



Le génie tissulaire : du rêve à la réalité

François A. Auger

F.A. Auger : Laboratoire d'organogenèse expérimentale, CHA, Pavillon Saint-Sacrement, 1050, chemin Sainte-Foy, Québec, Canada G1S 4L8.

« Il est dès maintenant possible d'observer in vitro, dans les bouteilles de verre du laboratoire, les premières étapes de la différenciation de cellules indifférenciées soumises aux inducteurs voulus. Il sera bientôt possible d'aller plus loin dans cette voie, d'obtenir des cellules, puis des organes hautement spécialisés, un foie, un cœur, un cartilage, un os. »

Pr Jean Bernard, 1973, *Grandeurs et tentations de la médecine*

► Le génie tissulaire apporte une solution originale aux problèmes liés aux transplantations d'organes. Les besoins en greffons de toutes sortes devraient en effet croître dans un proche avenir en raison du vieillissement de la population. Il s'agit d'un domaine de recherche extrêmement multidisciplinaire puisqu'il met en commun les connaissances de pointe dans des champs aussi variés que le génie biomédical, la biologie cellulaire, la biologie moléculaire, la génétique, l'immunologie, la microbiologie et la chirurgie. Le génie tissulaire devrait permettre de transformer en réalité ce qui était encore hier un rêve, la possibilité pour les êtres humains de disposer de « pièces de rechange » pour leur corps, au travers de cellules autologues transformées génétiquement, ou de tissus et d'organes reconstruits *in vitro*. ◀

Cette citation du Professeur Jean Bernard illustre à quel point un esprit clairvoyant peut voir au loin des perspectives extraordinaires là où d'autres ne voient qu'une morne ligne d'horizon sans relief. Il fallait une grande audace intellectuelle pour entrevoir, il y a plus d'un quart de siècle, le domaine de la reconstruction tissulaire que l'on nomme désormais le génie tissulaire.

La révolution du génie tissulaire s'annonce prometteuse à l'aube du XXI^e siècle car elle ouvre un nouveau chapitre dans les approches biomédicales contribuant à la diminution des souffrances humaines. De nombreux espoirs ont été soulevés par le génie tissulaire, et ne sauraient être jaugés avec justesse tant qu'une vision claire de ce domaine n'aura pas été présentée à la communauté scientifique et au grand public.

Si les années 1990 furent marquées par des progrès remarquables réalisés dans la recherche sur le cerveau, la prochaine décennie pourrait être

celle du génie tissulaire. Il est en effet très compréhensible que la génération des « baby boomers » se soit sentie particulièrement inquiétée par la perte de fonction cognitive de leurs parents. Il est singulièrement ironique pour ces « baby boomers » qui prépareraient activement leur retraite, de se voir éventuellement incapables d'en profiter pleinement le moment venu, à cause d'une maladie neurodégénérative comme la maladie d'Alzheimer. Cela explique, entre autres causes, l'effort particulier engagé à la fin du dernier millénaire pour développer de nouveaux médicaments susceptibles de traiter ce type de maladies. Cependant, un nouveau et cruel paradoxe ne manquera pas d'apparaître dès lors que les personnes âgées seront plus assurées de conserver leurs fonctions cérébrales intactes alors que le reste de leur organisme souffrira de défaillances. En effet, le corps humain, même avec un cerveau en excellente forme, sera victime de l'inéluctable outrage du temps.

Les maladies liées au passage des ans comme l'athérosclérose, l'arthrose, l'affaiblissement musculaire continueront à diminuer physiquement l'être humain. Le tableau ainsi brossé est plutôt sombre: un monde peuplé de personnes âgées saines d'esprit mais lourdement handicapées. Voilà sans doute un sort au moins aussi affligeant que de finir ses jours dans une ignorance béate du fait de la sénilité cérébrale. Cette vision préoccupante devrait être tempérée par le fait que les «baby boomers», fructifiant les actifs de leurs parents, seront financièrement plus avantagés que les générations précédentes. Comme il semble bien triste d'être riche et sain d'esprit lorsqu'on est confiné à un fauteuil roulant, les conditions scientifiques et économiques sont maintenant favorables à l'émergence d'organes de remplacement produits par génie tissulaire.

Jusqu'à maintenant, les organes de remplacement étaient obtenus par une transplantation classique. Il y a eu d'incroyables et magnifiques succès dans ce domaine. De nombreux patients à travers le monde ont pu être soignés grâce à différents types de transplantations: les greffes de foie, de moelle osseuse, de cœur, de poumon, de cornée, de reins, etc. [1-6]. Cependant, ces réussites remarquables sont aussi accompagnées par différents inconvénients. Un des exemples les plus frappants est la liste d'attente établie aux États-Unis pour les patients devant recevoir une transplantation hépatique, qui comprend plus de 30 000 personnes pour lesquelles cette greffe est le seul espoir de survie. Malheureusement, seulement 3 000 d'entre elles auront la chance de profiter de cette intervention. La situation est comparable pour bien d'autres organes. On se doit également de noter que des considérations d'ordre culturel interdisent dans différents pays dans le monde ce type de procédure chirurgicale. De plus, il s'est avéré au cours des dernières années que les transplantations d'organes présentaient un risque significatif de transmission de virus. Bien que des mesures aient été prises pour remédier à ce risque, le danger demeure. Il en est de même pour les xénotransplantations. Enfin, l'inconvénient majeur lié à ce type de transplantation réside dans l'obligation

qu'a le patient de suivre un traitement immunosuppresseur pour le reste de sa vie, avec tous les problèmes que cela comporte, même si certains patients développent une tolérance au greffon [7, 8].

Définition de la régénération et du génie tissulaire

Il y a une certaine confusion quant à la définition exacte du génie tissulaire au sens large. En fait, aucune définition ne peut décrire ce domaine de façon exhaustive. Les différentes approches utilisées donnent une meilleure vision d'ensemble de ce qu'est la régénération tissulaire et de la place précise qu'occupe le génie tissulaire, dont le but principal est la reconstruction tant des tissus que des organes humains. Ainsi, les progrès de la biologie laissent entrevoir la possibilité de reproduire des tissus biologiquement actifs au travers de trois approches: 1) la thérapie cellulaire; 2) le génie tissulaire; 3) les structures tridimensionnelles de guidage cellulaire.

La thérapie cellulaire permet d'ensemencer des cellules dans le corps humain, sous forme encapsulée ou non, ou dans un site isolé du système immunitaire. Cette technique permet de corriger un déficit sécrétoire, hormonal ou autre. Ainsi, c'est l'approche qui est privilégiée dans le traitement au long cours de maladies comme le diabète, par l'encapsulation et la greffe de cellules saines hétérologues des îlots de Langerhans. Ainsi, la capsule contenant les cellules hétérologues est perméable au glucose issu de l'hôte et à l'insuline produite par le greffon, tout en étant une barrière vis-à-vis du système immunitaire [9]. De même, la maladie de Parkinson a été traitée par des greffes allogéniques ou xénogéniques de neurones fœtaux permettant de corriger le déficit en dopamine caractéristique de cette maladie, sans nécessiter d'encapsulation puisque le système nerveux central est un «sanctuaire» immunologique relativement dépourvu de mécanisme de rejet [10, 11]. Une autre approche consiste à prélever des cellules autologues déficientes en un gène particulier, comme c'est le cas dans la dystrophie de Duchenne, dans laquelle

les cellules musculaires du patient sont déficientes en dystrophine, et à leur transférer *in vitro* ce gène avant de les réimplanter dans les muscles du patient [12, 13].

Par ailleurs, l'approche des structures tridimensionnelles de guidage cellulaire a pour objectif de baliser, en quelque sorte, le potentiel régénératif de l'organisme. Il s'agit de greffer des biomatériaux qui ne contiennent pas de cellules dans un tissu altéré pour en accélérer la guérison, et surtout favoriser une cicatrisation efficace. Ainsi, cette structure tridimensionnelle (une éponge ou un treillis de polymères, par exemple) sera colonisée après greffe par les cellules de l'hôte, et son architecture servira de guide au remodelage du tissu, pour que ce processus de cicatrisation conduise à un tissu fonctionnel plutôt qu'à un tissu fibreux non fonctionnel. Ce type d'approche a été utilisé entre autres pour le traitement des brûlures par greffe d'une éponge de collagène recouverte de silicone [14-16], ainsi qu'en odontologie pour combler les cavités osseuses et en chirurgie abdominale, pour renforcer le péritoine et éviter les adhérences entre paroi et intestins. Ainsi, un «moule» du tissu visé est créé avec les matériaux adéquats, qui sont enrichis ou non avec des molécules stimulant la croissance cellulaire. Ces biomatériaux se doivent d'être biocompatibles et biodégradables. Leur rôle est non seulement de favoriser la pénétration des cellules de façon ordonnée après greffe, et de les pousser à produire leur propre matrice extracellulaire pour reconstruire *in vivo* un tissu fonctionnel, mais peut être aussi de remplir en plus une fonction mécanique ou physiologique particulière (propriété anti-adhésive, hémostatique, fonction d'imperméabilité, etc.).

Enfin, il existe une définition consensuelle du génie tissulaire: le génie tissulaire est l'application de principes et méthodes du génie ainsi que des sciences de la vie dans le but de comprendre en profondeur les relations entre les structures et les fonctions dans des tissus normaux et de développer des substituts biologiques afin de restaurer, maintenir et améliorer la fonction de ces tissus. En résumé, le génie tissulaire est un nou-

veau domaine biomédical regroupant les principes de la biologie cellulaire et du génie biologique, qui permet de reconstruire des structures proches des tissus à partir de cellules vivantes pour des usages *in vivo* ou *ex vivo*.

Le concept-clé en est la reproduction, quoique avec des caractéristiques simplifiées, de l'architecture tissulaire, qui conduit à une intégration immédiate et interactive de ces tissus dans le corps humain. Ainsi, le domaine du génie tissulaire a démontré sa capacité technologique majeure par le développement d'organes reconstruits en laboratoire, en particulier dans le domaine de la peau et des vaisseaux sanguins [17], mais a également profité d'une poussée considérable due aux limites rencontrées par les techniques classiques de transplantation. La création d'organes adaptés aux besoins des patients, avec un bon contrôle de qualité est une réussite remarquable qui vient compléter l'arsenal thérapeutique de la médecine moderne. Il faut aussi préciser que ces substituts peuvent servir à diverses études *in vitro* [18-20]. Enfin, cette approche biotechnologique complète de façon très élégante d'autres traitements de haute technologie comme la thérapie génique et la libération contrôlée de médicaments.

L'impact de ce nouveau domaine promet donc d'être considérable, ce qui explique que le génie tissulaire produise un tel engouement, non seulement auprès du monde biomédical, mais aussi dans les sphères financières.

Approches du génie tissulaire

Trois principales méthodes peuvent être décrites.

La méthode fondée sur la production d'un gel de collagène a été la première à démontrer les vastes possibilités du génie tissulaire. Les premiers travaux réalisés dans le domaine de la reconstruction de peau ont mis en évidence que l'incorporation de fibroblastes dans un gel de collagène permettait de produire des équivalents dermiques pouvant être ensuite épidermisés par ensemencement de kératinocytes à leur surface [21, 22]. Le résultat final, une peau reconstruite vivante, peut atteindre un

excellent niveau de différenciation dans des conditions de culture adéquates (*figure 1*) [18]. De nombreux aspects de la différenciation terminale des kératinocytes peuvent ainsi être reproduits [23-28]. Cette méthode de reconstruction tissulaire s'est avérée applicable à de nombreux autres organes (comme la cornée, les ligaments, les bronches, le cartilage, etc.) pour des visées cliniques (transplantation) ou fondamentales (modélisation tissulaire *in vitro*) [29-31]. Cependant, il n'est pas certain que cette méthode permette d'obtenir des tissus ayant la résistance mécanique indispensable à leur application clinique [32-35].

Cet aspect plus mécanique est l'une des raisons qui ont conduit au développement d'une seconde approche, fondée sur l'utilisation de biomatériaux permettant l'implantation de cellules et leur culture *in vitro*. Ainsi, les cellules une fois incorporées dans ces supports sécrètent des quantités variables de matrice extracellulaire conduisant à la reconstruction d'une structure tissulaire proche du tissu d'origine, mais comprenant également la trame biodégradable du biomatériau (*figure 2*) [36-40]. La résis-

tance mécanique de ces tissus est indubitablement meilleure [41]; cependant, la présence d'un squelette biodégradable peut être un désavantage significatif, en particulier dans les organes pulsatiles comme les vaisseaux sanguins, en raison d'une incompatibilité de compliance mécanique entre les cellules et leur matrice extracellulaire d'une part, la structure du biomatériau d'autre part. De plus, le processus de dégradation de ces biomatériaux s'avère être plus complexe que ce qui avait été initialement prévu [42].

La troisième approche, lancée par notre groupe au LOEX (Laboratoire d'Organogenèse Expérimentale), est fondée sur une méthode différente. Cette méthode s'est inspirée de nombreuses observations que nous avons faites en reconstruisant divers organes avec les deux premières techniques exposées précédemment. Elle tire profit de la formidable propriété qu'ont la plupart des cellules humaines de reconstruire le tissu dont elles proviennent, pourvu qu'elles soient cultivées dans des conditions adéquates. La première et la plus importante propriété développée spontanément par ces cellules *in vitro*

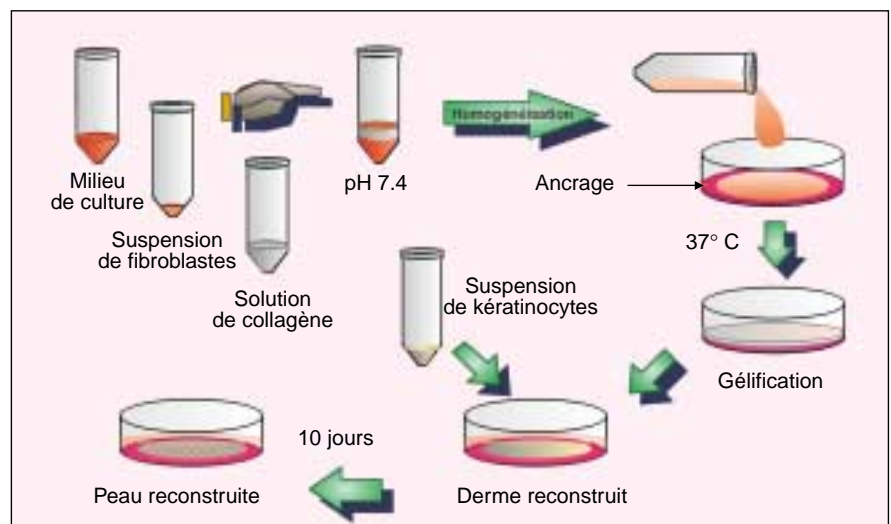


Figure 1. **Production in vitro d'une peau reconstruite à partir d'un gel de collagène.** Ce modèle est fondé sur la préparation d'un gel par mélange de collagène bovin de type I et III avec des fibroblastes humains. Le mélange ainsi obtenu est coulé dans une boîte de Pétri contenant un anneau de papier qui servira d'ancrage au gel. Après gélification, les fibroblastes exercent une traction sur le gel de collagène dont la contraction en surface est prévenue par l'ancrage à l'anneau de papier. Seule une contraction en épaisseur est alors observée. Des kératinocytes humains sont ensemencés 10 jours plus tard sur le derme ainsi obtenu, pour reconstruire un épiderme qui est sur-élevé à l'interface air-liquide pour subir une maturation additionnelle.

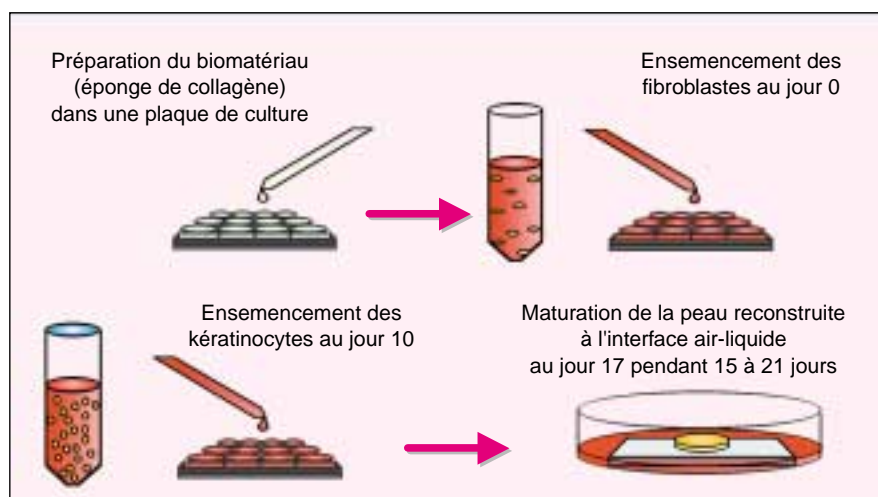


Figure 2. **Production in vitro d'une peau reconstruite à partir d'une éponge de collagène.** Ce modèle de peau reconstruite est fondé sur l'utilisation d'un biomatériau (éponge de collagène) composé de collagène bovin de type I et III, de chitosane et de chondroïtines 4-6 sulfates. Le mélange de ces différents composants solubilisés dans l'acide acétique est coulé dans des plaques de culture, qui sont ensuite congelées puis lyophilisées. Après réhydratation de ces plaques dans du milieu de culture, des fibroblastes humains sont ensemencés à la surface des éponges. Dix jours plus tard, des kératinocytes humains sont ensemencés au-dessus des fibroblastes, et au 17^e jour de culture, les peaux reconstruites sont transférées sur des papiers filtre à l'interface air-liquide dans des boîtes de Pétri, pour subir une maturation additionnelle de 15 à 21 jours.

est leur capacité à s'auto-assembler en un tissu cohérent, tout en s'enroulant de leur propre matrice extracellulaire (figure 3). Par la suite, nous combinons les paramètres de culture adéquats avec une orientation optimale des cellules et une augmentation des stress mécaniques engendrés par les cellules elles-mêmes. Les tissus ainsi obtenus sont non seulement dénués de tout matériel exogène, mais présentent en plus des propriétés mécaniques très intéressantes. Les qualités exceptionnelles de ce tissu reconstruit *in vitro* devrait être d'un très grand intérêt pour des applications cliniques, comme en témoignent les deux substituts tissulaires qui ont été recréés par cette approche [43, 44].

Tout d'abord, nous avons recréé, après plusieurs tentatives [45], le premier vaisseau sanguin exclusivement reconstruit avec des cellules humaines [43]. Le substitut est constitué de feuillets produits à partir de cellules musculaires lisses (CML) ainsi que de fibroblastes qui sécrètent une matrice extracellulaire abondante grâce à un milieu enrichi tout particulièrement en acide ascorbique. Le

feuillet de CML (média) est enroulé autour d'une tige (pipette) qui donne non seulement la forme tubulaire désirée, mais permet aussi de prés-

ver une lumière centrale. Après quelques semaines de maturation, la seconde couche (adventice) est enroulée autour de la média. Enfin, après un temps de maturation additionnel, ces substituts vasculaires sont endothélialisés par simple ensemencement de cellules endothéliales dans leur lumière (figure 4) [43]. Un bioréacteur maison a permis de mieux contrôler les conditions de culture. Les caractéristiques les plus marquantes de ce vaisseau sanguin reconstruit sont sa capacité de vasoconstriction suite à une stimulation par des agonistes, et surtout sa résistance mécanique à l'éclatement de 2 594 mmHg, comparée aux 1 680 mmHg d'une veine saphène humaine qui est actuellement considérée comme le greffon optimal pour une reconstruction vasculaire des membres inférieurs et aux 120 mmHg de la pression artérielle au repos [43]. Le second substitut mis au point est cutané. Il s'agit d'une superposition de feuillets de fibroblastes obtenus dans des conditions semblables à celles décrites précédemment [44]. Par la suite, la couche épidermique est obtenue par simple ensemencement de surface. Ce modèle possède des caractéristiques physiologiques (fonction de barrière, expression des marqueurs de différenciation, résis-

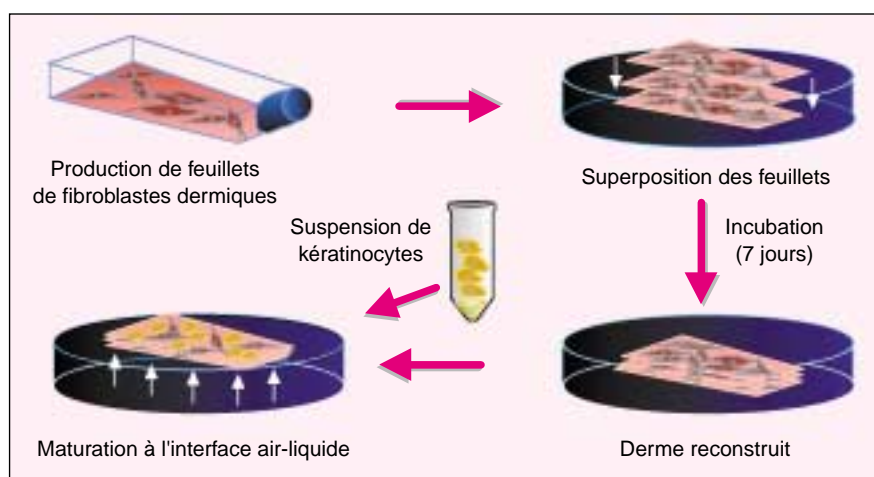


Figure 3. **Méthode de reconstruction de la peau humaine in vitro par auto-assemblage.** Les feuillets de fibroblastes humains sont obtenus par culture à long terme des cellules dans des flacons en présence d'acide ascorbique. Les fibroblastes produisent leur propre matrice extracellulaire et reconstruisent ainsi un feuillet qui peut être décollé du flacon de culture. La superposition de plusieurs feuillets permet d'obtenir un derme reconstruit suffisamment épais pour que des kératinocytes soient ensemencés à sa surface. La peau reconstruite ainsi obtenue est ensuite placée à l'interface air-liquide pour favoriser la maturation de l'épiderme.

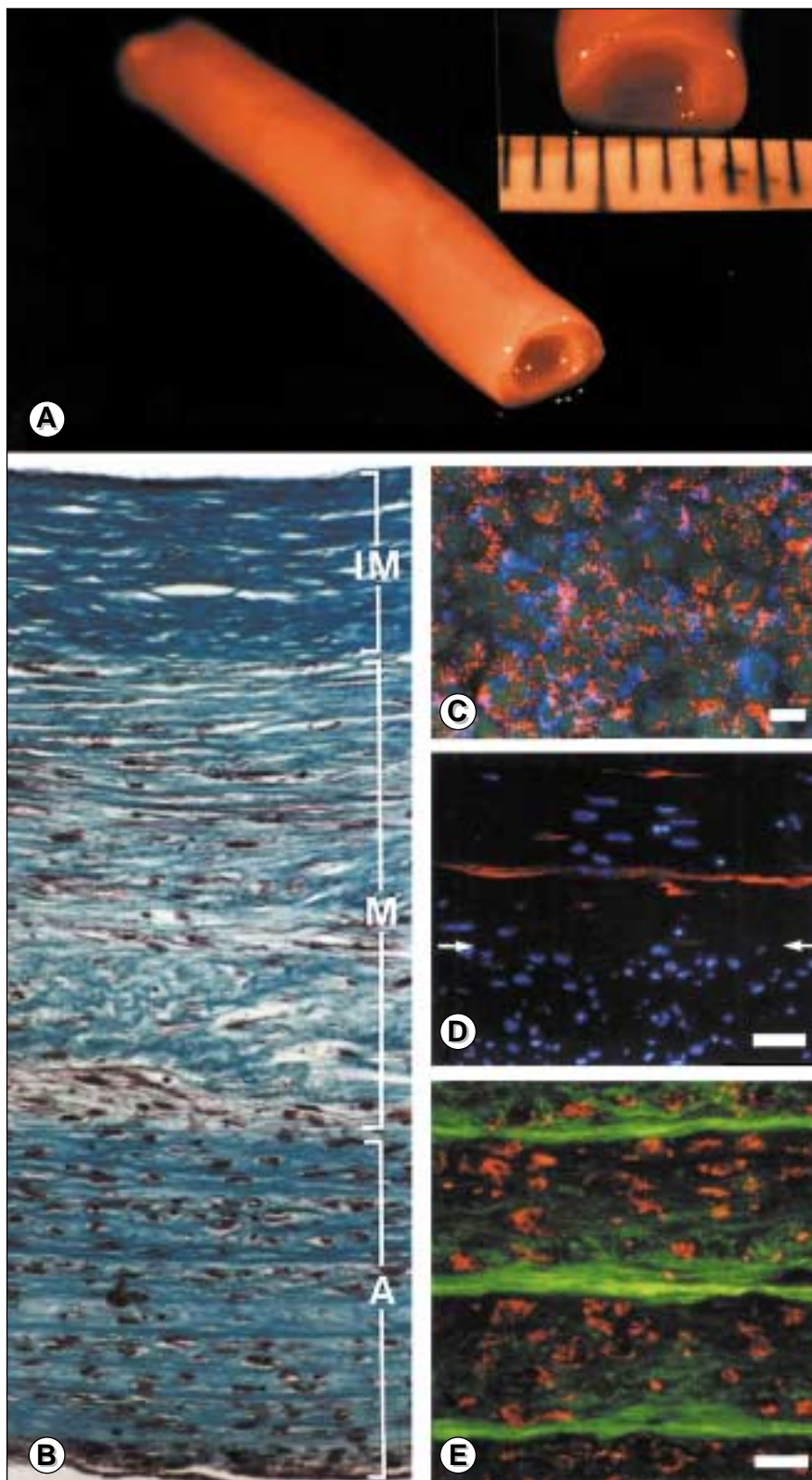


Figure 4. Organisation du vaisseau sanguin reconstruit par génie tissulaire (VSR): **A.** Vue macroscopique d'un VSR mature (9 semaines de maturation de l'adventice). Le vaisseau conserve sa forme cylindrique après avoir été retiré du milieu de culture (diamètre de la lumière 3 mm). L'empilement des différents feuillets de cellules forme après 9 semaines un tissu homogène composant la paroi du vaisseau (vignette, graduation 1mm). **B.** Coupe histologique transversale de la paroi vasculaire colorée au Trichrome de Masson: le collagène apparaît en bleu-vert et les cellules en violet foncé. Mise à part une épaisse couche interne élastique (IM = 125 μ m), l'histologie du VSR est similaire à celle d'une artère avec une large média (M = 320 μ m) entourée d'une adventice (A = 235 μ m). **C.** Vue de face de l'endothélium ensemencé sur la couche interne (IM). La fluorescence verte intracytoplasmique révèle la viabilité, l'activité métabolique et le degré de confluence des cellules. La fluorescence rouge confirme la viabilité cellulaire et la nature endothéliale des cellules. La fluorescence bleue met en évidence la présence de facteur von Willebrand dans les cellules endothéliales (orange = rouge + vert; rose = rouge + vert + bleu). Barre: 25 μ m. **D.** Coupe à congélation d'une section transversale de la jonction média-adventice (flèches) marquant en rouge la localisation de la desmine (les noyaux sont colorés en bleu). Barre: 50 μ m. **E.** Coupe à congélation d'une section transversale de l'adventice mettant en évidence par un double marquage la localisation de l'élastine (en vert) et de la vimentine (en rouge). Barre: 50 μ m (d'après [43], avec permission).

tance mécanique, etc.) des plus intéressantes. Il pourrait s'agir du modèle cutané le plus sophistiqué à l'heure actuelle (figures 5 et 6). Ces deux

substituts se caractérisent par des propriétés biologiques et mécaniques remarquables par rapport aux autres méthodes décrites dans la littérature

[46]. Le niveau de différenciation cellulaire et la présence d'éléments complexes comme les membranes basales, les jonctions serrées ainsi que les hémidesmosomes, en sont une preuve (figure 6). Les conditions que nous avons déterminées pour nos substituts, tant en ce qui concerne les milieux de culture que du point de vue des contraintes mécaniques, conduisent à des résultats plus proches de leur contrepartie physiologique que toute autre méthode.

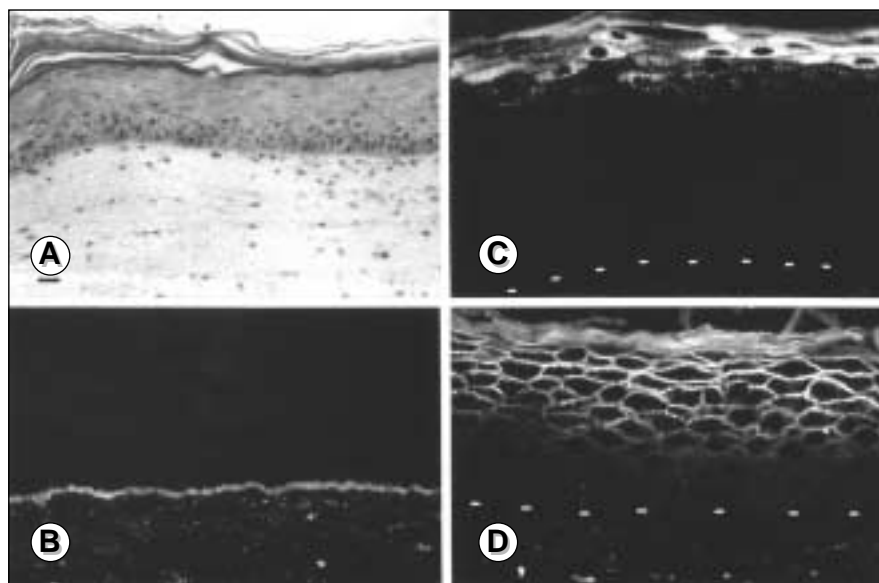


Figure 5. **Histologie et immunohisto- chimie des composants de la mem- brane basale de la peau reconstruite par auto-assemblage.** Coupe histolo- gique d'une section transversale de peau reconstruite (A). Marquages par immunohisto- chimie de la lami- nine du niveau de la jonction dermo- épidermique (B), de la filaggrine (C), et de la kératine 10 (D). Barre: 25 μ m (d'après [44], avec permission).

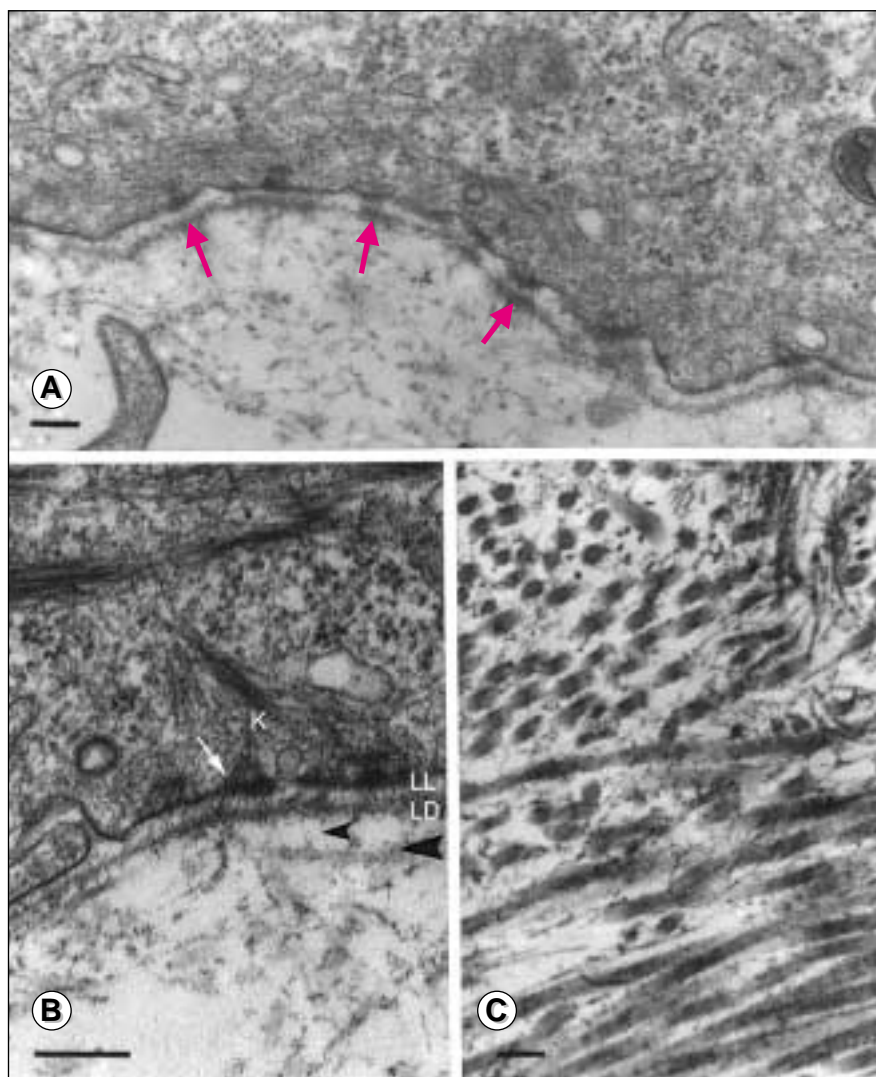


Figure 6. **Aspect ultrastructural de la peau reconstruite par auto-assem- blage.** Coupes ultra-fines de sections de peau reconstruite observées par microscopie électronique à trans- mission: A. La jonction dermo-épider- mique contient de nombreux hémidesmosomes (flèches) présents de façon continue tout au long de la membrane basale (Barre: 32 nm). B. Des filaments intermédiaires de kératine (K) sont attachés à la plaque dense des hémidesmosomes et tra- versent la lamina lucida (LL) pour assurer un ancrage de la cellule. LD = lamina densa (Barre: 56 nm). C. La matrice extracellulaire du derme est composée d'un abondant réseau de fibres de collagène organisées en paquets orientés perpendiculairement les uns aux autres, selon une structure comparable au derme humain normal (Barre: 32 nm) (d'après [44], avec permission).

Perspectives

L'objectif de cette revue n'est pas de faire un inventaire de toutes les appli- cations du génie tissulaire dans les dif- férents systèmes biologiques; cepen- dant, l'énumération de tels systèmes est déjà en soi une preuve du très haut intérêt de ce domaine et donne un aperçu de l'impact clinique qu'il aura. D'ailleurs, l'impact commercial est déjà impressionnant. Aux États- Unis, le coût des soins de santé liés aux traitements des pertes de tissu et

de la dégénérescence tissulaire est très élevé: 35 millions de patients engendrent chaque année des dépenses directes et indirectes de 335 milliards de dollars-US. Les coûts à travers le monde sont sans nul doute tout aussi impressionnants. Même si le génie et la régénération tissulaire ne s'avèrent pas applicables à l'ensemble de ces patients, la contribution thérapeutique de ces domaines sera très significative, surtout si l'on envisage d'utiliser ces approches de concert avec d'autres outils thérapeutiques comme la thérapie génique et la libération contrôlée de médicaments.

Le seul organe produit par génie tissulaire qui soit au stade d'une application clinique à l'heure actuelle est la peau, dont plusieurs produits ont été commercialisés en Europe et en Amérique du Nord [47]. Beaucoup d'autres organes humains reconstruits par génie tissulaire sont cependant susceptibles d'être commercialisés à moyen terme (5 à 10 ans), dont les vaisseaux sanguins, les ligaments, la cornée, le cartilage, les os, etc., et beaucoup d'organes déficients sont susceptibles d'être régénérés par génie tissulaire, encapsulation de cellules et/ou thérapie génique, comme les muscles, le tissu nerveux central et périphérique, la vessie, les sphincters, le foie, le pancréas, etc. Il demeure toutefois des organes dont la reconstruction *in vitro* ou la régénération apparaît encore lointaine, comme le cœur, les reins ou les poumons.

La thérapie génique a soulevé beaucoup d'espoirs, mais a été plus difficile à mettre en œuvre comme modalité thérapeutique qu'on ne l'avait prévu. Il y a de nombreuses raisons qui expliquent cette situation, mais la principale en est certainement la difficulté à introduire les gènes de correction dans des cellules cibles. Beaucoup d'approches sont soit impraticables, soit utilisent différents virus qui apportent chacun leurs propres inconvénients. L'introduction de gènes actifs dans des équivalents tissulaires *in vitro* et l'implantation de ceux-ci au niveau des sites anatomiques adéquats est une solution très intéressante. De plus, un contrôle de qualité des niveaux de sécrétion des molécules souhaitées peut être fait facilement *in vitro* avant l'implantation. Enfin, le gène ainsi transplanté peut être retiré si nécessaire par abla-

tion du tissu, en particulier lorsque l'on utilise une greffe cutanée.

La libération contrôlée de médicaments peut être appliquée selon le même concept. Le biomatériau ou la matrice extracellulaire peuvent être enrichis avec une molécule spécifique, afin que celle-ci soit libérée au niveau du site d'implantation en quantité et à une vitesse contrôlées.

Conclusions

Les différentes méthodes du génie tissulaire ont déjà ouvert une nouvelle voie dans le domaine de la transplantation d'organes. L'utilisation de cellules adultes ou de cellules souches adultes permet d'éviter plusieurs des problèmes d'éthiques complexes liés à l'utilisation de cellules souches embryonnaires.

Il semble bien établi que le génie tissulaire aura une place de choix dans l'arsenal thérapeutique du XXI^e siècle. De plus, ce domaine de la biotechnologie voit sa valeur décuplée par le fait qu'il se marie déjà de façon très productive avec d'autres outils biologiques d'avenir ■

Remerciements

Les travaux abordés dans cette revue sont financés par le Conseil de recherches médicales du Canada, le Fonds de recherche en santé du Québec, la Fondation des maladies du cœur, le Club Richelieu de Limoilou et la Fondation des pompiers du Québec pour les grands brûlés. Je tiens à remercier les Drs Lucie Germain, Francine Goulet, François Berthod, Véronique Moulin et Bernard Fruteau de Laclou pour leur précieuse collaboration, ainsi que tous les étudiants et les assistants de recherche du LOEX. Les travaux décrits dans cet article sont la somme de leur excellent travail.

RÉFÉRENCES

- Hood J, Koep L, Peters R, Schroter G, Weil R, Redeker A, Starzl T. Liver transplantation for advanced liver disease with alpha-1-antitrypsin deficiency. *N Engl J Med* 1980; 302: 272-5.
- Beatty P, Clift R, Mickelson E, et al. Marrow transplantation from related donors other than HLA-identical siblings. *N Engl J Med* 1985; 313: 765-71.
- Carrel A, Guthrie C. The transplantation of veins and organs. *Am Med* 1905; 10: 1101-3.
- Barnard C. A human cardiac transplant: an interim report of a successful operation performed at Groote Schuur Hospital, Cape Town. *S Afr Med J* 1967; 41: 1271-4.

- Jamieson S, Stinson E, Oyer P, Baldwin J, Shumway N. Operative technique for heart-lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1984; 87: 930-5.

- Land W, Schneeberger H, Schleibner S, et al. Long-term results in cadaveric renal transplantation under cyclosporine therapy. *Transplant Proc* 1991; 23: 1244-6.

- Glynn R, Akkaraju S, Healy J, Rayner J, Goodnow C, Mack D. How self-tolerance and the immunosuppressive drug FK506 prevent B-cell mitogenesis. *Nature* 2000; 403: 672-6.

- Ponticelli C, Tarantino A, Vegeto A. Renal transplantation, past, present and future. *J Nephrol* 1999; 12: S105-10.

- Li R, Williams S, White M, Rein D. Dose control with cell lines used for encapsulated cell therapy. *Tissue Eng* 1999; 5: 453-65.

- Meyer M, Johansen J, Gramsbergen JB, Johansen TE, Zimmer J. Improved survival of embryonic porcine dopaminergic neurons in coculture with a conditionally immortalized GDNF-producing hippocampal cell line. *Exp Neurol* 2000; 164: 82-93.

- Mendez I, Dagher A, Hong M, et al. Enhancement of survival of stored dopaminergic cells and promotion of graft survival by exposure of human fetal nigral tissue to glial cell line-derived neurotrophic factor in patients with Parkinson's disease. Report of two cases and technical considerations. *J Neurosurg* 2000; 92: 863-9.

- Skuk D, Tremblay J. Progress in myoblast transplantation: a potential treatment of dystrophies. *Microsc Res Tech* 2000; 48: 213-2.

- Brussee V, Tardif F, Roy B, Goulet M, Sebille A, Tremblay J. Successful myoblast transplantation in fibrotic muscles: no increased impairment by the connective tissue. *Transplantation* 1999; 67: 1618-22.

- Yannas IV, Lee E, Orgill DP, Skrabut EM, Murphy GF. Synthesis and characterization of a model extracellular matrix that induces partial regeneration of adult mammalian skin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 933-7.

- Wang J, To E. Application of dermal substitute (Integra) to donor site defect of forehead flap. *Br J Plast Surg* 2000; 53: 70-2.

- Cedidi C, Hartmann B, Schepler H, Raff T, Germann G. Grafting of deeply burned problem zones in the lower extremity with a dermal substitute. *Eur J Plast Surg* 1999; 22: 119-22.

- Fischman J. How to build a body part. *Time* 1999; March: 46-7.

- Auger FA, Rouabhia M, Goulet F, Berthod F, Moulin V, Germain L. Tissue-engineered human skin substitutes from collagen-populated hydrated gels: clinical and fundamental applications. *Med Biol Eng Comput* 1998; 36: 801-12.

- Berthod F, Auger FA. *In vitro* applications of skin substitutes for dermatological purposes. In: Rouabhia M, ed. *Skin substitute production by tissue engineering: clinical and fundamental applications*. Austin: Landes Bioscience, 1997: 211-37.

RÉFÉRENCES

20. Moulin V, Castilloux G, Jean A, Garrel DR, Auger FA, Germain L. *In vitro* models to study wound healing fibroblasts. *Burns* 1996; 22: 359-62.
21. Bell E, Ivarsson B, Merrill C. Production of a tissue-like structure by contraction of collagen lattices by human fibroblasts of different proliferative potential *in vitro*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979; 76: 1274-8.
22. Bell E, Ehrlich PH, Buttle DJ, Nakatsuji T. Living tissue formed *in vitro* and accepted as skin-equivalent tissue of full thickness. *Science* 1981; 211: 1042-54.
23. López Valle CA, Germain L, Rouabhia M, et al. Grafting on nude mice of living skin equivalents produced using human collagens. *Transplantation* 1996; 62: 317-23.
24. Auger FA, López Valle CA, Guignard R, et al. Skin equivalent produced with human collagen. *In Vitro Cell Dev Biol Anim* 1995; 31: 432-9.
25. Michel M, Germain L, Bélanger PM, Auger FA. Functional evaluation of anchored skin equivalent cultured *in vitro*: percutaneous absorption studies and lipid analysis. *Pharm Res* 1995; 12: 455-8.
26. Michel M, L'Heureux N, Auger FA, Germain L. From newborn to adult: phenotypic and functional properties of skin equivalent and human skin as a function of donor age. *J Cell Physiol* 1997; 171: 179-89.
27. Michel M, Török N, Godbout MJ, et al. Keratin 19 as a biochemical marker of skin stem cells *in vivo* and *in vitro*: keratin 19 expressing cells are differentially localized in function of anatomic sites, and their number varies with donor age and culture stage. *J Cell Sci* 1996; 109: 1017-28.
28. Pouliot R, Germain L, Auger F, Tremblay N, Juhasz J. Physical characterization of the stratum corneum of an *in vitro* human skin equivalent produced by tissue engineering and its comparison with normal human skin by ATR-FTIR spectroscopy and thermal analysis (DSC). *Biochim Biophys Acta* 1999; 1439: 341-52.
29. Germain L, Auger F, Grandbois E, et al. Reconstructed human cornea produced *in vitro* by tissue engineering. *Pathobiology* 1999; 67: 140-7.
30. Goulet F, Germain L, Rancourt D, Caron C, Normand A, Auger FA. Tendons and ligaments. In: Lanza R, Langer R, Chick WL, eds. *Principles of tissue engineering*. San Diego: Academic Press 1997: 633-44.
31. Paquette JS, Goulet F, Boulet L-P, et al. Three-dimensional production of bronchi *in vitro*. *Canad Resp J* 1998; 5: 43.
32. Auger FA, Berthod F, Goulet F, Germain L. What is new in mechanical properties of tissue-engineered organs. In: Desmoulière A, Tuchweber B, eds. *Current topics in pathology*, vol. 93. Berlin: Springer-Verlag. 1999: 87-93.
33. Lafrance H, Yahia LH, Germain L, Guillot M, Auger FA. Study of the tensile properties of living skin equivalent. *Biomed Mater Engin* 1999; 5: 195-208.
34. Lafrance H, Guillot M, Germain L, Auger FA. A method for the evaluation of tensile properties of skin equivalents. *Med Eng Phys* 1995; 17: 537-43.
35. Lafrance H, Yahia LH, Germain L, Auger FA. Mechanical properties of human skin equivalent submitted to cyclic tensile forces. *Skin Res Technol* 1998; 4: 228-36.
36. Chevally B, Abdul-Malak N, Herbage D. Mouse fibroblasts in long-term culture within collagen three-dimensional scaffolds: influence of cross-linking with diphenylphosphorylazide on matrix reorganization, growth, and biosynthetic and proteolytic activities. *J Biomed Mater Res* 2000; 49: 448-59.
37. Black A, Berthod F, L'Heureux N, Germain L, Auger FA. *In vitro* reconstruction of a human capillary-like network in a tissue-engineered skin equivalent. *FASEB J* 1998; 12: 1331-40.
38. Berthod F, Sahuc F, Hayek D, Damour O, Collombel C. Deposition of collagen fibril bundles by long-term culture of fibroblasts in a collagen sponge. *J Biomed Mater Res* 1996; 32: 87-94.
39. Berthod F, Hayek D, Damour O, Collombel C. Collagen synthesis by fibroblasts cultured within a collagen sponge. *Biomaterials* 1993; 14: 749-54.
40. Berthod F, Germain L, Guignard R, et al. Differential expression of collagen XII and XIV in human skin and in reconstructed skin. *J Invest Dermatol* 1997; 108: 737-42.
41. Berthod F, Saintigny G, Chretien F, Hayek D, Collombel C, Damour O. Optimization of thickness, pore size and mechanical properties of a biomaterial designed for deep burn coverage. *Clin Mater* 1994; 15: 259-65.
42. Ghalichi F, Deng X, King M, Marois Y, De Champlain A, Guidoin R. Theoretical prediction of the hemodynamic performance of slow resorbing polyester protein impregnated arterial prostheses after implantation: a plea for fast resorption of the coating. *ASAIO J* 1999; 45: 18-24.
43. L'Heureux N, Pâquet S, Labbé R, Germain L, Auger FA. A completely biological tissue-engineered human blood vessel. *FASEB J* 1998; 12: 47-56.
44. Michel M, L'Heureux N, Pouliot R, Xu W, Auger FA, Germain L. Characterization of a new tissue-engineered human skin equivalent with hair. *In Vitro Cell Dev Biol Anim* 1999; 35: 318-26.
45. L'Heureux N, Germain L, Labbé R, Auger FA. *In vitro* construction of a human blood vessel from cultured vascular cells: a morphologic study. *J Vasc Surg* 1993; 17: 499-509.
46. Weinberg CB, Bell E. A blood vessel model constructed from collagen and cultured vascular cells. *Science* 1986; 231: 397-400.
47. Berthod F, Damour O. *In vitro* reconstructed skin models for wound coverage in deep burns. *Br J Dermatol* 1997; 136: 809-16.

MS2000

Summary

Tissue engineering: from dream to reality

The tissue engineering revolution is coming to the XXIst century and thus opening a new chapter in the biomedical therapies to human suffering. If the 1990's were the decade of brain research; the next one could easily be the tissue engineering one. The tissue engineering approach not only has shown a technological « push » because of the progress in re-creating organs in the laboratory, but also there is an incredible « pull » because of the limitations of classical organ transplantation. There are three approaches to tissue regeneration: (1) cellular therapy, (2) tissue engineering, (3) tissue templates (biomaterials). They encompass a full spectrum of therapeutic solution to tissue regeneration. Furthermore, tissue engineering can dovetail with other important therapeutic tools such as gene therapy and drug delivery. Tissue engineering has already brought a new era in transplantation. The use of adult cells or adult stem cells also may keep this field away from the complex ethical issues involved in embryonic stem cells.

TIRÉS À PART

F. A. Auger.