

# CELLULES STROMALES MÉSENCHYMATEUSES ET TRANSPLANTATION D'ORGANES

O. DETRY (1, 2), F. JOURET (2, 3), M. VANDERMEULEN (1), P. ERPICUM (2, 3), L. DELENS (2, 3), C. GRÉGOIRE (4), A. BRIQUET (5), L. WEEKERS (3), E. BAUDOUX (5), C. LECHANTEUR (5), Y. BEGUIN (4, 5)

**RÉSUMÉ :** Les cellules stromales mésenchymateuses (CSM) sont des cellules multipotentes et capables d'autorenouvellement. Les CSM semblent intéressantes pour leurs propriétés immunomodulatrices, dans la prévention ou le traitement du traumatisme ischémique, ainsi que dans la potentielle reconstitution ou amélioration d'organes. Depuis quelques années, le rôle potentiel des CSM en transplantation d'organes est évalué par des études *in vitro* et dans des modèles animaux. Leurs caractéristiques font des CSM une thérapie cellulaire potentielle idéale en transplantation d'organes, et une étude prospective translationnelle, contrôlée, de phase 1-2, a débuté au CHU de Liège : elle vise à évaluer les risques et les bénéfices de l'injection de CSM après transplantation de foie ou de rein. Les résultats préliminaires de cette étude semblent intéressants, mais seule une évaluation approfondie par une étude de phase 3, randomisée, permettra de confirmer l'intérêt théorique des CSM en transplantation d'organe solide.

**MOTS-CLÉS :** Cellules stromales mésenchymateuses - Transplantation d'organes - Tolérance - Rejet - Thérapie cellulaire

**MESENCHYMAL STROMAL CELLS AND ORGAN TRANSPLANTATION SUMMARY :** Mesenchymal stromal cells (MSC) are multipotent and self-renewing cells. MSC are studied for their *in vivo* and *in vitro* immunomodulatory effects, in the prevention or the treatment of ischemic injury, and for their potential properties of tissue or organ reconstruction. Over the last few years, the potential role of MSC in organ transplantation has been studied both *in vitro* and *in vivo*, and their properties make them an ideal potential cell therapy after solid organ transplantation. A prospective, controlled, phase 1-2 study has been initiated at the CHU of Liege, Belgium. This study assesses the potential risks and benefits of MSC infusion after liver or kidney transplantation. Even if the preliminary results of this study look promising, solely a prospective, randomized, large scale, phase 3 study will allow the clinical confirmation of the theoretical benefits of MSC in solid organ transplantation.

**KEYWORDS :** Mesenchymal stromal cells - Organ transplantation - Tolerance - Rejection - Cellular therapy

Depuis les années 1980 et la découverte des caractéristiques immunosuppressives de la cyclosporine, la transplantation d'organes a transformé le pronostic de nombreuses maladies terminales caractérisées par l'insuffisance de fonction d'un ou plusieurs organes. Les résultats des transplantations d'organes ont encore été améliorés par la mise au point de nouveaux médicaments comme le tacrolimus ou le mycophénolate mofetyl, ainsi que par de meilleures techniques chirurgicales. Cependant, les résultats des transplantations d'organes ne sont pas encore parfaits. Les médicaments immunosuppresseurs soumettent les patients receveurs à une augmentation des risques d'infections opportunistes ou de cancer. Induire une tolérance à l'organe transplanté reste, donc, un rêve tant pour les patients que pour les équipes soignantes. D'autre part, lors du prélèvement et

de la transplantation, les organes sont soumis à un stress oxydatif lié à l'absence de perfusion sanguine oxygénée, induisant un traumatisme d'ischémie/reperfusion (I/R) délétère pour la fonction immédiate (non-fonction primaire du greffon) ou tardive (lésions biliaires ischémiques en greffe hépatique, rejet chronique en greffe rénale, maladie coronarienne du greffon en transplantation cardiaque). Afin de limiter cette I/R, les greffons sont refroidis, perfusés par une solution de préservation spécifique, et toujours transplantés en urgence après des périodes ischémiques acceptables, variables selon les organes. Enfin, la qualité des donneurs d'organes diminue, avec l'augmentation de leur moyenne d'âge ou le développement de facteurs spécifiques de risque comme l'obésité, et il serait important de développer des mesures efficaces pour améliorer la qualité des greffons.

Les cellules stromales mésenchymateuses (CSM) sont des cellules multipotentes et capables d'autorenouvellement (1, 2). Elles constituent une population hétérogène de cellules qui ressemblent à des fibroblastes (fig 1), et qui peuvent se différencier en cellules des lignées mésodermiques, en ostéoblastes, en chondrocytes et en adipocytes. Elles résident essentiellement dans la moelle osseuse, mais peuvent également être isolées à partir de divers tissus, comme le tissu adipeux, la peau, le placenta, le sang de cordon, les poumons ou le foie. Aucun marqueur spécifique des CSM

(1) Service de Chirurgie Abdominale et Transplantation, CHU de Liège.

(2) Chirurgie expérimentale, GIGA Cardiovascular Sciences, CHU de Liège.

(3) Service de Néphrologie et Transplantation Rénale, CHU de Liège.

(4) Service d'Hématologie, CHU de Liège.

(5) Laboratoire de Thérapie Cellulaire et Génique (LTCG), CHU de Liège.

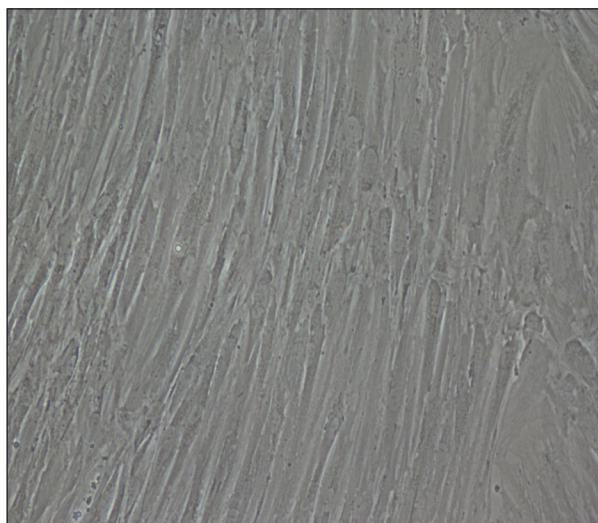


Figure 1. Photo de CSM confluentes au grossissement 40x.

n'a été découvert jusqu'à présent. Les CSM sont identifiées par, au minimum, trois caractéristiques : adhérence aux surfaces plastiques dans les conditions de culture cellulaire standard; expression de CD105, CD73, CD90, et absence d'expression de CD45, CD34, CD14, CD11b, CD79a, CD19 et HLA-DR; capacité de se différencier *in vitro* en ostéocytes, en chondrocytes et en adipocytes.

Depuis quelques années, le rôle potentiel des CSM en transplantation d'organes est évalué par des études *in vitro* et dans des modèles animaux. Les CSM semblent intéressantes pour leurs propriétés immunomodulatrices, dans la prévention ou le traitement de l'I/R, ainsi que dans la potentielle reconstitution ou amélioration d'organes en vue de leur transplantation (fig 2). Ces caractéristiques font des CSM une thérapie cellulaire potentielle idéale en transplantation d'organes, et des études cliniques préliminaires ont été entreprises par quelques groupes dans le monde, et particulièrement au sein du CHU de Liège.

#### EFFET IMMUNOMODULATEUR ET ANTI-INFLAMMATOIRE DES CELLULES STROMALES MÉSENCHYMATEUSES

De nombreuses études *in vivo* et *in vitro* ont démontré l'effet anti-inflammatoire et immunorégulateur des CSM (2). Il est probable que l'effet immunomodulateur des CSM soit lié au recrutement de lymphocytes T régulateurs (T-reg) qui participent à la tolérance «du soi», mais également à la tolérance «d'un autre» (3). Les CSM ne sont pas directement immunosuppressives; elles exercent leur effet immunomodulateur sans contact cellulaire direct, via la sécrétion de

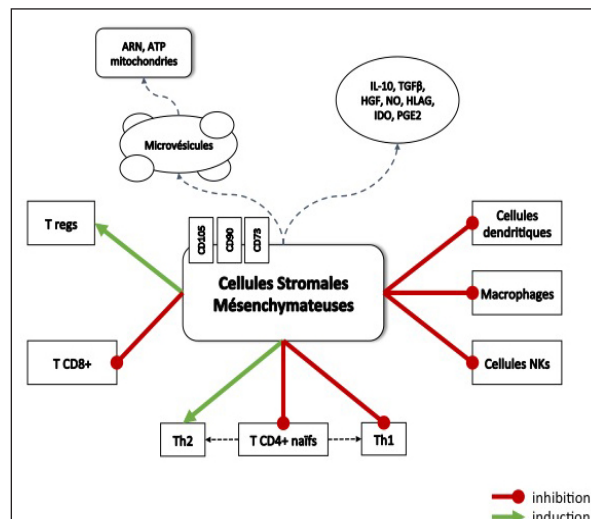


Figure 2. Représentation schématique des effets des CSM.

facteurs solubles, comme le «Tumor Necrosis Factor» (TNF)- $\alpha$ , l'interleukine (IL)-1 $\beta$  et l'interféron (IFN)- $\gamma$  (2). Il est enfin probable que les raisons de la capacité immunomodulatrice des CSM ne soient que partiellement connues, mais ce potentiel semble réel. Dans des modèles animaux de transplantation de peau, de cœur et de rein, l'infusion de CSM a permis de prolonger significativement la survie des greffons via l'expansion des Tregs et/ou des cellules dendritiques «tolérogéniques». En transplantation clinique humaine de moelle hématopoïétique, l'injection de CSM a permis de contrôler la maladie du greffon contre l'hôte (Graft Versus Host Disease (GVHD) des anglo-saxons), et plusieurs études sont actuellement en cours visant à déterminer si la co-infusion de CSM avec les moelles allogéniques pourrait permettre d'améliorer la prise des greffons et de diminuer le risque de GVHD (4-6).

Au CHU de Liège, le Laboratoire de Thérapie Cellulaire et Génique (LTGC) produit, depuis quelques années, des CSM cliniques utilisées dans des études prospectives qui ont été réalisées dans le service d'hématologie en collaboration avec d'autres hôpitaux universitaires belges.

En transplantation, les résultats de l'utilisation des CSM dans des modèles animaux précliniques ainsi que dans les GVHD des patients greffés de moelle (4-6) ont permis d'espérer un effet bénéfique des CSM sur la prévention du rejet et la tolérance après greffe d'organes. Un consortium européen d'équipes intéressées par l'utilisation des CSM en greffe d'organes, groupe dont fait partie l'Université de Liège (7), a été créé ([www.misot.eu](http://www.misot.eu)). Des études préliminaires en transplantation rénale ont été effectuées, et leurs résultats semblent intéressants. Une étude prospective

contrôlée, de phase 3, a été réalisée en Chine sur des transplantations rénales réalisées à partir de donneurs vivants (8). Les résultats de ce travail permettent de considérer que les CSM ne sont pas toxiques après transplantation rénale, qu'elles permettent de diminuer les médicaments immunosuppresseurs et qu'elles diminuent les complications infectieuses.

#### ADMINISTRATION DES CELLULES STROMALES MÉSENCHYMATEUSES LORS D'UNE ISCHÉMIE/REPERFUSION

Les propriétés immunomodulatrices, anti-inflammatoires et de réparation tissulaire des CSM pourraient être avantageusement utilisées lors d'une I/R, notamment rénale ou hépatique (9, 10). En effet, les CSM pourraient agir tout au long du processus d'I/R (i) en atténuant les perturbations métaboliques précoces de l'ischémie, (ii) en diminuant le degré d'inflammation au moment de la reperfusion, et (iii) en accélérant la régénération tissulaire. Ces propriétés bénéfiques sont le fait d'interactions cellule-cellule immédiates et/ou de facteurs paracrines et endocrines sécrétés par les CSM.

Dans un modèle murin d'I/R rénale induite sous anesthésie, l'administration intra-carotidienne de CSM immédiatement ou 24 heures après reperfusion est significativement associée à (i) une préservation de la fonction rénale, (ii) une prolifération cellulaire accrue, (iii) une réduction de l'apoptose tubulaire, (iv) une infiltration leucocytaire moindre, et (v) un meilleur score de dommage ischémique (11). De façon intéressante, différentes manipulations expérimentales ont permis de démontrer que les CSM sont détectables dans les glomérules endéans l'heure suivant leur administration intraveineuse. Cependant, aucune CSM ne semble se différencier vers un phénotype tubulaire ou endothélial *in situ*. L'effet protecteur des CSM dans l'I/R rénale n'apparaît donc pas médié par leur recrutement et leur trans-différenciation en cellules rénales, mais plutôt par leur actions paracrines et endocrines, anti-oxydantes et anti-inflammatoires (12, 13). Ainsi, la seule administration de dérivés acellulaires de CSM tels que des microvésicules ou un milieu de culture conditionné, s'est montrée efficace dans différents conditions d'I/R rénale (14). Les exosomes issus des CSM véhiculeraient vers les cellules en souffrance, non seulement des substrats énergétiques, mais également des facteurs régulateurs de la transcription, de la traduction et de la prolifération (15). Bien plus, des organelles telles que des mitochondries seraient

également transférées des CSM vers les cellules tubulaires rénales post I/R. Des résultats similaires ont été obtenus en ce qui concerne l'I/R hépatique ou cardiaque (10).

Sur base de ces observations prometteuses acquises au départ de modèles animaux d'I/R, plusieurs études cliniques utilisant des CSM allogéniques ou autologues lors d'interventions chirurgicales cardio-thoraciques – classiquement associées à des phénomènes d'I/R rénale – ont été entreprises ([www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov)). Les premiers résultats des phases I et II (NCT00733876; NCT01602328) ne montrent pas d'effets secondaires majeurs causés par les CSM. Aucune donnée n'est cependant disponible quant à leur possible efficacité protectrice en cas d'I/R rénale chez l'homme (9, 10). Nombre de questions restent dès lors ouvertes concernant (i) le mode et le volume d'injection, (ii) le timing et la fréquence d'administration avant et/ou après une I/R rénale programmable, et (iii) l'impact immunologique à long terme des cellules CSM (7).

#### LES CELLULES STROMALES MÉSENCHYMATEUSES ET LA RECONSTITUTION DE TISSUS ET D'ORGANES

Par leurs caractéristiques et leur capacité à se différencier en de nombreux types cellulaires différents, les CSM paraissent des cellules qui pourraient être utilisées pour construire des tissus, voire des organes artificiels (16). Outre ce rôle potentiel, les CSM participent à la réparation tissulaire d'organes et de tissus lésés, particulièrement par une lésion de type I/R, mais également dans des modèles d'insuffisance cardiaque (infarctus) ou hépatique (hépatite). Des études cliniques ont d'ailleurs été ou sont réalisées chez des patients ayant développé un infarctus myocardique ou chez des patients cirrhotiques en insuffisance hépatique.

#### L'ÉTUDE LIÉGEOISE ÉVALUANT L'INTÉRÊT DES CELLULES STROMALES MÉSENCHYMATEUSES APRÈS TRANSPLANTATION RÉNALE OU HÉPATIQUE

Toutes ces caractéristiques font que les CSM présentent un intérêt potentiel majeur en transplantation d'organes. Une étude de phase 1-2 a donc été conçue en transplantation hépatique et en transplantation rénale au CHU de Liège. Cette étude vise à évaluer les risques et les bénéfices potentiels des CSM, ainsi que la possibilité que les CSM diminuent le risque de rejet et favorisent la tolérance du patient traité



vis-à-vis de l'organe greffé (NCT01429038). Le premier patient transplanté hépatique a été traité le 4 mars 2012. À notre connaissance, il s'agissait d'une première mondiale. L'inclusion des patients greffés hépatiques est, à ce jour, complète, et elle sera bientôt terminée en transplantation rénale. Des résultats préliminaires sont encourageants et ont été présentés lors de diverses réunions scientifiques.

## PERSPECTIVES

Dans ce domaine très novateur, grâce à une collaboration entre plusieurs services de pointe, le CHU de Liège a entamé un projet de recherche clinique translationnel de phase 1-2 qui le place en leader mondial dans le domaine. Cependant, les résultats de ces premiers patients sont extrêmement préliminaires. Seule une étude de phase 3, plus large et plus ambitieuse, et donc beaucoup plus coûteuse, permettra de confirmer l'intérêt potentiel de l'injection des CSM pour le patient transplanté.

## REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient l'équipe chirurgicale (M. Meurisse, C. Coimbra Marques, A. De Roover, M. Decker, E. Hamoir, P. Honoré, L. Kohlen, J-P Squifflet, N. Meurisse, S. Mawaja) et médicale (C. Bonvoisin, S. Grosch, L. Weekers et P. Xhignesse) de transplantation, ainsi que les coordinatrices de greffe (Mmes M-H. Delbouille, M-H. Hans, J. Mornard), pour la qualité de leur engagement personnel et professionnel dans la transplantation d'organes solides au C.H.U de Liège.

F. Jouret et P. Erpicum ont un mandat de clinicien-chercheur du Fonds National de la Recherche Scientifique (FNRS) au sein de l'unité «GIGA Cardiovascular Sciences» (J-O Defraigne et J-M Krzesinski). C. Gregoire bénéficie d'un mandat de chercheur FNRS-Télévie. Ce projet également est soutenu par une subvention de l'Association du Centre d'information sur l'insuffisance Rénale et ses Traitements (bourse ACiRT) du Fonds Léon Frédéricq (Université de Liège), par le CHU de Liège, par la Société Européenne de Transplantation (ESOT), par le FNRS, par Télévie, par la Fondation contre le Cancer, par Plan Cancer, et le Centre Anticancéreux. (CAC) près de l'université de Liège.

## BIBLIOGRAPHIE

- Vandermeulen N, Grégoire C, Briquet A, et al.—Rationale for the potential use of mesenchymal stromal cells in liver transplantation. *World J Gastroenterol*, 2014, in Press.
- Marigo I, Dazzi F.— The immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells. *Sem Immunol*, 2011, **33**, 593-602.
- Choi YS, Jeong JA, Lim DS.— Mesenchymal stem cell-mediated immature dendritic cells induce regulatory T cell-based immunosuppressive effect. *Immuno Invest*, 2012, **41**, 214-229.
- Le Blanc K, Rasmusson I, Sundberg B, et al.— Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells. *Lancet*, 2004, **363**, 1439-1441.
- Le Blanc K, Frassonni F, Ball L, et al.— Mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant, severe, acute graft-versus-host disease: a phase II study. *Lancet*, 2008, **371**, 1579-1586.
- Baron F, Lechanteur C, Willems E, et al.— Cotransplantation of mesenchymal stem cells might prevent death from graft-versus-host disease (GVHD) without abrogating graft-versus-tumor effects after HLA-mismatched allogeneic transplantation following nonmyeloablative conditioning. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2010, **16**, 838-847.
- Franquesa M, Hoogduijn MJ, Reinders ME, et al.— MiSOTSG. Mesenchymal Stem Cells in Solid Organ Transplantation (MiSOT) Fourth Meeting : Lessons learned from first clinical trials. *Transplantation*, 2013, **96**, 234-238.
- Tan J, Wu W, Xu X, et al.— Induction therapy with autologous mesenchymal stem cells in living-related kidney transplants : a randomized controlled trial. *JAMA*, 2012, **307**, 1169-1177.
- Erpicum P, Detry O, Weekers L, et al.— Mesenchymal stromal cell therapy in conditions of renal ischaemia/reperfusion. *Nephrol Dial Transplant*, 2014, **29**, 1487-1493.
- Souidi N, Stolk M, Seifert M.— Ischemia-reperfusion injury : beneficial effects of mesenchymal stromal cells. *Curr Opin Organ Transplant*, 2013, **18**, 34-43.
- Togel F, Hu Z, Weiss K, et al.— Administered mesenchymal stem cells protect against ischemic acute renal failure through differentiation-independent mechanisms. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2005, **289**, F31-42.
- Chen YT, Sun CK, Lin YC, et al.— Adipose-derived mesenchymal stem cell protects kidneys against ischemia-reperfusion injury through suppressing oxidative stress and inflammatory reaction. *J Translational Med*, 2011, **9**, 51.
- Eggenhofer E, Benseler V, Kroemer A, et al.— Mesenchymal stem cells are short-lived and do not migrate beyond the lungs after intravenous infusion. *Front Immunol*, 2012, **3**, 297.
- Bruno S, Grange C, Deregibus MC, et al.— Mesenchymal stem cell-derived microvesicles protect against acute tubular injury. *J Am Soc Nephrol*, 2009, **20**, 1053-1067.
- Gatti S, Bruno S, Deregibus MC, et al.— Microvesicles derived from human adult mesenchymal stem cells protect against ischaemia-reperfusion-induced acute and chronic kidney injury. *Nephrol Dial Transplant*, 2011, **26**, 1474-1483.
- Lim ML, Jungebluth P, Ajallouei F, et al.— Whole organ and tissue reconstruction in thoracic regenerative surgery. *Mayo Clin Proc*, 2013, **88**, 1151-1166.

Les demandes de tirés à part sont à adresser au Dr O. Detry, Service de Chirurgie Abdominale et Transplantation, CHU de Liège, 4000 Liège, Belgique. Email : oli.detry@chu.ulg.ac.be