

# Bientôt un essai français de cellules progénitrices contre l'ischémie aiguë des MI

12 OCTOBRE 2012 Vincent Bargoin

**Paris, France** - Une équipe française, coordonnée par l'**Institut des Vaisseaux et du Sang** (Hôpital Lariboisière, Paris) montre que des monocytes humains, prélevés dans le sang périphérique de patients diabétiques, et stimulés par l'éphrine B2 (facteur de croissance neurotrophique et vasculaire), induisent une néovascularisation dans un modèle murin d'ischémie de la patte [1]. Une évaluation clinique chez l'homme est prévue pour l'an prochain. *Heartwire* a demandé au **Pr Bernard Lévy** (Institut des Vaisseaux et du Sang) d'expliquer ces travaux.

## Comment induire une néovascularisation ?

Le contexte d'abord. L'ischémie des membres inférieurs pose problème depuis longtemps. Depuis longtemps aussi, l'induction d'une néovascularisation dans le membre ischémié, fait partie des pistes thérapeutiques. Enfin les premières tentatives, menées au tournant des années 90-2000, basées sur le VEGF (vascular endothelial growth factor), ont échoué - qu'il s'agisse des thérapies géniques par administration d'un ADN codant, ou de l'administration directe de la protéine VEGF.



Pr Bernard Lévy

Second acte : la thérapie cellulaire, qui se situe déjà à une toute autre échelle, et implique non plus un facteur de croissance, mais vraisemblablement des dizaines. Les cellules médullaires souches sont capables de régénérer des vaisseaux. « Une dizaine d'essais ont été menés avec des cellules médullaires, et ils sont positifs », indique le Pr Lévy. Problème : il faut prélever 500 ml de moelle, au bloc, sous anesthésie générale.

Troisième acte : les progéniteurs endothéliaux circulants. Ils sont naturellement plus faciles à prélever. Mais ils sont trop peu nombreux dans le sang périphérique non seulement pour espérer induire une néovascularisation, mais également pour pouvoir les expandre en culture. « Dans un tube de 20 ml de sang, on trouve quelques dizaines de ces cellules souches », note le Pr Lévy.

## L'éphrine B2

La solution proposée est donc l'éphrine B2. Il s'agit d'un peptide dont le rôle, découvert dans le cadre du développement embryonnaire, est à la fois d'orienter le développement des fibres nerveuses, et de promouvoir la différenciation du réseau capillaire primitif en réseau mature. « A partir d'un réseau

capillaire indifférencié, l'éphrine induit la différenciation d'artérioles, de capillaires, et de veinules », résume le Pr Lévy.

Dans la perspective d'un traitement de l'ischémie critique, il a déjà été vérifié, sur du sang de cordon, plus riche en progéniteurs endothéliaux que le sang circulant, que l'éphrine B2 stimule la capacité de ces cellules vis-à-vis des vaisseaux.

Les possibilités de l'éphrine B2 vont toutefois plus loin. Selon les résultats publiés dans *Diabetes*, le peptide semble faire réverser, au moins sur le plan phénotypique, les monocytes du sang circulant. « Stimulés par l'éphrine B2, 15% des monocytes acquièrent le comportement de progéniteurs endothéliaux », indique le Pr Lévy. En d'autres termes, le prélèvement de sang périphérique à un patient, le traitement du prélèvement par le peptide, puis sa réadministration au patient, pourrait en théorie permettre de stimuler une angiogénèse thérapeutique.

### **La stimulation d'une activité pro-angiogénique**

L'hypothèse a été vérifiée dans un modèle d'ischémie de la patte chez des souris diabétiques. Les animaux ont été traité par injection IV de  $10^5$  monocytes humains, provenant de patients diabétiques, stimulés ex vivo pendant 30 minutes par l'éphrine B2. On note que cette quantité de cellules, pour un animal d'une vingtaine de grammes, correspondrait à 109 cellules chez un homme de 70 kg. Les animaux contrôle recevaient des cellules non stimulées par l'éphrine.

La néovascularisation a été évaluée à deux semaines par artériographie, laser doppler cutané, et comptage des capillaires dans les muscles ischémiés. Les écarts avec les animaux contrôles sont significatifs. « Les monocytes activés par l'éphrine B2 augmentent le nombre de cellules progénitrices vasculaires circulantes, et augmentent la différenciation des monocytes médullaires en cellules endothéliales, et stimulent leur potentiel pro-angiogénique », écrivent les auteurs de la publication.

Le Pr Lévy signale par ailleurs à *heartwire* que sur le plan fonctionnel, la différence de mobilité entre les souris traitées et les souris contrôle est indiscutable.

« Considérés dans leur ensemble, nos résultats suggèrent que le traitement par éphrine B2 contrebalance le dysfonctionnement des cellules progénitrices induit par le diabète, et ouvrent la voie au développement clinique d'une stratégie innovante et très accessible, basée sur la transplantation autologue, en IV, de monocytes périphériques chez des patients atteints d'ischémie critique des membres », conclut le papier de *Diabetes*.

### **Le statut de thérapie innovante**

En pratique, avant même une évaluation chez l'homme, programmée pour 2013, la faisabilité de la procédure dans des conditions cliniques réalistes doit encore être vérifiée. « Les résultats publiés dans *Diabetes* ont été obtenus avec des techniques de laboratoire, qu'il s'agisse de l'extraction des cellules par centrifugation, de leur culture et de leur conservation », note le Pr Lévy. « Or, l'objectif est de pouvoir extraire les monocytes par simple cytophérèse, comme il s'en pratique 30 à 40 000 chaque

année en France. Nous sommes donc en contact avec l'**Etablissement Français du Sang** pour renouveler l'expérience chez l'animal, avec des cellules humaines extraites cette fois dans des conditions de routine ».

Ensuite viendra l'essai clinique proprement dit. Il devrait concerner de 30 à 50 patients présentant une ischémie critique des membres inférieurs, qui recevront  $10^8$ ,  $10^9$  ou  $10^{10}$  de leurs propres monocytes. « Cet essai sera l'analogue d'une phase I-II », note encore le Pr Lévy. « Mais formellement, la procédure n'est pas considérée comme un médicament, mais comme une thérapie innovante, au même titre que la greffe de moelle, par exemple. Elle n'est pas soumise à la même législation que le médicament ».

« La législation encadrant les thérapeutiques innovantes est telle que, si l'essai clinique se révélait positif, il serait possible de demander une AMM sur la base de cet effectif de 30 à 50 patients », ajoute-t-il.

Pour le moment, l'essai clinique est annoncé pour 2013, mais les lourds dossiers de demande d'autorisation restent à constituer, et à faire accepter. « La bonne nouvelle est que les chirurgiens vasculaires et les diabétologues sont très nombreux à vouloir participer », conclut le Pr Lévy.

### **Et si la recherche se donnait le temps de trouver ...**

« Des chercheurs qui cherchent, on en trouve ; des chercheurs qui trouvent, on en cherche » : la grande complainte de la recherche biomédicale est connue. Le Pr Lévy fait à ce propos une remarque intéressante. C'est notamment parce que l'Institut des Vaisseaux et du Sang a un statut de fondation (c'est-à-dire d'association 1901) qu'il a pu mener un travail de longue haleine. « Dans un organisme de recherche habituel, les étudiants doctorants et post-doc doivent publier environ une publication par an, s'ils veulent avoir quelques perspectives de carrière », note le Pr Lévy. « A l'Institut des Vaisseaux et du Sang, nous avons publié un article en quatre ans sur ce sujet particulier, mais il pourrait être important. Bien entendu, les collaborations étroites avec nos organismes partenaires, université, hôpital, Inserm, ..., restent indispensables ». L'histoire, en tout cas, illustre bien la nécessité du temps dans la recherche.

L'étude publiée dans Diabetes a été financée par l'Institut des Vaisseaux et du Sang, la Société pour le Développement de la Recherche Cardiovasculaire, et l'association Naturalia & Biologie.  
Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêt en rapport avec cet article.