



Université Paris XI



Ecole Doctorale : Innovation thérapeutique du fondamental à l'appliqué

Année 2008

Equipe Mixte Inserm U 804

Laboratoire de transfert de gènes dans le foie :
Applications thérapeutiques
Bat : Grégory Pincus, 80 rue du Général Leclerc
94276 le Kremlin Bicêtre cedex

THESE

Pour l'obtention du Diplôme de **Doctorat d'état de l'Université Paris XI**

Spécialité : **Sciences chirurgicales**

Présenté par : **Lyes BOUDECHICHE**

TRANSPLANTATION D'HEPATOCYTES ADULTES

POUR UNE APPROCHE DE THERAPIE CELLULAIRE DES MALADIES HEPATIQUES :

AMELIORATION DE LA PRISE DE GREFFE

Soutenue le 09 octobre 2009 devant le jury composé du :

Pr. Dominique FRANCO

Président

Pr. Pierre CATTAN

Rapporteur

Dr. Nicolas FERY

Rapporteur

Dr. Michelle HADCHOUEL

Examineur

Pr. Ibrahim DAGHER

Directeur de thèse



Plan

PLAN

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES FIGURES

AVANT PROPOS

INTRODUCTION

Chapitre I : L'anatomie du foie

I. Le foie organe cible

1. Vascularisation hépatique
2. Structure du parenchyme hépatique
3. Organisation du parenchyme hépatique :
 - 3-1-Organisation structurale
 - 3-2-Organisation fonctionnelle
4. Capillaires sinusoides
5. Activités métaboliques du foie
 - 5-1-Rôle dans le métabolisme des glucides
 - 5-2-Rôle dans le métabolisme des lipides
 - 5-3-Rôle dans le métabolisme des protides
 - 5-4-Rôle de détoxification
 - 5-5-Sécrétion biliaire
 - 5-6-Capacité de régénération
 - 5-7-Rôle dans l'immunité
6. voies biliaires
 - 6-1-Voies biliaires intra hépatiques
 - 6-2-Voies biliaires extra hépatiques
 - 6-3-Modifications secondaires de la composition de la bile et excrétion biliaire
 - Transformation de la sécrétion biliaire
 - Stockage de la bile et régulation du débit biliaire
7. Histogenèse

Chapitre II : La transplantation d'hépatocytes

1. Les hépatites fulminantes
2. Les maladies hépatiques métaboliques héréditaires
3. La cirrhose
4. Les voies d'administration pour les hépatocytes
5. Nombre de cellules et fréquence d'administration
6. L'immunosuppression la plus efficace
7. La disponibilité limitée des hépatocytes humains
8. Fonctionnalité des cellules transplantées

Chapitre III : Les facteurs favorisant la greffe

I. Les modèles animaux

I. Modèles visant à détruire ou à bloquer les hépatocytes natifs

1. Modèles de destruction physique et/ou chimique
2. Modèles de « génotoxicité »
3. Inhibition du cycle cellulaire des hépatocytes natifs

II. Modèles visant à optimiser les hépatocytes transplantés

1. Optimiser les conditions d'isolement
2. La cryopréservation
3. Autres sources de cellules :
 - 3-1-Conditions d'emploi des cellules souches en Clinique
4. Augmenter la compétitivité des hépatocytes transplantés

III. Prolifération des hépatocytes transplantés

1. La régénération hépatique
 - 1-1-La phase d'initiation ou d'induction
 - 1-2-La phase de progression ou de régénération proprement dite :
 - 1-2-a-L'Epidermal Growth Factor (EGF)
 - 1-2-b-Le Transforming Growth Factor- α (TGF- α)
 - 1-2-c-L'Hepatocyte Growth Factor (HGF)
 - 1-3-L'apoptose hépatique compensatrice
2. Induction d'une régénération hépatique par une hépatectomie :

IV. Modèle d'obstruction portale

V. Facteurs de croissance

VI. Conclusion

Chapitre IV : Autres alternatives à la transplantation d'organe

1. Le foie bio artificiel
2. La xenotransplantation

Chapitre V : La souris mdr2-/-

1. Rôle de la glycoprotéine mdr2
2. Les anomalies sériques et l'analyse de la composition biliaire
3. La morphologie du foie
4. Modèle de la pathologie humaine
 - 4-1-La cholestase intra hépatique familiale type 3

Chapitre VI : Le Macaque Cynomolgus

- 1-Anatomie du foie de macaque
 - Description des lobes hépatiques
 - le lobe médian
 - le lobe latéral gauche
 - le lobe latéral droit
 - Le lobe caudé
 - Anatomie portale et biliaire
- 2-Le macaque,
Modèle d'autotransplantation d'hépatocytes
- 3-Anesthésie
- 4-Lobectomie latérale gauche
- 5-Accès chronique à la veine porte
- 6-Abord des branches portales
- 7-Isolement des hépatocytes par perfusion enzymatique
- 8-Marquage des hépatocytes isolés
- 9-Purification des hépatocytes marqués
- 10-Transplantation des hépatocytes marqués
- 11-Évaluation du nombre d'hépatocytes en division
- 12-Bilan biologique
- 13-Histologie hépatique
- 14-Etude volumétrique

Rationnel du travail :

RESULTATS

Chapitre I : Transplantation d'hépatocytes chez le primate

I. Efficient hepatocytes engraftment in a non human Primate model after portal vein embolization

1. Présentation de l'article
2. Article
3. Discussion

II. Liver regeneration and recanalisation time course following reversible portal vein embolization.

1. Présentation de l'article
2. Article
3. Discussion

Chapitre II : Transplantation d'hépatocytes chez la souris

I. Improvement of hepatocyte transplantation efficiency in the *mdr2*^{-/-} mouse model by glyceryl trinitrate.

1. Présentation de l'article
2. Article
3. Discussion

II. Increased engraftment of hepatic progenitors after activation of the hepatocyte growth factor signaling pathway by protein transduction

1. Présentation de l'article
2. Article
3. Discussion

III. In vivo imaging of transplanted hepatocytes with a 1.5 T Clinical MRI system-initial experience in mice.

1. Présentation de l'article
2. Article
3. Discussion

DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES

BIBLIOGRAPHIE

RESUME

Les progrès de la transplantation hépatique ont révolutionné le pronostic de plusieurs maladies du foie préalablement incurables. Néanmoins, cette intervention a des complications chirurgicales spécifiques et implique un traitement immunosuppresseur à vie. De plus, on assiste à une pénurie de greffons et le coût de cette intervention reste élevé. La transplantation d'hépatocytes isolés normaux ou génétiquement modifiés est une solution thérapeutique séduisante pour remplacer des cellules déficientes dans un foie anatomiquement normal.

Nous travaillons depuis plusieurs années sur des approches de thérapie cellulaire des maladies métaboliques hépatiques héréditaires et plus précisément sur l'hypercholestérolémie familiale et la choléstase intra hépatique familiale progressive. Un modèle de transplantation d'hépatocytes isolés chez le primate a été élaboré. Ce modèle nous a permis de détecter les facteurs d'échec et les limites de la transplantation d'hépatocytes isolés.

Nous avons étudiés pour améliorer les résultats de la transplantation d'hépatocytes et la prise de greffe: la vasodilatation et le marquage aux particules de nano fer chez le petit animal, l'embolisation portale partielle définitive à la colle Histoacryl® et l'embolisation portale partielle transitoire au Curaspon® dans notre modèle de primate.

Nous avons prouvé que cette vasodilatation médicamenteuse favorise le passage de microsphères calibrées et des hépatocytes transplantés injectées par voie portale vers les zones parenchymateuses distales dans un modèle de souris C57BL/6 et augmente le pourcentage définitif et la fonctionnalité des hépatocytes transplantés dans la correction du déficit dans le modèle de souris mdr2 (-/-) modèle de la choléstase intra hépatique familiale progressive type 3.

Nous avons mis au point une nouvelle technique de marquage des hépatocytes aux nanoparticules superparamagnétiques d'oxyde de fer dans le modèle de souris C57BL/6 pour l'amélioration de la prise de greffe ainsi que le suivi des hépatocytes transplantés et l'évaluation de leur fonctionnalité à long terme,

Nous avons perfectionné notre modèle pré clinique d'auto transplantation d'hépatocytes chez le primate en provoquant une régénération hépatique par des moyens peu invasifs, transposables à l'homme que sont l'embolisation portale partielle avec un matériau non résorbable qui est l'Histoacryl et par un procédé encore moins invasif qui est l'embolisation transitoire avec un matériau résorbable qui est le Curaspon®.

Ces résultats suggèrent que la les thérapies cellulaires pourraient être une orientation thérapeutique d'avenir.

Mots clés : Foie, Thérapie cellulaire, Transplantation, embolisation portale, vasodilatation.