



Disponible en ligne sur

ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France

EM|consulte
www.em-consulte.com



REVUE GÉNÉRALE

Les cellules stromales mésenchymateuses du tissu adipeux : historique, isolement, propriétés immunomodulatrices et perspectives cliniques



Adipose-derived stromal cells: History, isolation, immunomodulatory properties and clinical perspectives

N. Bertheuil^{a,*}, B. Chaput^{d,e}, C. Ménard^{b,c}, A. Varin^d,
I. Garrido^e, J.L. Grolleau^e, L. Sensébé^d, E. Watier^a,
K. Tarte^{b,c}

^a Service de chirurgie plastique et reconstructrice, université de Rennes 1, hôpital Sud, 16, boulevard de Bulgarie, 35200 Rennes, France

^b Inserm U917, université de Rennes 1, 35033 Rennes, France

^c Laboratoire SITI, établissement français du sang Bretagne, CHU de Rennes, 35033 Rennes, France

^d STROMA lab, UMR5273 CNRS/UPS/EFS, Inserm U1031, hôpital Rangueil, Toulouse, France

^e Service de chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique, université Paul-Sabatier, hôpital Rangueil, 31059 Toulouse, France

Reçu le 25 juin 2014 ; accepté le 25 septembre 2014

MOTS CLÉS

Cellules stromales
mésenchymateuses ;
Fraction vasculaire
stromale ;
Propriétés
anti-inflammatoires ;
Immunosuppression ;
Médecine régénérative

Résumé L'utilisation clinique des *adipose-derived stromal/stem cells* (ASC) en médecine réparatrice est en plein essor sur la dernière décennie. Les ASC font partie des cellules stromales mésenchymateuses initialement obtenues à partir de la moelle osseuse. Leurs capacités limitées de différenciation in vivo en cellules matures fonctionnelles ont conduit à une réévaluation de leurs mécanismes d'action. Ainsi, leur intérêt clinique semble essentiellement lié à des effets paracrines par le biais d'une production transitoire de facteurs à la fois trophiques et immunomodulateurs. Nous souhaitons faire ici une mise au point sur les dernières connaissances acquises en matière d'ASC ainsi que les perspectives cliniques qui en découlent que ce soit en thérapie cellulaire ou dans le cadre des transferts de tissu adipeux en chirurgie plastique. Nous

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : nbertheuil@gmail.com (N. Bertheuil).

rappellerons la méthode d'obtention des ASC et leurs mécanismes d'action avec un intérêt particulier pour leurs propriétés immunosuppressives/immunomodulatrices.

© 2014 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

KEYWORDS

Mesenchymal stromal cells;
Stromal vascular fraction;
Anti-inflammatory effect;
Immunosuppression;
Regenerative medicine

Summary Over the last decade, the clinical use of adipose-derived stromal/stem cells (ASC) in regenerative medicine is rapidly increasing. ASC belong to the mesenchymal stromal cells initially obtained from the bone marrow. Their limited differentiation capacity in vivo into functional mature cells has led to a reassessment of their mechanisms of action. One of the major clinical interests appears related to paracrine effects through a temporary production of trophic and immunomodulatory factors. Our purpose is to provide a review on the latest knowledge in the field of ASC, mechanisms of action, mainly immunomodulatory/immunosuppressive properties, methods of obtention, with a focus on clinical perspectives particularly in the field of cellular therapy and fat grafting technique in plastic surgery.

© 2014 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Introduction

Le tissu adipeux (TA) est constitué de graisse brune et de graisse blanche, cette dernière étant le composant quasi exclusif chez l'adulte. Le TA, en plus de sa fonction d'homéostasie énergétique via le stockage des lipides sous forme de triglycérides, est un véritable organe endocrine actif sécrétant plus de 600 facteurs comme la leptine et l'adiponectine [1] regroupés sous le nom d'adipokines [2]. Ces adipokines agissent de manière autocrine et paracrine et participent à l'adipogenèse, au métabolisme des adipocytes et à leurs fonctions, à l'inflammation, à l'immunité et à la reproduction. L'adipocyte est connu comme étant une cellule mature et différenciée et il est considéré comme incapable de se diviser [3]. Cependant, dans le cadre de l'obésité, le développement excessif du TA est dû à la fois à une hypertrophie des adipocytes mais aussi à une augmentation de leur nombre appelé hyperplasie [4,5]. Par ailleurs, nous savons désormais qu'environ 10 % de ce tissu se renouvelle tous les ans [6]. Cette création de novo constituant l'adipogenèse s'explique par la présence de cellules progénitrices capables de proliférer et de se différencier en adipocytes matures. Il existe plusieurs dénominations pour ces cellules dont la plus connue, retenue par l'IFATS (International Federation for Adipose Therapeutics and Science), est celle de cellules stromales issues du tissu adipeux ou ASC (*adipose-derived stem/stromal cells*) [7]. Les ASC constituent un sous-type de cellules stromales mésenchymateuses (CSM). Il est crucial de rappeler que ces cellules ont été essentiellement étudiées in vitro, après une phase de culture plus ou moins longue, et qu'il n'existe que peu d'arguments formels démontrant que les propriétés mises en évidence pour les ASC cultivées sont partagées par les ASC retrouvées in situ.

Dans le cadre de l'obésité, l'hypertrophie puis l'hyperplasie des adipocytes entraînent une hypoxie du tissu adipeux. Cette hypoxie déclenche un signal de stress qui aboutit à un état inflammatoire chronique du tissu lié à la production de cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-1, IL-6...) par les adipocytes et les macrophages présents au sein du tissu. De plus, les macrophages participent à l'amplification des signaux pro-inflammatoires et contribuent au recrutement d'autres cellules immunitaires.

Ces signaux ont été décrits comme activant les CSM obtenues en culture, dont les ASC, les rendant en particulier capables d'inhiber les différents effecteurs de l'immunité [8] mais aussi comme diminuant la capacité des ASC cultivées à se différencier en adipocyte [9–13]. Une connaissance exhaustive des propriétés fonctionnelles des ASC de grade clinique, obtenues dans des conditions contrôlées et reproductibles apparaît un élément important pour optimiser leur utilisation thérapeutique. La façon dont ces propriétés sont partagées par les ASC in situ est un autre élément fondamental, qui permettra de préciser leur implication en physiologie, au sein du TA sain, mais aussi en pathologie, notamment dans le contexte de l'obésité.

Les CSM : caractéristiques et hétérogénéité

Les CSM ont été décrites dès les années 1960 et ont été isolées initialement à partir de la moelle osseuse (BM-MSC pour *bone marrow-mesenchymal stem cells*) [14]. Les CSM cultivées sont définies par 3 propriétés :

- elles adhèrent au plastique et prolifèrent in vitro ;
- elles sont multipotentes, c'est-à-dire qu'elles peuvent se différencier en divers types cellulaires issus du mésoderme [15,16] (os, cartilage, tissu adipeux) ;
- à la différence des cellules hématopoïétiques, elles n'expriment pas de marqueur de surface spécifique, ce qui a limité à ce jour leur isolement et leur caractérisation.

Le phénotype minimal requis est la présence de CD105, CD73, CD90 (≥ 95 % positivité) et l'absence d'expression des marqueurs hématopoïétiques (≤ 2 %). De plus, les CSM en l'absence de stimulus inflammatoire (en particulier l'interféron gamma [IFN- γ]) n'expriment pas HLA-DR (une molécule du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II) en accord avec une faible immunogénicité [15]. Des travaux plus récents démontrent que les CSM sont présentes dans de multiples tissus et leur première description dans le tissu adipeux remonte à 2001 [17]. Ce dernier est un réservoir important et facilement accessible d'ASC par les techniques de liposuction utilisées en routine en chirurgie plastique [18].

Les données actuelles de la littérature montrent une grande hétérogénéité dans la description des CSM. Nous savons désormais que la culture induit des modifications dans l'expression de certains marqueurs de surface par rapport à leur état natif. Ainsi, les ASC perdent l'expression de la molécule CD34 [19] de même que les BM-MSc perdent l'expression de la molécule CD271 [20]. De plus, les propriétés fonctionnelles des CSM varient en fonction de l'origine tissulaire et de la méthode de production [21]. Il est ainsi probable qu'une partie de l'hétérogénéité des résultats cliniques obtenus avec les CSM soit due aux différences dans les procédés de production utilisés qui diffèrent en particulier par l'origine cellulaire, la durée et les conditions de culture [22,23]. De plus, les outils de contrôle des propriétés fonctionnelles des CSM doivent également être standardisés afin de pouvoir comparer les cellules utilisées en lien avec les résultats cliniques obtenus [24].

En culture, les ASC partagent avec les BM-MSc la capacité de se multiplier et de se différencier en adipocytes, ostéoblastes et chondrocytes. Elles possèdent aussi des capacités pro-angiogéniques supérieures aux BM-MSc, d'où leur utilisation actuelle dans des contextes d'ischémie des membres inférieurs [25]. De plus, ces cellules possèdent des propriétés fonctionnelles importantes dans l'inhibition des réponses inflammatoires et immunitaires [26]. L'ensemble de ces caractéristiques ont été définies à partir d'ASC obtenues en culture mais les ASC natives sont encore à l'heure actuelle mal connues. Elles possèdent des caractéristiques tout à fait spécifiques telle que l'expression *in vivo* du marqueur CD34 [27–29]. Ce marqueur combiné à l'absence d'expression de marqueurs hématopoïétiques et endothéliaux est important pour isoler prospectivement les ASC et les caractériser. Enfin, d'autres travaux récents suggèrent l'existence de plusieurs sous-populations stromales au sein du tissu adipeux [29] dont une population dite péricytaire en raison de sa localisation murale périvasculaire au contact des cellules endothéliales [30,31].

Ces données démontrent l'intérêt d'améliorer la caractérisation fine des cellules stromales natives du TA afin de mieux cerner son hétérogénéité et donc mieux appréhender à la fois l'intérêt thérapeutique de la présence de ces cellules en proportion variable dans un greffon de TA et à l'inverse le risque potentiel des procédures de transfert graisseux, en particulier chez les patients cancéreux. En effet, ces procédures possèdent, outre l'intérêt volumétrique, des avantages potentiels certains du fait de la présence d'ASC liés notamment à leur pouvoir anti-inflammatoire. Ce dernier favoriserait le remodelage harmonieux des tissus et le processus de cicatrisation via notamment l'accélération du phénomène de néoangiogenèse [32] ainsi que par la diminution de la sécrétion de cytokines profibrotiques comme démontré dans les brûlures [33]. Cependant, les CSM de moelle ont été décrites comme pouvant migrer vers les tumeurs dans des modèles murins et favoriser, via la production de facteurs trophiques et l'inhibition de la réponse immunitaire, le développement tumoral [34–36]. Dans le contexte des tumeurs mammaires, une étude récente suggère que les ASC pourraient favoriser la croissance des tumeurs actives [37] mais des résultats inverses ont également été rapportés dans le cadre de tumeurs pancréatiques [38].

Propriétés immunomodulatrices des CSM

De nos jours, il apparaît désormais évident que l'efficacité de l'injection de CSM dans différents modèles de lésions tissulaires et de maladies dysimmunitaires serait essentiellement due à un effet paracrine au cours duquel les CSM produiraient pendant une période courte des molécules anti-inflammatoires et immunosuppressives favorisant, en lien avec des facteurs trophiques, la régénération du tissu de l'hôte comme le montrent par exemple les résultats encourageants des essais dans le traitement des fistules anales compliquées dans la maladie de Crohn [39,40]. Les CSM sont particulièrement intéressantes en clinique du fait de leurs capacités à produire des facteurs trophiques et immunomodulateurs/immunosuppresseurs. Il existe beaucoup d'études rapportant des propriétés immunomodulatrices contrastées des CSM. Les résultats diffèrent *in vitro*, chez l'animal et chez l'homme. Parmi les éléments avérés, les CSM ne sont pas constitutivement immunosuppressives mais acquièrent ces propriétés après stimulation par des signaux inflammatoires du microenvironnement tels que les cytokines inflammatoires IFN- γ ou TNF- α . Par ailleurs, les CSM sont peu immunogènes car, *in vitro*, elles n'activent pas les lymphocytes T allogéniques. Néanmoins, elles ne sont pas immuno-privilégiées, c'est-à-dire qu'elles peuvent être reconnues par le système immunitaire d'un hôte allogénique et sont ainsi susceptibles d'être détruites par certains effecteurs comme les lymphocytes NK (natural killer) activés [41]. Leurs effets ne sont pas HLA-restreints, c'est-à-dire que les CSM exercent leurs propriétés suppressives quel que soit le génotype HLA des cellules immunitaires du receveur [42]. Elles agissent sur tous les effecteurs de l'immunité innée et adaptative (Fig. 1) et altèrent la prolifération cellulaire (blocage en phase G0/G1 du cycle cellulaire [43]) et d'autres fonctionnalités des cellules immunitaires. Elles inhibent ainsi la prolifération, la cytotoxicité et la production d'IFN- γ des lymphocytes T et des cellules NK [44]. Elles permettent d'orienter la polarisation des macrophages d'un phénotype pro-inflammatoire à un phénotype anti-inflammatoire favorisant la régénération tissulaire [45,46]. Les CSM inhibent également la prolifération des lymphocytes B uniquement après activation par l'IFN- γ et peuvent altérer également leur différenciation en cellules plasmocytaires [47–49]. De plus, les CSM ont aussi été décrites comme induisant la différenciation d'autres cellules immunosuppressives comme les lymphocytes T régulateurs [50–52]. Elles peuvent enfin altérer la différenciation et la maturation des cellules dendritiques [53].

Les mécanismes d'action des CSM sont multiples et pour la plupart inductibles par des facteurs solubles [24]. Ainsi, les CSM synthétisent l'enzyme immunosuppressive indoleamine-2,3 dioxygénase (IDO) qui catabolise le tryptophane en kynurénine [54]. Cette molécule cruciale pour l'inhibition de prolifération des lymphocytes T effecteurs par les CSM humaines agit par déplétion du milieu en un acide aminé essentiel, le tryptophane, et en produisant la kynurénine, qui est toxique pour les lymphocytes T. Nous savons désormais que le pourcentage d'inhibition de prolifération des lymphocytes T est corrélé à l'augmentation du ratio kynurénine/tryptophane qui reflète l'activité IDO [21]. Par ailleurs, les CSM produisent l'enzyme cyclo-oxygénase 2 (COX-2) qui participe à la synthèse de prostaglandine E2 (PGE2) à partir

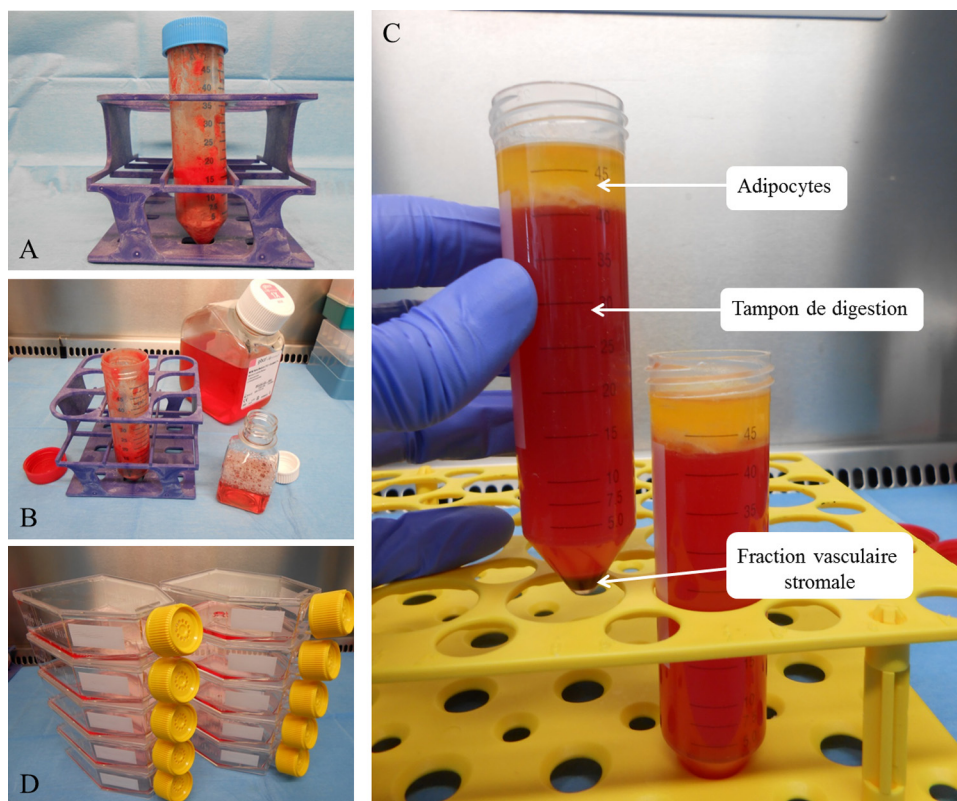


Figure 1 Obtention de la fraction vasculaire stromale. A. Prélèvement de tissu adipeux. B. Préparation d'un tampon de digestion contenant des enzymes protéolytiques. C. Après digestion et centrifugation, nous obtenons 3 phases de haut en bas : les adipocytes, le tampon de digestion, la fraction vasculaire stromale. D. Mise en culture de la fraction vasculaire stromale pour obtenir des ASC en culture.

de l'acide arachidonique. La PGE2, en association avec IDO, participe à l'inhibition de prolifération des cellules NK [41]. Après exposition au $TNF-\alpha$, les CSM sécrètent la protéine TSG-6 (*TNF- α stimulated gene/protein 6*) qui agit par un rétro-contrôle négatif sur les macrophages en diminuant leur synthèse de facteurs pro-inflammatoires, ce qui diminue notamment le recrutement de polynucléaires neutrophiles au sein des tissus lésés [55,56]. Par ailleurs, TSG-6, de par son puissant effet anti-inflammatoire, a démontré chez la souris une diminution du territoire infarcté dans l'infarctus du myocarde [57] en réduisant les effets délétères d'une inflammation excessive liée à l'infiltration massive de polynucléaires neutrophiles. Les CSM produisent aussi une isoforme particulière de HLA, HLA-G5, qui serait responsable de la production des lymphocytes T régulateurs [50]. De façon importante, et bien que les CSM de souris exercent les mêmes propriétés immunosuppressives et anti-inflammatoires que les CSM humaines, les mécanismes impliqués diffèrent fortement selon les espèces, démontrant l'importance des études menées à partir de tissus humains [58].

Isolement de la fraction vasculaire stromale

In vivo, les ASC sont enchâssées entre les adipocytes au sein de la matrice extracellulaire. Pour les étudier mais aussi pour les amplifier in vitro, il convient de digérer cette matrice extracellulaire par des enzymes protéolytiques. Le TA doit

être digéré à 37 °C pendant une durée qui varie selon les auteurs dans un tampon qui contient de la collagénase afin de digérer les fibres de collagène de la matrice extracellulaire (Fig. 2). Une fois tous les composants cellulaires séparés, il convient de centrifuger le produit de la digestion enzymatique afin d'en extraire la fraction vasculaire stromale (FVS) qui contient toutes les cellules hormis les adipocytes. En effet, le prélèvement se divise en 3 phases avec de haut en bas : les adipocytes, le milieu de digestion et enfin la FVS contenant les cellules hématopoïétiques, les cellules endothéliales et les cellules stromales (Fig. 2C). L'amplification des ASC à visée clinique met ensuite en jeu une étape de culture (Fig. 2D) dans des conditions standards de bonnes pratiques de fabrication, ces cellules étant considérées comme des médicaments de thérapie innovante [59]. Différents milieux de culture ont été proposés, utilisant essentiellement une association de sérum de veau fœtal (SVF) supplémenté éventuellement en facteurs de croissance, en particulier du *basic fibroblast growth factor* (bFGF) ou du lysat plaquettaire [60]. Au-delà de l'évaluation de leur efficacité clinique, pour laquelle il n'existe pas aujourd'hui de marqueurs prédictifs simple, la question de la sécurité d'utilisation de ces cellules a été posée récemment, notamment du fait de la publication de travaux suggérant leur possibilité d'immortalisation après culture à long terme. Il est important de noter que ces travaux ont été rétractés suite à la mise en évidence de problèmes expérimentaux et qu'à l'inverse, de nombreuses études démontrent depuis que, si les BM-MS et les ASC peuvent

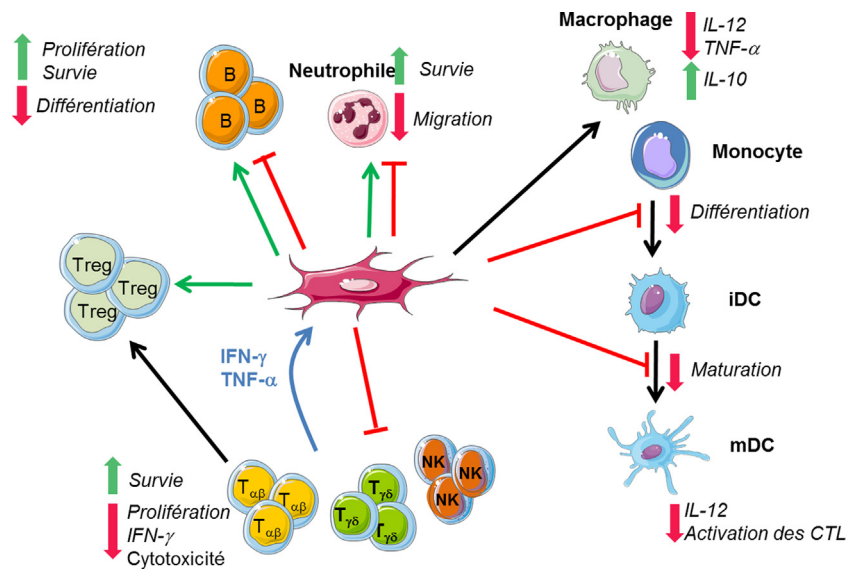


Figure 2 Effet immunosuppresseur des CSM sur les différents acteurs de l'immunité. B : lymphocyte B ; iDC : cellule dendritique immature ; mDC : cellule dendritique mature ; NK : cellules *natural killer* ; CTL : lymphocyte T cytotoxique ; Treg : lymphocyte T régulateur ; IL-12 : interleukine 12 ; TNF- α : *tumor necrosis factor alpha* ; IFN- γ : interféron-gamma.

présenter des altérations caryotypiques *in vitro*, ces altérations ne sont pas associées à une transformation cancéreuse mais plutôt à une entrée en sénescence [61,62]. De plus, il est important de souligner que l'ensemble des données obtenues à ce jour suggère que les CSM ne persistent pas *in vivo* chez l'individu immunocompétent, et qu'aucun cancer secondaire n'a été rapporté chez les milliers de patients déjà traités par ces cellules, ce qui suggère l'absence de risque de cancérogenèse indirecte. Sur cette base, les essais cliniques se poursuivent avec un encadrement réglementaire strict et en tenant compte de la balance bénéfique/risque de l'utilisation de ces cellules en fonction du contexte clinique [63].

Perspectives cliniques des BM-ASC et des ASC

L'utilisation clinique des CSM est en plein développement sur la dernière décennie. Cet engouement exponentiel dans des disciplines très variées (hématologie, proctologie, cardiologie, neurologie, orthopédie...) reposait initialement sur le concept de cellule « souche », c'est-à-dire qu'une cellule est capable de s'autorenouveler, de proliférer, ainsi que de se différencier en une multitude de types cellulaires. De nombreuses études ont indiqué que les CSM pourraient être utilisées en médecine réparatrice dans des contextes cliniques très divers, suscitant un engouement médical et médiatique fantastique fondé initialement sur leurs propriétés de différenciation. Cependant, leur rétention massive au niveau pulmonaire lors d'injections intraveineuses couplées à leur faible persistance au sein des tissus cibles [57,64,65] et à la mise en évidence de capacités limitées de transdifférenciation en cellules matures fonctionnelles *in vivo* ont conduit à une réévaluation de leurs mécanismes d'action. L'utilisation clinique actuelle de ces cellules est basée sur leurs propriétés

à produire des facteurs trophiques et immunosuppresseurs. Même si tous les mécanismes d'action de ces cellules ne sont pas encore connus à ce jour, la connaissance de leurs propriétés immunosuppresseuses a fortement avancé. De plus, nous savons désormais que la grande hétérogénéité de leurs effets thérapeutiques rapportés dans la littérature dépend de multiples facteurs liés à la fois aux CSM, aux cellules immunitaires, mais aussi à la façon de les produire et de les étudier (cf. Fig. 3). À l'heure actuelle, il faut améliorer la compréhension de leurs mécanismes d'action afin d'assurer la sécurité des patients entrant dans des protocoles liés à l'utilisation des CSM.

Les applications cliniques liées à la présence de ces cellules sont actuellement en pleine expansion en médecine régénérative et réparatrice. Les chirurgiens plasticiens peuvent et doivent y prendre un rôle essentiel. Il convient de distinguer deux grands types d'indications, à savoir le transfert de tissu adipeux (contenant des ASC natives) et la thérapie cellulaire (ASC amplifiées en culture).

L'objectif du transfert de tissu adipeux est double. Dans tous les cas, il permet de corriger un défaut de volume d'origine congénitale, traumatique, ou médicamenteuse (lipodystrophie liée aux traitements antirétroviraux par exemple) ou lié à l'âge rendant cette technique très attractive en chirurgie reconstructrice. En effet, elle est notamment utilisée pour le traitement des anomalies congénitales du sein entraînant une hypoplasie mammaire [66], pour des augmentations mammaires à visée esthétique [67] et pour des corrections du traitement conservateur du sein [68]. Dans cette dernière indication, c'est d'ailleurs la seule option chirurgicale à l'heure actuelle dans la majeure partie des cas. Par ailleurs, du fait de la présence des ASC dans le tissu adipeux, son transfert est utilisé en régénération tissulaire et agirait à la fois par support de la néoangiogenèse comme dans les radiodermites [32] mais aussi par réduction de l'inflammation et de la fibrose comme dans les brûlures [33] et dans le traitement des excès de cicatrisation [69]. De

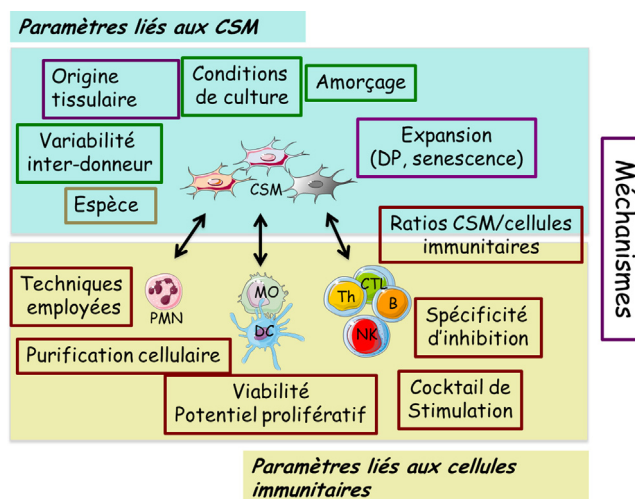


Figure 3 Critères à prendre en compte pour analyser les effets immunosuppresseurs des CSM. Illustration issue de la revue de Ménard et al. [24]. Afin d'étudier finement et de façon reproductible les effets immunosuppresseurs des MSC, il faut prendre en compte de multiples paramètres liés aux CSM mais aussi des paramètres liés aux cellules immunitaires. La standardisation de ces paramètres est indispensable pour assurer la reproductibilité des résultats issus de l'étude des CSM. CSM : *mesenchymal stem/stromal cells* ; DP : doublement de population ; PMN : polynucléaire neutrophile ; MO : monocyte/macrophage ; DC : cellule dendritique ; B : lymphocyte B ; NK : cellules *natural killer* ; CTL : lymphocyte T cytotoxique ; Th : lymphocyte T helper.

par leurs effets anti-inflammatoires, ces cellules possèderaient des propriétés antalgiques mises à profit dans le traitement des douleurs chroniques post-mastectomie par transfert de graisse [70].

Une des problématiques des transferts graisseux liée aux propriétés immunosuppressives des CSM est le risque potentiel sur la croissance tumorale et le développement métastatique. En effet, plusieurs équipes ont montré que ces cellules étaient capables de migrer vers les sites inflammatoires dont les tumeurs [71]. Concernant les tumeurs mammaires, Karnoub et al. [35] ont démontré que les BM-MSK injectées à proximité de cellules cancéreuses chez la souris augmentaient de manière spectaculaire (de 2 à 7 fois) la dissémination métastatique pulmonaire, en lien avec la production de la chimiokine CCL5 par les BM-MSK recrutant les cellules tumorales par le biais de son récepteur CCR5. Cette étude et d'autres suggèrent un risque de rechute potentiel lié aux transferts graisseux dans le sein. De plus, les propriétés immunosuppressives des CSM pourraient diminuer la surveillance immunitaire cellulaire comme rapporté au sujet des lymphocytes T CD8⁺ dans un modèle de mélanome chez la souris [72]. À ce jour, un seul essai prospectif multicentrique chez l'homme tend à conclure à l'efficacité et à la sécurité de cette technique de reconstruction des séquelles du traitement conservateur du sein. Cependant, cette étude non contrôlée ne portait que sur des tumeurs à faible risque de récurrence (T2N0M0) et le suivi post-opératoire ne portait que sur 12 mois, ce qui est insuffisant pour tirer la moindre conclusion quant à l'innocuité de cette technique. Cela d'autant plus que plusieurs cas de récurrence dont des formes agressives de cancer du sein ont été décrits après *lipofilling* [73–76].

La thérapie cellulaire par CSM consiste, quant à elle, à extraire, purifier et réaliser une expansion *in vitro* de ces cellules avant de les injecter au patient, soit localement, soit par voie intraveineuse, de façon autologue ou

allogénique. L'objectif est d'obtenir un effet trophique, anti-inflammatoire ou immunosuppresseur. Les ASC représentent une voie d'avenir importante dans cette optique car, à la différence des BM-MSK, l'obtention du tissu source est facile en grande quantité par des techniques mini-invasives de liposuction utilisées en routine dans les services de chirurgie plastique et reconstructrice. De plus, la fréquence des ASC dans le tissu adipeux est beaucoup plus importante (de 100 à 500 fois) que les CSM dans la moelle osseuse [77]. La production d'ASC de grade clinique nécessite au minimum 2 temps opératoires (prélèvement puis réinjection après la phase de culture) et une structure lourde associant un service clinique et une unité de thérapie cellulaire.

Ces cellules ont démontré un intérêt clinique particulier dans le traitement des maladies inflammatoires et dysimmunitaires de par leurs propriétés immunomodulatrices/immunosuppressives. Plusieurs essais cliniques de phase I à III ont été menés avec succès dans des pathologies particulièrement graves. Le premier succès de thérapie cellulaire par CSM rapporté dans la littérature a eu lieu en hématologie. En effet, les CSM ont permis d'améliorer le contrôle de la maladie du greffon contre l'hôte (GVH) aiguë cortico-résistante (grade IV), complication survenant dans les suites d'une greffe de cellules souches hématopoïétiques allogéniques et qui met en jeu le pronostic vital des patients atteints. Après un premier succès chez un enfant de 9 ans [78], Le Blanc et al. ont réalisé un essai multicentrique de phase II incluant 55 patients atteints de GVH aiguë de grade II à IV et résistante aux corticoïdes à forte dose (2 mg/kg/jour). Ces patients ont été traités par BM-MSK allogéniques, ce qui a permis d'obtenir 27 réponses complètes et 2 partielles. Au total, grâce à l'effet immunosuppresseur des CSM, 38 % des patients étaient vivants lors de l'évaluation de l'étude [39]. Le premier cas rapporté de guérison de GVH cortico-résistante par injection d'ASC allogéniques date quant à lui de 2006 [79]. Les propriétés immunomodulatrices des ASC ont

aussi servi de rationnel à des traitements basés sur l'utilisation de FVS totale. Cette dernière stratégie a d'ailleurs été utilisée, avec succès, avec des injections intraveineuses et intrathécales dans le traitement des malades atteints de sclérose en plaque [80]. L'efficacité clinique ne s'accompagnait pas d'amélioration sur les imageries cérébrales de contrôle. Pourtant, les traitements de fond ont pu être fortement allégés. La même équipe rapporte des succès similaires avec cellules de la FVS dans la polyarthrite rhumatoïde [81].

Enfin, c'est dans le traitement des fistules anales complexes dans le cadre de la maladie de Crohn que l'utilisation clinique des ASC est à l'heure actuelle la plus avancée. Le premier essai rapportant l'efficacité et la sécurité de la thérapie cellulaire par ASC portait sur le traitement des fistules anales sur 4 patients atteints de la maladie de Crohn. Cette équipe rapportait 3 succès sur 4 de cicatrisation démontrant la faisabilité et l'efficacité de cette stratégie thérapeutique [82]. Ils ont depuis réalisé un essai multicentrique contrôlé de phase II sur 35 patients obtenant la cicatrisation dans 71 % des cas dans le groupe ASC versus 16 % dans le groupe témoin avec une amélioration de la qualité de vie dans le groupe ASC [40]. Leur essai multicentrique de phase III sur 200 patients ne montrait pas de différence entre les groupes. Cependant, le rôle de la courbe d'apprentissage de la technique était non négligeable puisque le taux de succès dans le groupe ASC était statistiquement plus élevé que dans le groupe témoin dans le centre de référence [83]. Des résultats similaires ont été observés avec des BM-MSc chez 10 patients atteints de maladie de Crohn [51]. De manière intéressante, cette étude avait observé un taux de lymphocytes T régulateurs augmenté pendant le traitement, à la fois au niveau de la muqueuse et dans la circulation générale. L'apparition de cette population régulatrice était imputée au traitement par CSM.

Conclusion

En conclusion, les CSM représentent une voie d'avenir en médecine réparatrice que ce soit par les techniques de comblement de tissu graisseux autologue, de *lipofilling* enrichi en cellule de la fraction vasculaire stromale ou de thérapie cellulaire. Ces cellules, de par leur action paracrine, permettent la néoangiogenèse, une action anti-inflammatoire et trophique, et favorisent ainsi la régénération tissulaire. Cependant, leur utilisation en contexte carcinologique comme l'utilisation du tissu adipeux pour la correction de dépression en reconstruction mammaire, suscite encore des controverses. En effet, au vu du puissant effet immunosuppresseur des ASC in vitro en particulier sur les lymphocytes T, il convient de rester très prudent sur les indications opératoires. Rappelons qu'actuellement la Société française de chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique (SFCPRE) déconseille l'utilisation des transferts graisseux au niveau du sein controlatéral à celui ayant subi la mastectomie totale curative. De plus, les recommandations de la SOFCPRE (http://www.plasticiens.fr/exerciceProfessionnel/recommandations/graisse_sein_FIN.pdf#zoom=75) sont de respecter un délai minimum de 3 ans avant d'utiliser les transferts graisseux pour corriger les séquelles du traitement conservateur du cancer du sein,

recommandations qui, par ailleurs, nous semblent avisées. En effet, en cancérologie, un délai de 5 ans sans récurrence est nécessaire pour parler de rémission. Étant donné que les données expérimentales ne sont pas toutes extrapolables à l'homme, seules des études cliniques prospectives randomisées permettront de trancher définitivement sur l'innocuité de ces procédures.

Déclaration d'intérêts

Les auteurs déclarent qu'ils n'ont aucun conflit d'intérêt en lien avec cet article.

Références

- [1] Bluher M. Clinical relevance of adipokines. *Diab Metab J* 2012;36:317–27.
- [2] Lehr S, Hartwig S, Sell H. Adipokines: a treasure trove for the discovery of biomarkers for metabolic disorders. *Proteomics Clin Appl* 2012;6:91–101.
- [3] Hausman DB, DiGirolamo M, Bartness TJ, Hausman GJ, Martin RJ. The biology of white adipocyte proliferation. *Obes Rev* 2001;2:239–54.
- [4] Arner E, Westermark PO, Spalding KL, et al. Adipocyte turnover: relevance to human adipose tissue morphology. *Diabetes* 2010;59:105–9.
- [5] Jo J, Gavrilova O, Pack S, et al. Hypertrophy and/or hyperplasia: dynamics of adipose tissue growth. *PLoS Comput Biol* 2009;5:e1000324.
- [6] Spalding KL, Arner E, Westermark PO, et al. Dynamics of fat cell turnover in humans. *Nature* 2008;453:783–7.
- [7] Gimble JM, Katz AJ, Bunnell BA. Adipose-derived stem cells for regenerative medicine. *Circ Res* 2007;100:1249–60.
- [8] Krampera M. Mesenchymal stromal cell "licensing": a multi-step process. *Leukemia*;25:1408–14.
- [9] Ye J. Emerging role of adipose tissue hypoxia in obesity and insulin resistance. *Int J Obes (Lond)* 2009;33:54–66.
- [10] Ye J, McGuinness OP. Inflammation during obesity is not all bad: evidence from animal and human studies. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2013;304:E466–77.
- [11] Ye J, Gimble JM. Regulation of stem cell differentiation in adipose tissue by chronic inflammation. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2011;38:872–8.
- [12] Patel PS, Buras ED, Balasubramanyam A. The role of the immune system in obesity and insulin resistance. *J Obes* 2013;2013:616193.
- [13] Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat Rev Immunol* 2011;11:85–97.
- [14] Friedenstein AJ, Deriglasova UF, Kulagina NN, et al. Precursors for fibroblasts in different populations of hematopoietic cells as detected by the in vitro colony assay method. *Exp Hematol* 1974;2:83–92.
- [15] Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* 2006;8:315–7.
- [16] Horwitz EM, Le Blanc K, Dominici M, et al. Clarification of the nomenclature for MSC: The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* 2005;7:393–5.
- [17] Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng* 2001;7:211–28.
- [18] Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell* 2002;13:4279–95.

- [19] Yoshimura K, Shigeura T, Matsumoto D, et al. Characterization of freshly isolated and cultured cells derived from the fatty and fluid portions of liposuction aspirates. *J Cell Physiol* 2006;208:64–76.
- [20] Schäck LM, Noack S, Weist R, Jagodzinski M, Krettek C, Buettner M, Hoffmann A. Analysis of surface protein expression in human bone marrow stromal cells: new aspects of culture-induced changes, inter-donor differences and intracellular expression. *Stem cells Dev* 2013;22(24):3226–35.
- [21] Menard C, Pacelli L, Bassi G, et al. Clinical-Grade Mesenchymal Stromal Cells Produced Under Various Good Manufacturing Practice Processes Differ in Their Immunomodulatory Properties: Standardization of Immune Quality Controls. *Stem cells Dev* 2013;22:1789–801.
- [22] Francois M, Galipeau J. New insights on translational development of mesenchymal stromal cells for suppressor therapy. *J Cell Physiol* 2012;227:3535–8.
- [23] Galipeau J. The mesenchymal stromal cells dilemma – Does a negative phase III trial of random donor mesenchymal stromal cells in steroid-resistant graft-versus-host disease represent a death knell or a bump in the road? *Cytotherapy* 2013;15:2–8.
- [24] Menard C, Tarte K. Immunoregulatory properties of clinical-grade mesenchymal stromal cells: evidence, uncertainties, and clinical application. *Stem Cell Res Ther* 2013;4:64.
- [25] Planat-Benard V, Silvestre JS, Cousin B, et al. Plasticity of human adipose lineage cells toward endothelial cells: physiological and therapeutic perspectives. *Circulation* 2004;109:656–63.
- [26] Puissant B, Barreau C, Bourin P, et al. Immunomodulatory effect of human adipose tissue-derived adult stem cells: comparison with bone marrow-mesenchymal stem cells. *Br J Haematol* 2005;129:118–29.
- [27] Li H, Zimmerlin L, Marra KG, Donnenberg VS, Donnenberg AD, Rubin JP. Adipogenic potential of adipose stem cell subpopulations. *Plast Reconstruct Surg* 2011;128:663–72.
- [28] Maumus M, Peyrafitte JA, D’Angelo R, et al. Native human adipose stromal cells: localization, morphology and phenotype. *Int J Obes (Lond)* 2011;35:1141–53.
- [29] Zimmerlin L, Donnenberg VS, Rubin JP, Donnenberg AD. Mesenchymal markers on human adipose stem/progenitor cells. *Cytometry Part A* 2013;83:134–40.
- [30] Crisan M, Yap S, Casteilla L, et al. A perivascular origin for mesenchymal stem cells in multiple human organs. *Cell Stem Cell* 2008;3:301–13.
- [31] Corselli M, Chen CW, Sun B, Yap S, Rubin JP, Peault B. The tunica adventitia of human arteries and veins as a source of mesenchymal stem cells. *Stem cells Dev* 2012;21:1299–308.
- [32] Rigotti G, Marchi A, Galie M, et al. Clinical treatment of radiotherapy tissue damage by lipoaspirate transplant: a healing process mediated by adipose-derived adult stem cells. *Plast Reconstruct Surg* 2007;119:1409–22 [Discussion 23-4].
- [33] Sultan SM, Barr JS, Butala P, et al. Fat grafting accelerates revascularisation and decreases fibrosis following thermal injury. *J Plast Reconstruct Aesthet Surg* 2012;65:219–27.
- [34] Dwyer RM, Potter-Beirne SM, Harrington KA, et al. Monocyte chemotactic protein-1 secreted by primary breast tumors stimulates migration of mesenchymal stem cells. *Clin Cancer Res* 2007;13:5020–7.
- [35] Karnoub AE, Dash AB, Vo AP, et al. Mesenchymal stem cells within tumour stroma promote breast cancer metastasis. *Nature* 2007;449:557–63.
- [36] Mishra PJ, Humeniuk R, Medina DJ, et al. Carcinoma-associated fibroblast-like differentiation of human mesenchymal stem cells. *Cancer Res* 2008;68:4331–9.
- [37] Zimmerlin L, Donnenberg AD, Rubin JP, Basse P, Landreneau RJ, Donnenberg VS. Regenerative therapy and cancer: in vitro and in vivo studies of the interaction between adipose-derived stem cells and breast cancer cells from clinical isolates. *Tissue Eng Part A* 2011;17:93–106.
- [38] Cousin B, Ravet E, Poglio S, et al. Adult stromal cells derived from human adipose tissue provoke pancreatic cancer cell death both in vitro and in vivo. *PLoS one* 2009;4:e6278.
- [39] Le Blanc K, Frassoni 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;371:1579–86.
- [40] Garcia-Olmo D, Herreros D, Pascual I, et al. Expanded adipose-derived stem cells for the treatment of complex perianal fistula: a phase II clinical trial. *Dis Colon Rectum* 2009;52:79–86.
- [41] Spaggiari GM, Capobianco A, Abdelrazik H, Becchetti F, Mingari MC, Moretta L. Mesenchymal stem cells inhibit natural killer-cell proliferation, cytotoxicity, and cytokine production: role of indoleamine 2,3-dioxygenase and prostaglandin E2. *Blood* 2008;111:1327–33.
- [42] Le Blanc K, Tammik L, Sundberg B, Haynesworth SE, Ringden O. Mesenchymal stem cells inhibit and stimulate mixed lymphocyte cultures and mitogenic responses independently of the major histocompatibility complex. *Scand J Immunol* 2003;57:11–20.
- [43] Glennie S, Soeiro I, Dyson PJ, Lam EW, Dazzi F. Bone marrow-mesenchymal stem cells induce division arrest anergy of activated T-cells. *Blood* 2005;105:2821–7.
- [44] Prigione I, Benvenuto F, Bocca P, Battistini L, Uccelli A, Pistoia V. Reciprocal interactions between human mesenchymal stem cells and gamma delta T-cells or invariant natural killer T-cells. *Stem Cells* 2009;27:693–702.
- [45] Sica A, Mantovani A. Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas. *J Clin Invest* 2012;122:787–95.
- [46] English K. Mechanisms of mesenchymal stromal cell immunomodulation. *Immunol Cell Biol* 2013;91:19–26.
- [47] Krampera M, Cosmi L, Angeli R, et al. Role for interferon-gamma in the immunomodulatory activity of human bone marrow-mesenchymal stem cells. *Stem Cells* 2006;24:386–98.
- [48] Maby-El Hajjami H, Ame-Thomas P, Pangault C, et al. Functional alteration of the lymphoma stromal cell niche by the cytokine context: role of indoleamine-2,3-dioxygenase. *Cancer Res* 2009;69:3228–37.
- [49] Rafei M, Hsieh J, Fortier S, et al. Mesenchymal stromal cell-derived CCL2 suppresses plasma cell immunoglobulin production via STAT3 inactivation and PAX5 induction. *Blood* 2008;112:4991–8.
- [50] Selmani Z, Naji A, Zidi I, et al. Human leukocyte antigen-G5 secretion by human mesenchymal stem cells is required to suppress T lymphocyte and natural killer function and to induce CD4 + CD25highFOXP3 + regulatory T-cells. *Stem Cells* 2008;26:212–22.
- [51] Ciccocioppo R, Bernardo ME, Sgarella A, et al. Autologous bone marrow-derived mesenchymal stromal cells in the treatment of fistulising Crohn’s disease. *Gut* 2011;60:788–98.
- [52] Ciccocioppo R, Russo ML, Bernardo ME, et al. Mesenchymal stromal cell infusions as rescue therapy for corticosteroid-refractory adult autoimmune enteropathy. *Mayo Clin Proc* 2012;87:909–14.
- [53] Nauta AJ, Kruisselbrink AB, Lurvink E, Willemze R, Fibbe WE. Mesenchymal stem cells inhibit generation and function of both CD34 derived and monocyte-derived dendritic cells. *J Immunol* 2006;177:2080–7.
- [54] Meisel R, Zibert A, Laryea M, Gobel U, Daubener W, Dilloo D. Human bone marrow stromal cells inhibit allogeneic T-cell responses by indoleamine 2,3-dioxygenase-mediated tryptophan degradation. *Blood* 2004;103:4619–21.
- [55] Choi H, Lee RH, Bazhanov N, Oh JY, Prockop DJ. Anti-inflammatory protein TSG-6 secreted by activated MSCs attenuates zymosan-induced mouse peritonitis by decreasing TLR2/NF-kappaB signaling in resident macrophages. *Blood* 2011;118:330–8.

- [56] Prockop DJ, Oh JY. Mesenchymal stem/stromal cells (MSCs): role as guardians of inflammation. *Mol Ther* 2012;20:14–20.
- [57] Lee RH, Pulin AA, Seo MJ, et al. Intravenous hMSCs improve myocardial infarction in mice because cells embolized in lung are activated to secrete the anti-inflammatory protein TSG-6. *Cell Stem Cell* 2009;5:54–63.
- [58] Ren G, Su J, Zhang L, et al. Species variation in the mechanisms of mesenchymal stem cell-mediated immunosuppression. *Stem Cells* 2009;27:1954–62.
- [59] Sensebe L, Gadelorge M, Fleury-Cappellesso S. Production of mesenchymal stromal/stem cells according to good manufacturing practices: a review. *Stem Cell Res THER* 2013;4:66.
- [60] Sensebe L, Bourin P, Tarte K. Good manufacturing practices production of mesenchymal stem/stromal cells. *Human gene Therapy* 2011;22:19–26.
- [61] Sensebe L, Tarte K, Galipeau J, et al. Limited acquisition of chromosomal aberrations in human adult mesenchymal stromal cells. *Cell stem cell* 2012;10:9–10 [author reply -1].
- [62] Tarte K, Gaillard J, Lataillade JJ, et al. Clinical-grade production of human mesenchymal stromal cells: occurrence of aneuploidy without transformation. *Blood* 2010;115:1549–53.
- [63] Barkholt L, Flory E, Jekerle V, et al. Risk of tumorigenicity in mesenchymal stromal cell-based therapies – bridging scientific observations and regulatory viewpoints. *Cytotherapy* 2013;15:753–9.
- [64] Barbash IM, Chouraqui P, Baron J, et al. Systemic delivery of bone marrow-derived mesenchymal stem cells to the infarcted myocardium: feasibility, cell migration, and body distribution. *Circulation* 2003;108:863–8.
- [65] Ortiz LA, Gambelli F, McBride C, et al. Mesenchymal stem cell engraftment in lung is enhanced in response to bleomycin exposure and ameliorates its fibrotic effects. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:8407–11.
- [66] Pinsolle V, Chichery A, Grolleau JL, Chavoïn JP. Autologous fat injection in Poland's syndrome. *J Plast Reconstruct aesthet Surg* 2008;61:784–91.
- [67] Zheng DN, Li QF, Lei H, et al. Autologous fat grafting to the breast for cosmetic enhancement: experience in 66 patients with long-term follow up. *J Plast Reconstruct aesthet Surg* 2008;61:792–8.
- [68] Petit JY, Lohsiriwat V, Clough KB, et al. The oncologic outcome and immediate surgical complications of lipofilling in breast cancer patients: a multicenter study – Milan-Paris-Lyon experience of 646 lipofilling procedures. *Plast Reconstruct Surg* 2011;128:341–6.
- [69] Caviggioli F, Maione L, Vinci V, Klinger M. The most current algorithms for the treatment and prevention of hypertrophic scars and keloids. *Plast Reconstruct Surg* 2010;126:1160–1 [Author reply 1-2].
- [70] Caviggioli F, Maione L, Forcellini D, Klinger F, Klinger M. Autologous fat graft in postmastectomy pain syndrome. *Plast Reconstruct Surg* 2011;128:349–52.
- [71] Kidd S, Spaeth E, Dembinski JL, et al. Direct evidence of mesenchymal stem cell tropism for tumor and wounding micro-environments using in vivo bioluminescent imaging. *Stem Cells* 2009;27:2614–23.
- [72] Djouad F, Plence P, Bony C, et al. Immunosuppressive effect of mesenchymal stem cells favors tumor growth in allogeneic animals. *Blood* 2003;102:3837–44.
- [73] Chaput B, Foucras L, Le Guellec S, Grolleau JL, Garrido I. Recurrence of an invasive ductal breast carcinoma 4 months after autologous fat grafting. *Plast Reconstruct Surg* 2013;131:123e–4e.
- [74] Chaput B, Grolleau JL, Bertheuil N, Eburderly H, Chavoïn JP, Garrido I. Another suspected case of breast cancer recurrence after lipofilling? Remain cautious, *Journal of plastic reconstructive & aesthetic surgery: JPRAS* 2014;67(8):1156–7.
- [75] Coleman SR, Saboeiro AP. Fat grafting to the breast revisited: safety and efficacy. *Plast Reconstruct Surg* 2007;119:775–85 [Discussion 86-7].
- [76] Smit JM, Tielemans HJ, de Vries B, Tuinder SM. Recurrence of invasive ductal breast carcinoma 10 months after autologous fat grafting. *J Plast Reconstruct Aesthet Surg* 2014;67:e127–8.
- [77] Charbord P, Casteilla L. [Human mesenchymal stem cell biology]. *Med Sci* 2011;27:261–7.
- [78] 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;363:1439–41.
- [79] Fang B, Song YP, Liao LM, Han Q, Zhao RC. Treatment of severe therapy-resistant acute graft-versus-host disease with human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. *Bone Marrow Transplant* 2006;38:389–90.
- [80] Riordan NH, Ichim TE, Min WP, et al. Non-expanded adipose stromal vascular fraction cell therapy for multiple sclerosis. *J Translat Med* 2009;7:29.
- [81] Rodriguez JP, Murphy MP, Hong S, et al. Autologous stromal vascular fraction therapy for rheumatoid arthritis: rationale and clinical safety. *Int Arch Med* 2012;5:5.
- [82] Garcia-Olmo D, Garcia-Arranz M, Herreros D, Pascual I, Peiro C, Rodriguez-Montes JA. A phase I clinical trial of the treatment of Crohn's fistula by adipose mesenchymal stem cell transplantation. *Dis Colon Rectum* 2005;48:1416–23.
- [83] Herreros MD, Garcia-Arranz M, Guadalajara H, De-La-Quintana P, Garcia-Olmo D. Autologous expanded adipose-derived stem cells for the treatment of complex cryptoglandular perianal fistulas: a phase III randomized clinical trial (FATT 1 fistula Advanced Therapy Trial 1) and long-term evaluation. *Dis Colon Rectum* 2012;55:762–72.