



HAL
open science

Caractérisation et différenciation des cellules souches mésenchymateuses (CSM) de la moelle osseuse équine et du sang de cordon ombilical pour des applications en ingénierie du cartilage

Thomas Branly, Mélanie Desancé, Lélia Bertoni, Romain Contentin, Rodolphe Rakic, Miranda Concari, Florence Legendre, Sandrine Jacquet, Fabrice Audigié, Jean-Marie Denoix, et al.

► To cite this version:

Thomas Branly, Mélanie Desancé, Lélia Bertoni, Romain Contentin, Rodolphe Rakic, et al.. Caractérisation et différenciation des cellules souches mésenchymateuses (CSM) de la moelle osseuse équine et du sang de cordon ombilical pour des applications en ingénierie du cartilage. AVEF, 2017, Paris, France. hal-02294586

HAL Id: hal-02294586

<https://hal.science/hal-02294586v1>

Submitted on 23 Sep 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Caractérisation et différenciation des cellules souches mésenchymateuses (CSM) de la moelle osseuse équine et du sang de cordon ombilical pour des applications en ingénierie du cartilage

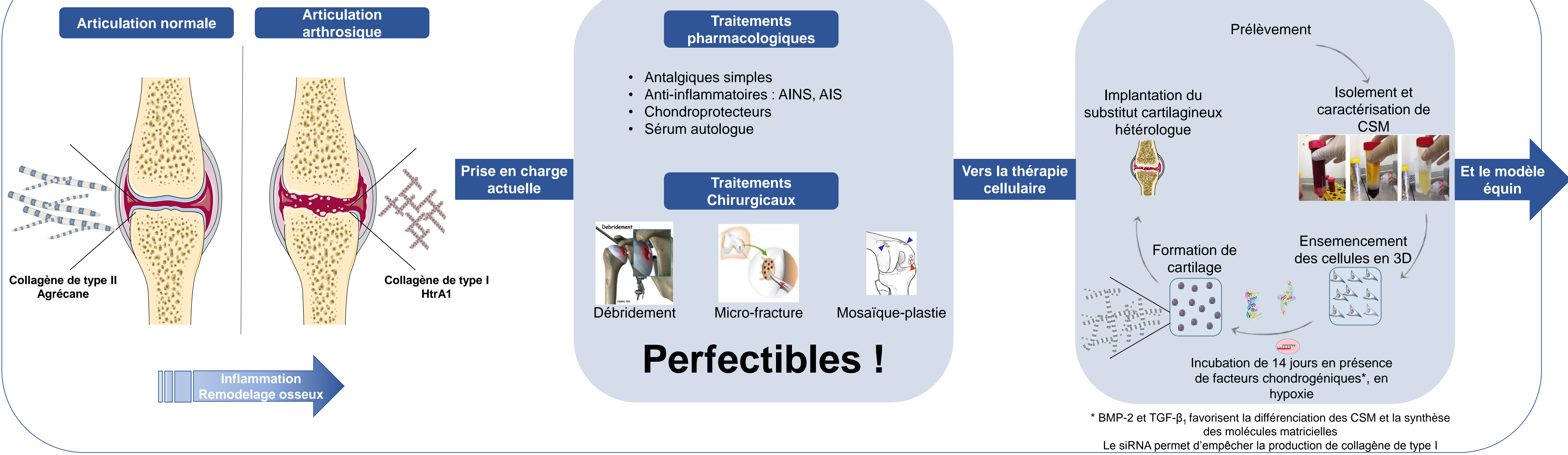
Thomas Branly^{1,†}, Mélanie Desancé^{1,†}, Lélia Berton², Romain Contentin¹, Rodolphe Rakic¹, Miranda Concar¹, Florence Legendre¹, Sandrine Jacquet², Fabrice Audigé², Jean-Marie Denoix², Magali Demoor¹ & Philippe Galéra¹.

1. Unité BioTARGen, équipe OERAGEN EA 7450, UFR Santé, Université de Caen Normandie, 14032 Caen, France.

2. Centre d'Imagerie et de Recherche sur les Affections Locomotrices Equine (CIRALE), Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Université Paris-Est, 14430 Goustranville, France.

† Contribution équivalente

Introduction



Isolement et caractérisation de CSM équines

Isolement

Caractérisation

Prélèvement de moelle osseuse (MO) ou de sang de cordon ombilical (SCO)

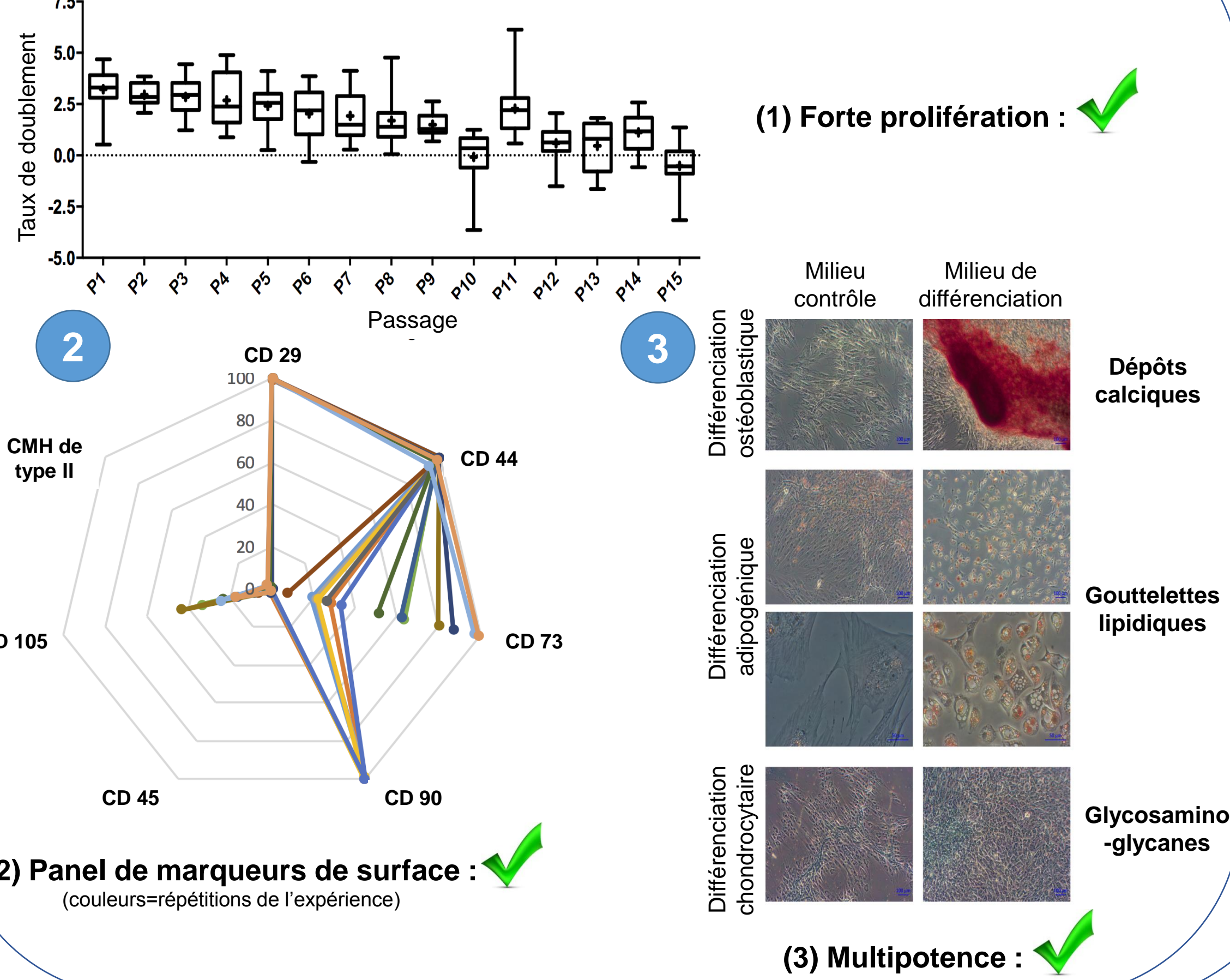
- 1) Centrifugation sur un gradient de densité
 - 2) Ensemencement des cellules de l'interphase
 - 3) Les cellules souches adhèrent au plastique et forment des colonies
 - 4) Doublement des cellules
- Amplification

Caractérisation des CSM putatives

Critères requis pour caractériser les CSM

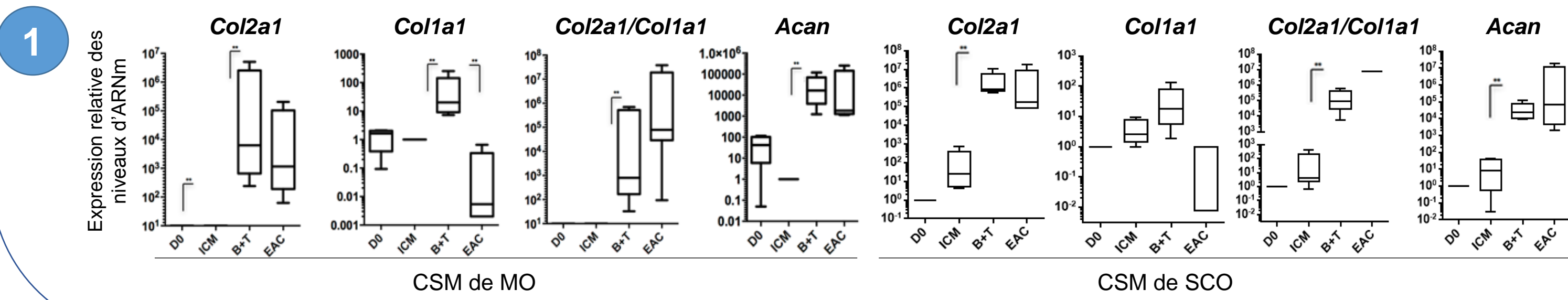
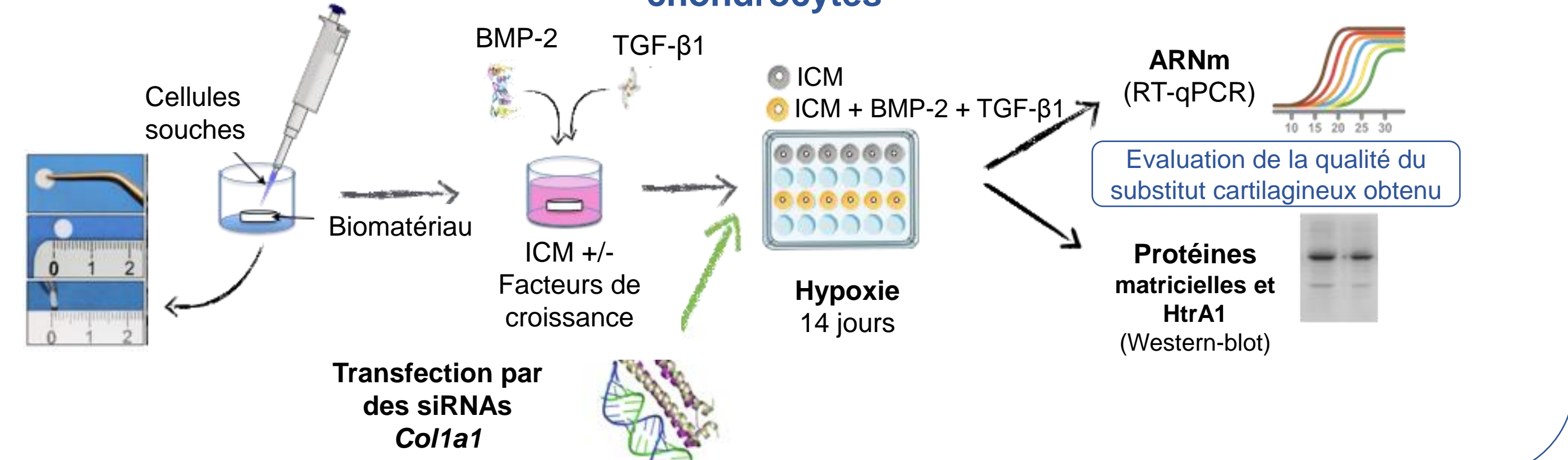
- 1) Capacités prolifératives
 - 2) Expression de marqueurs de surface caractéristiques
 - 3) Capacités de différenciation
- Adipocytes, Chondrocytes, Ostéoblastes
- Tests bactériologiques et virologiques

Caractérisation des cellules isolées

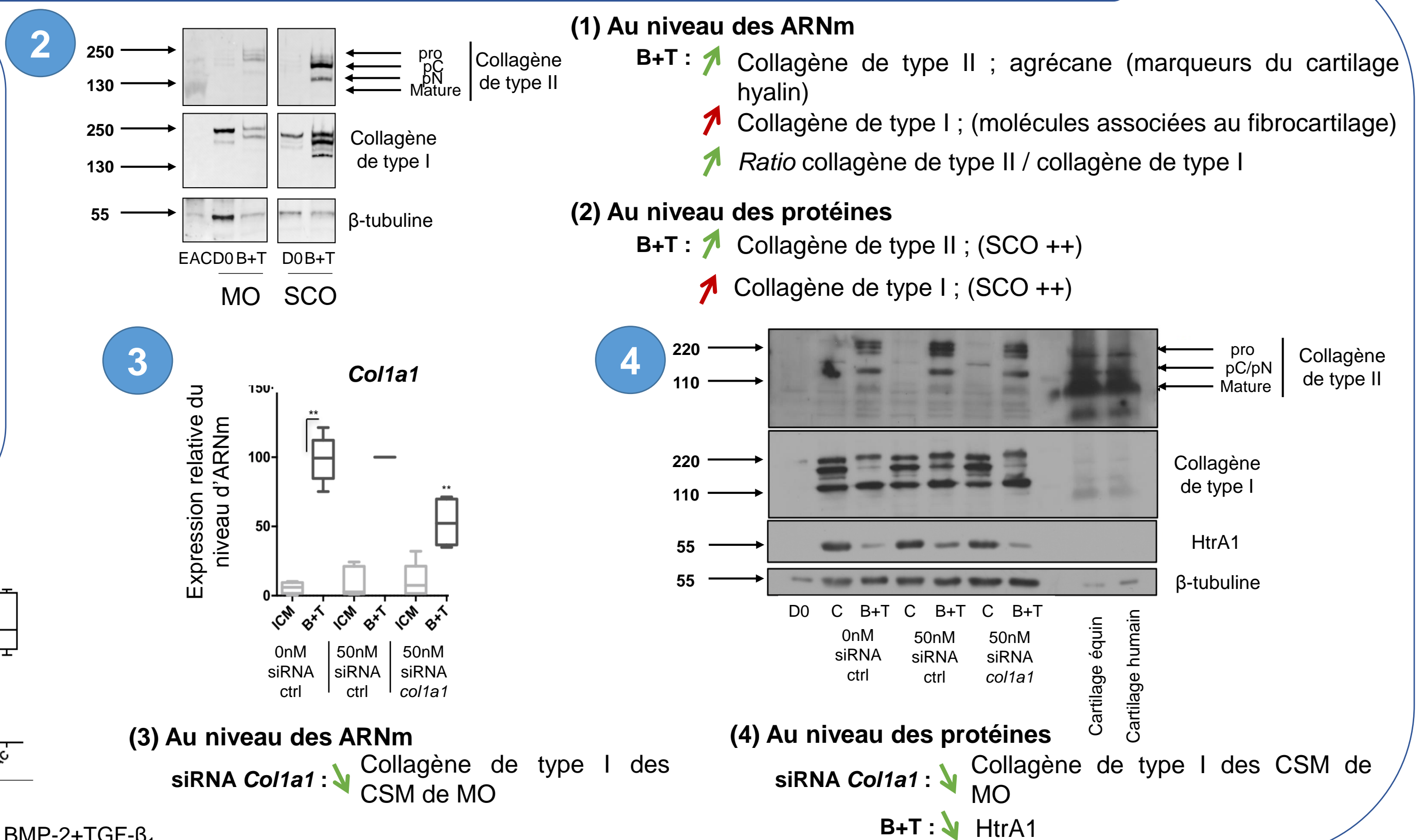


Différenciation des CSM en chondrocytes : transposition de la stratégie établie chez l'Homme

Stratégie de différenciation des CSM en chondrocytes



DO : jour 0, avant induction de la différenciation; EAC : chondrocytes articulaires équins; ICM : « Incomplete Chondrogenic Medium »; B+T : BMP-2+TGF-β1.



Conclusion

La stratégie de différenciation des CSM de MO et de SCO équines a permis l'induction d'une forte synthèse du collagène de type II et de limiter l'expression de HtrA1. Pour les CSM de MO, la stratégie d'interférence par l'ARN a entraîné la diminution de l'expression du collagène de type I, atypique d'un cartilage hyalin, inhérente à l'utilisation de la BMP-2 et du TGF-β1. Au contraire, le siRNA utilisé lors de cette étude n'est pas efficace sur les CSM de SCO (résultats non présentés). Nous avons donc réalisé des études ultérieures afin de déterminer une stratégie qui permet de mieux limiter la synthèse du collagène de type I. Néanmoins, la stratégie combinatoire BMP-2 et TGF-β1, associée à une culture hypoxique en 3 dimensions et en présence de siRNA ciblant le collagène type I constitue une stratégie de différenciation pertinente pour différencier des CSM équines en chondrocytes. Au-delà de leur capacité de différenciation, les capacités sécrétoires des CSM et leur potentiel immunomodulateur leur confèrent un intérêt pour les affections ostéoarticulaires. Des essais précliniques dans le modèle équin sont essentiels pour juger de l'intérêt : 1) du substitut cartilagineux produit par notre stratégie et 2) d'une utilisation directe des CSM dans le traitement de lésions chondrales. Nous avons d'ores et déjà obtenu des résultats préliminaires.

Résultats préliminaires

