016 [cité 13 janv 2025]. (Methods in Molecular Biology; vol. 1416). Disponible sur: <http://link.springer.com/10.1007/978-1-4939-3584-0>
116. Kadri N, Amu S, Iacobaeus E, Boberg E, Le Blanc K. Current perspectives on mesenchymal stromal cell therapy for graft versus host disease. *Cell Mol Immunol*. juin 2023;20(6):613-25.
117. Hu SW, Cotliar J. Acute graft-versus-host disease following hematopoietic stem-cell transplantation: Acute GVHD following HSCT. *Dermatol Ther*. juill 2011;24(4):411-23.
118. Commissioner O of the. FDA. FDA; 2024 [cité 8 juin 2025]. FDA Approves First Mesenchymal Stromal Cell Therapy to Treat Steroid-refractory Acute Graft-versus-host Disease. Disponible sur: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-first-mesenchymal-stromal-cell-therapy-treat-steroid-refractory-acute-graft-versus-host>

119. Rahimi Darehbagh R, Seyedoshohadaei SA, Ramezani R, Rezaei N. Stem cell therapies for neurological disorders: current progress, challenges, and future perspectives. *Eur J Med Res.* 25 juill 2024;29(1):386.
120. Steinmetz JD, Seeher KM, Schiess N, Nichols E, Cao B, Servili C, et al. Global, regional, and national burden of disorders affecting the nervous system, 1990–2021: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2021. *Lancet Neurol.* avr 2024;23(4):344-81.
121. Badyra B, Sułkowski M, Milczarek O, Majka M. Mesenchymal stem cells as a multimodal treatment for nervous system diseases. *Stem Cells Transl Med.* 1 oct 2020;9(10):1174-89.
122. Rahbaran M, Zekiy AO, Bahramali M, Jahangir M, Mardasi M, Sakhaei D, et al. Therapeutic utility of mesenchymal stromal cell (MSC)-based approaches in chronic neurodegeneration: a glimpse into underlying mechanisms, current status, and prospects. *Cell Mol Biol Lett.* 16 juill 2022;27(1):56.
123. Zhang X, Kuang Q, Xu J, Lin Q, Chi H, Yu D. MSC-Based Cell Therapy in Neurological Diseases: A Concise Review of the Literature in Pre-Clinical and Clinical Research. *Biomolecules.* 30 avr 2024;14(5):538.
124. Yari H, Mikhailova MV, Mardasi M, Jafarzadehgharehziaaddin M, Shahrokh S, Thangavelu L, et al. Emerging role of mesenchymal stromal cells (MSCs)-derived exosome in neurodegeneration-associated conditions: a groundbreaking cell-free approach. *Stem Cell Res Ther.* 19 août 2022;13(1):423.
125. Biglari N, Mehdizadeh A, Vafaei Mastanabad M, Gharaeikhezri MH, Gol Mohammad Pour Afrakoti L, Pourbala H, et al. Application of mesenchymal stem cells (MSCs) in neurodegenerative disorders: History, findings, and prospective challenges. *Pathol - Res Pract.* juill 2023;247:154541.
126. Andrzejewska A, Dabrowska S, Lukomska B, Janowski M. Mesenchymal Stem Cells for Neurological Disorders. *Adv Sci.* 24 févr 2021;8(7):2002944.
127. Bonab MM, Yazdanbakhsh S, Lotfi J, Alimoghaddom K, Talebian F, Hooshmand F, et al. Does Mesenchymal Stem Cell Therapy Help Multiple Sclerosis Patients? Report of a Pilot Study. 2007;4(1).
128. Karussis D, Karageorgiou C, Vaknin-Dembinsky A, Gowda-Kurkalli B, Gomori JM, Kassis I, et al. Safety and Immunological Effects of Mesenchymal Stem Cell Transplantation in Patients With Multiple Sclerosis and Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Arch Neurol.* oct 2010;67(10):1187-94.
129. Connick P, Kolappan M, Crawley C, Webber DJ, Patani R, Michell AW, et al. Autologous mesenchymal stem cells for the treatment of secondary progressive multiple sclerosis: an open-label phase 2a proof-of-concept study. *Lancet Neurol.* févr 2012;11(2):150-6.
130. Uccelli A, Laroni A, Ali R, Battaglia MA, Blinkenberg M, Brundin L, et al. Safety, tolerability, and activity of mesenchymal stem cells versus placebo in multiple sclerosis (MESEMS): a phase 2, randomised, double-blind crossover trial. *Lancet Neurol.* nov 2021;20(11):917-29.
131. Chap-8-mal-osteo-articulaires-1.pdf [Internet]. [cité 20 juin 2025]. Disponible sur: <https://www.orsbfc.org/wp-content/uploads/2022/04/Chap-8-mal-osteo-articulaires-1.pdf>
132. Affections ostéo-articulaires et musculaires [Internet]. [cité 20 juin 2025]. Disponible sur: <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/musculoskeletal-conditions#:~:text=Environ%201%2C71%20milliard%20de,de%20handicap%20dans%20160%20pays.>
133. Arthrose · Inserm, La science pour la santé [Internet]. Inserm. [cité 20 juin 2025]. Disponible sur: <https://www.inserm.fr/dossier/arthrose/>

134. Rannou F, Sellam J, Berenbaum F. Physiopathologie de l'arthrose : conceptions actuelles. *Presse Médicale*. nov 2010;39(11):1159-63.
135. Maumus M, Pers YM, Ruiz M, Jorgensen C, Noël D. Cellules souches mésenchymateuses et médecine régénératrice: Quel avenir pour l'arthrose ? *médecine/sciences*. déc 2018;34(12):1092-9.
136. Culture-expanded mesenchymal stromal cell therapy: does it work in knee osteoarthritis? A pathway to clinical success | *Cellular & Molecular Immunology* [Internet]. [cité 11 juin 2025]. Disponible sur: <https://www.nature.com/articles/s41423-023-01020-1#Sec10>
137. Orozco L, Munar A, Soler R, Alberca M, Soler F, Huguet M, et al. Treatment of Knee Osteoarthritis With Autologous Mesenchymal Stem Cells: A Pilot Study. *Transplantation*. 27 juin 2013;95(12):1535.
138. Vega A, Martín-Ferrero MA, Del Canto F, Alberca M, García V, Munar A, et al. Treatment of Knee Osteoarthritis With Allogeneic Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells: A Randomized Controlled Trial. *Transplantation*. août 2015;99(8):1681-90.
139. Lamo-Espinosa JM, Mora G, Blanco JF, Granero-Moltó F, Núñez-Córdoba JM, López-Elío S, et al. Intra-articular injection of two different doses of autologous bone marrow mesenchymal stem cells versus hyaluronic acid in the treatment of knee osteoarthritis: long-term follow up of a multicenter randomized controlled clinical trial (phase I/II). *J Transl Med*. 31 juill 2018;16:213.
140. Lamo-Espinosa JM, Mora G, Blanco JF, Granero-Moltó F, Nuñez-Córdoba JM, Sánchez-Echenique C, et al. Intra-articular injection of two different doses of autologous bone marrow mesenchymal stem cells versus hyaluronic acid in the treatment of knee osteoarthritis: multicenter randomized controlled clinical trial (phase I/II). *J Transl Med*. 26 août 2016;14(1):246.
141. Park Y, Ha C, Lee C, Yoon YC, Park Y. Cartilage Regeneration in Osteoarthritic Patients by a Composite of Allogeneic Umbilical Cord Blood-Derived Mesenchymal Stem Cells and Hyaluronate Hydrogel: Results from a Clinical Trial for Safety and Proof-of-Concept with 7 Years of Extended Follow-Up. *Stem Cells Transl Med*. févr 2017;6(2):613-21.
142. Thérapie par cellules stromales mésenchymateuses élargies par culture : fonctionne-t-elle dans l'arthrose du genou ? Une voie vers le succès clinique | *Immunologie cellulaire et moléculaire* [Internet]. [cité 11 juin 2025]. Disponible sur: <https://www.nature.com/articles/s41423-023-01020-1#Sec10>
143. Cartistem® Cord Blood-Derived Therapy for Knee Arthritis [Internet]. [cité 19 juin 2025]. Disponible sur: <https://parentsguidecordblood.org/en/news/cartistem-cord-blood-derived-therapy-knee-arthritis>
144. Maladies auto-immunes · Inserm, La science pour la santé [Internet]. Inserm. [cité 6 juill 2025]. Disponible sur: <https://www.inserm.fr/dossier/maladies-auto-immunes/>
145. Autoimmune diseases are on the rise- reports a new UK population-based study of 22m individuals – NIHR Imperial Biomedical Research Centre [Internet]. [cité 6 juill 2025]. Disponible sur: <https://imperialbrc.nihr.ac.uk/2023/05/10/autoimmune-diseases-are-on-the-rise-reports-a-new-uk-population-based-study-of-22m-individuals/>
146. Jasim SA, Yumashev AV, Abdelbasset WK, Margiana R, Markov A, Suksatan W, et al. Shining the light on clinical application of mesenchymal stem cell therapy in autoimmune diseases. *Stem Cell Res Ther*. 7 mars 2022;13(1):101.
147. Manuels MSD pour le grand public [Internet]. [cité 6 juill 2025]. Maladie de Crohn - Troubles digestifs. Disponible sur: <https://www.msdmanuals.com/fr/accueil/troubles-digestifs/maladies-inflammatoires-chroniques-de-l-intestin-mici/maladie-de-crohn>

148. Che Z, Ye Z, Zhang X, Lin B, Yang W, Liang Y, et al. Mesenchymal stem/stromal cells in the pathogenesis and regenerative therapy of inflammatory bowel diseases. *Front Immunol.* 4 août 2022;13:952071.
149. Zhao RC, éditeur. Mesenchymal Stromal Cell (MSC) Therapy for Crohn's Disease. In: *Essentials of Mesenchymal Stem Cell Biology and Its Clinical Translation* [Internet]. Dordrecht: Springer Netherlands; 2013 [cité 21 juill 2025]. Disponible sur: <https://link.springer.com/10.1007/978-94-007-6716-4>
150. Dalal J, Gandy K, Domen J. Role of mesenchymal stem cell therapy in Crohn's disease. *Pediatr Res.* avr 2012;71(2):445-51.
151. Wei S, Li M, Wang Q, Zhao Y, Du F, Chen Y, et al. Mesenchymal Stromal Cells: New Generation Treatment of Inflammatory Bowel Disease. *J Inflamm Res.* 22 mai 2024;17:3307-34.
152. Panés J, García-Olmo D, Assche GV, Colombel JF, Reinisch W, Baumgart DC, et al. Long-term Efficacy and Safety of Stem Cell Therapy (Cx601) for Complex Perianal Fistulas in Patients With Crohn's Disease. *Gastroenterology.* 1 avr 2018;154(5):1334-1342.e4.
153. President CH Founder & BioInformant. 2025 [cité 28 avr 2025]. China's NMPA Approves Country's First MSC-Based Cell Therapy, Ruibosheng. Disponible sur: <https://bioinformant.com/chinas-nmpa-approves-first-msc-therapy/>
154. Fernández-Garza LE, Barrera-Barrera SA, Barrera-Saldaña HA. Mesenchymal Stem Cell Therapies Approved by Regulatory Agencies around the World. *Pharmaceuticals.* 21 sept 2023;16(9):1334.
155. Holder M. List of Cell/Tissue/Gene Products with marketing authorization (MA) in Australia by TGA (Therapeutic Goods Administration) (updated June 2022).
156. Critical-Limb-Ischemia | Stempeutics [Internet]. [cité 28 avr 2025]. Disponible sur: <https://www.stempeutics.com/critical-limb-ischemia>
157. Celltech Pharmed – Regeneration For Every Generation [Internet]. [cité 28 avr 2025]. Disponible sur: <http://en.celltech.ir/>
158. VIDAL [Internet]. 2020 [cité 28 avr 2025]. Maladie de Crohn : ALOFISEL, médicament de thérapie cellulaire pour les fistules anales complexes et résistantes. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/actualites/25887-maladie-de-crohn-alofisel-medicament-de-therapie-cellulaire-pour-les-fistules-anales-complexes-et-resistantes.html>
159. ANSM [Internet]. [cité 28 avr 2025]. Information de sécurité - Alofisel (darvadstrocel) : retrait du. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/informations-de-securite/alofisel-darvadstrocel-retrait-du-marche-de-lunion-europeenne-en-raison-de-labsence-de-demonstration-dun-benefice-clinique-suffisant-justifiant-le-maintien-de-son-utilisation>
160. Ryoncil, the first FDA-approved mesenchymal stromal cell therapy [Internet]. [cité 28 avr 2025]. Disponible sur: <https://www.pharmaceutical-technology.com/analyst-comment/ryoncil-first-fda-approved-msc-therapy/>
161. Lu W, Allickson J. Mesenchymal stromal cell therapy: Progress to date and future outlook. *Mol Ther.* juin 2025;33(6):2679-88.
162. Zhou T, Yuan Z, Weng J, Pei D, Du X, He C, et al. Challenges and advances in clinical applications of mesenchymal stromal cells. *J Hematol Oncol* *J Hematol Oncol.* déc 2021;14(1):24.
163. Levy O, Kuai R, Siren EMJ, Bhare D, Milton Y, Nissar N, et al. Shattering barriers toward clinically meaningful MSC therapies. *Sci Adv.* 22 juill 2020;6(30):eaba6884.
164. Česnik AB, Švajger U. The issue of heterogeneity of MSC-based advanced therapy medicinal products—a review. *Front Cell Dev Biol.* 26 juill 2024;12:1400347.
165. Kuçi Z, Bönig H, Kreyenberg H, Bunos M, Jauch A, Janssen JWJG, et al. Mesenchymal stromal cells from pooled mononuclear cells of multiple bone marrow donors

- as rescue therapy in pediatric severe steroid-refractory graft-versus-host disease: a multicenter survey. *Haematologica*. 1 août 2016;101(8):985-94.
166. Robb KP, Galipeau J, Shi Y, Schuster M, Martin I, Viswanathan S. Failure to launch commercially-approved mesenchymal stromal cell therapies: what's the path forward? Proceedings of the International Society for Cell & Gene Therapy (ISCT) Annual Meeting Roundtable held in May 2023, Palais des Congrès de Paris, Organized by the ISCT MSC Scientific Committee. *Cytotherapy*. 1 mai 2024;26(5):413-7.
 167. Galipeau J, Krampera M, Leblanc K, Nolta JA, Phinney DG, Shi Y, et al. Mesenchymal stromal cell variables influencing clinical potency: the impact of viability, fitness, route of administration and host predisposition. *Cytotherapy*. mai 2021;23(5):368-72.
 168. Giacomini C, Granéli C, Hicks R, Dazzi F. The critical role of apoptosis in mesenchymal stromal cell therapeutics and implications in homeostasis and normal tissue repair. *Cell Mol Immunol*. juin 2023;20(6):570-82.
 169. Li J, Wu Z, Zhao L, Liu Y, Su Y, Gong X, et al. The heterogeneity of mesenchymal stem cells: an important issue to be addressed in cell therapy. *Stem Cell Res Ther*. 20 déc 2023;14(1):381.
 170. Wilson AJ, Brown N, Rand E, Genever PG. Attitudes Towards Standardization of Mesenchymal Stromal Cells—A Qualitative Exploration of Expert Views. *Stem Cells Transl Med*. 15 sept 2023;12(11):745-57.
 171. Wilson AJ, Rand E, Webster AJ, Genever PG. Characterisation of mesenchymal stromal cells in clinical trial reports: analysis of published descriptors. *Stem Cell Res Ther*. 22 juin 2021;12:360.
 172. Trigo CM, Rodrigues JS, Camões SP, Solá S, Miranda JP. Mesenchymal stem cell secretome for regenerative medicine: Where do we stand? *J Adv Res*. avr 2025;70:103-24.
 173. Galderisi U, Peluso G, Di Bernardo G. Clinical Trials Based on Mesenchymal Stromal Cells are Exponentially Increasing: Where are We in Recent Years? *Stem Cell Rev Rep*. 1 janv 2022;18(1):23-36.
 174. Noronha NDC, Mizukami A, Calíari-Oliveira C, Cominal JG, Rocha JLM, Covas DT, et al. Priming approaches to improve the efficacy of mesenchymal stromal cell-based therapies. *Stem Cell Res Ther*. déc 2019;10(1):131.
 175. Inc BCT. BrainStorm Receives FDA Clearance to Initiate Phase 3b Trial of NurOwn® for ALS [Internet]. [cité 20 août 2025]. Disponible sur: <https://www.prnewswire.com/il/news-releases/brainstorm-receives-fda-clearance-to-initiate-phase-3b-trial-of-nurown-for-als-302458733.html>
 176. Investors & Media - BrainStorm Cell Therapeutics [Internet]. [cité 27 août 2025]. BrainStorm Cell Therapeutics Announces Peer Reviewed Publication of Results from the NurOwn® Phase 2 Progressive MS Trial in Multiple Sclerosis Journal. Disponible sur: <https://ir.brainstorm-cell.com/2022-09-15-BrainStorm-Cell-Therapeutics-Announces-Peer-Reviewed-Publication-of-Results-from-the-NurOwn-R-Phase-2-Progressive-MS-Trial-in-Multiple-Sclerosis-Journal>
 177. The enhanced therapeutic potential of MSC with biomaterials application. In: *MESENCHYMAL STEM CELLS Biological Concepts, Current Advances, Opportunities and Challenges*. Elsevier; 2023. p. 101-13.
 178. Sandeep M. Nalluri, Michael J. Hill, Debanjan Sarkar. Control of Mesenchymal Stem Cells with Biomaterials. In: *Essentials of Mesenchymal Stem Cell Biology and Its Clinical Translation* [Internet]. Dordrecht: Springer Netherlands; 2013 [cité 8 oct 2024]. p. 139-59. Disponible sur: <https://link.springer.com/10.1007/978-94-007-6716-4>
 179. Keshavarz R, Olsen S, Almeida B. Using biomaterials to improve mesenchymal stem cell therapies for chronic, nonhealing wounds. *Bioeng Transl Med*. 2024;9(1):e10598.
 180. Damasceno PKF, de Santana TA, Santos GC, Orge ID, Silva DN, Albuquerque JF, et al. Genetic Engineering as a Strategy to Improve the Therapeutic Efficacy of Mesenchymal

- Stem/Stromal Cells in Regenerative Medicine. *Front Cell Dev Biol* [Internet]. 21 août 2020 [cité 27 août 2025];8. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/journals/cell-and-developmental-biology/articles/10.3389/fcell.2020.00737/full>
181. Matsuzaka Y, Yashiro R. Current Strategies and Therapeutic Applications of Mesenchymal Stem Cell-Based Drug Delivery. *Pharmaceuticals*. juin 2024;17(6):707.
 182. Davies A, Sage B, Kolluri K, Alrifai D, Graham R, Weil B, et al. TACTICAL: A phase I/II trial to assess the safety and efficacy of MSC-TRAIL in the treatment of metastatic lung adenocarcinoma. *J Clin Oncol*. 20 mai 2019;37(15_suppl):TPS9116-TPS9116.
 183. Chouaib B, Haack-Sørensen M, Chaubron F, Cuisinier F, Collart-Dutilleul PY. Towards the Standardization of Mesenchymal Stem Cell Secretome-Derived Product Manufacturing for Tissue Regeneration. *Int J Mol Sci*. 9 août 2023;24(16):12594.
 184. Trigo CM, Rodrigues JS, Camões SP, Solá S, Miranda JP. Mesenchymal stem cell secretome for regenerative medicine: Where do we stand? *J Adv Res*. avr 2025;70:103-24.
 185. Kavaldzhieva K, Mladenov N, Markova M, Belemezova K. Mesenchymal Stem Cell Secretome: Potential Applications in Human Infertility Caused by Hormonal Imbalance, External Damage, or Immune Factors. *Biomedicines*. mars 2025;13(3):586.
 186. Teixeira FG, Salgado AJ. Mesenchymal stem cells secretome: current trends and future challenges. *Neural Regen Res*. 16 sept 2019;15(1):75-7.

Université de Lille
UFR3S-Pharmacie
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
Année Universitaire 2024/2025

Nom : DHERBECOURT

Prénom : Chloé

Titre de la thèse : Applications thérapeutiques des cellules stromales
mésenchymateuses

Mots-clés : Cellules stromales mésenchymateuses (CSM), Thérapie cellulaire,
Médecine régénérative, Immunomodulation, Applications cliniques

Résumé :

Depuis leur découverte il y a plus d'un demi-siècle, les cellules stromales mésenchymateuses (CSM) se sont imposées comme l'une des thérapies cellulaires les plus étudiées dans le monde académique et dans l'industrie pharmaceutique, en raison de leur potentiel régénératif et de leurs propriétés paracrines et immunomodulatrices. Cette thèse propose une synthèse des connaissances actuelles sur les CSM, depuis leur biologie fondamentale jusqu'aux aspects techniques de leur production à leurs applications thérapeutiques. Les champs d'application, désormais étendus à de nombreuses indications, sont illustrés ici à travers quatre pathologies : la maladie du greffon contre l'hôte, la sclérose en plaques, l'arthrose et la maladie de Crohn. En outre, les défis associés à leur application clinique ainsi que les approches innovantes développées pour y répondre sont également discutés.

Ce travail bibliographique met en lumière à la fois le potentiel et la complexité des thérapies à base de CSM, dont l'avenir dépendra de la capacité de la communauté scientifique à surmonter les obstacles actuels afin de favoriser leur développement et leur mise sur le marché dans divers domaines de la médecine régénérative.

Membres du jury :

Président et Directeur, conseiller de thèse :

Monsieur CARNOY Christophe, Professeur des Universités – Immunologie –
Département de pharmacie, Université de Lille

Assesseur(s) :

Madame DEMARET Julie, Maître de Conférences et Praticien Hospitalier (MCU-PH)
– Immunologie – Département de pharmacie, Université de Lille, CHU de Lille

Membres extérieurs :

Madame BOUVATIER Virginie, Pharmacien, Senior Medical Advisor, Lyon

Madame DEGAND Claire, Pharmacien, Docteur en sciences – onco-hématologie –
Responsable Médical Régional, Paris