

Transplantation de myoblastes squelettiques autologues dans l'insuffisance cardiaque ischémique

par Bruno Pouzet¹, Albert A. Hagège², Jean-Thomas Vilquin³, Michel Desnos², Denis Duboc⁴, Jean-Pierre Marolleau⁵ & Philippe Menashé¹

¹Service de Chirurgie Cardiovasculaire B, Groupe Hospitalier Bichat-Claude Bernard, 46, rue Henri Huchard, 75877 Paris Cedex 18; ²Service de Cardiologie, Hôpital Européen Georges Pompidou, 75015 Paris;

³INSERM U523, Institut de Myologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, 47, boulevard de l'Hôpital, 75651 Paris Cedex 13; ⁴Service de Cardiologie, Hôpital Cochin, 75014 Paris; ⁵Unité de Thérapie Cellulaire, ETS de l'Hôpital Saint-Louis, 75010 Paris.

Reçu le 14 novembre 2000

RÉSUMÉ

Malgré les avancées médicales de ces dernières années, l'insuffisance cardiaque, demeure un problème majeur de santé publique. La cardiomyoplastie cellulaire apparaît maintenant comme une possible option thérapeutique. Dans une perspective clinique, la transplantation de myoblastes squelettiques autologues est devenue la technique de choix car elle évite de nombreux problèmes, éthiques, immunologiques et d'approvisionnement cellulaire.

Toutes les études expérimentales ont montré le bénéfice fonctionnel entraîné par l'apport de myoblastes dans le myocarde altéré par un infarctus. Bien que les mécanismes impliqués dans cette amélioration fonctionnelle ne soient pas encore tous élucidés, celle-ci est suffisamment probante pour envisager d'effectuer des essais cliniques.

SUMMARY Autologous skeletal myoblast transplantation for the treatment of heart failure

Despite medical therapeutic advances, congestive heart failure (CHF), which is the common ultimate consequence of many primary cardiovascular diseases, remains a major and growing public health problem. Although orthotopic heart transplantation is the gold standard, there is now growing evidence that one therapeutic option could be cellular cardiomyoplasty.

Autologous adult skeletal myoblast transplantation seems to be the most clinically relevant, compa-

red with other cell types, in that it avoids immunosuppression therapy, availability and ethical issues. Previous experimental studies have documented the efficacy of myoblast transplantation in improving function of infarcted myocardium. Although the mechanisms involved in this improvement are not elucidated, it has been demonstrated convincingly enough to consider riping to clinical trials.

Le traitement de référence de l'insuffisance cardiaque réfractaire aux traitements médicamenteux reste, pour les patients qui peuvent en bénéficier, la transplantation cardiaque. Cependant, la pénurie de greffons, avec une diminution de moitié du nombre de donneurs en France, entraîne une augmentation de 30 % du nombre de décès en liste d'attente, malgré l'implantation de systèmes d'assistance ventriculaire.

La transplantation de cellules contractiles dans le muscle cardiaque s'est ainsi développée, depuis quelques années, dans le cadre des recherches sur les thérapeutiques alternatives à la transplantation cardiaque.

La possibilité de transplanter des cellules chez des animaux dont le cœur était sain a tout d'abord été explo-

rée (dans le but éventuel d'utiliser le myocarde comme site de production d'agents thérapeutiques).

Les premiers travaux sur les cardiomyocytes fœtaux, réalisés par l'équipe de Field (Soonpaa *et al.*, 1994) et menés sur des modèles animaux génétiquement modifiés (souris donneuses transgéniques exprimant le gène de la β -galactosidase), ont en effet prouvé la réhabilitation du myocarde de souris syngéniques avec une prise de greffe stable pendant 2 mois (terme de l'étude). De plus, des jonctions entre les cardiomyocytes greffés et les cellules hôtes ont été décelées. Caractérisées en microscopie électronique comme disques intercalaires, ces jonctions évoquent un couplage électromécanique à l'interface greffon-hôte. Les expériences conduites sur animaux dystro-

phiques (modèles de dystrophie de type Duchenne de Boulogne) ont confirmé ces données avec la présence de cardiomyocytes formant, avec le tissu cardiaque receveur, des *gap-junctions* (assurant la propagation de la contraction de cellule à cellule *via* les mouvements ioniques transitant par les connexions qui les composent).

En fait, l'objectif principal de la cardiomyoplastie cellulaire est de compenser la perte de tissu cardiaque consécutive à une lésion, d'origine ischémique le plus souvent, et d'en évaluer le retentissement fonctionnel.

Les études fonctionnelles réalisées par le groupe de Li (Li *et al.*, 1996), par perfusion *ex vivo* sur colonne de Langendorff chez le rat cryoinfarcté, ont montré l'amélioration globale de la fonction du myocarde 2 mois après transplantation de cardiomyocytes fœtaux. Ce sont ensuite les travaux de l'équipe de la Duke University (Taylor *et al.*, 1998) utilisant la cellule satellite, ou myoblaste squelettique, connue pour être à l'origine des processus de régénération du muscle squelettique après lésion de celui-ci, qui ont abouti, avec un suivi de 6 semaines, à des conclusions similaires (dans un modèle d'autotransplantation chez le lapin) grâce à une évaluation fonctionnelle par microcristaux (implantés entre les artères coronaires circonflexe et interventriculaire postérieure, au moment de la création de l'infarctus). Il est important de noter que ce bénéfice fonctionnel n'a été mis en évidence que lorsque les cellules greffées étaient identifiées, ce qui souligne fortement la relation de causalité entre présence des myoblastes transplantés et amélioration de la fonction. Les études histologiques des équipes de Chiu (Chiu *et al.*, 1995) et de Taylor (Taylor *et al.*, 1998) ont montré la présence, au sein du tissu greffé en zone infarctée (respectivement chez le chien et le lapin), de structures caractéristiques du tissu cardiaque : les disques intercalaires. Ces données sont en faveur de la théorie de la différenciation dite milieu-dépendante des cellules greffées.

Les premières études réalisées par Scorsin *et al.* (Scorsin *et al.*, 1996), du groupe de Menasché, ont expérimenté avec succès la transplantation allogénique de cardiomyocytes fœtaux dans le myocarde ischémique de rat en montrant la réhabilitation du myocarde hôte.

C'est ensuite l'efficacité fonctionnelle de la transplantation qui a été étudiée. L'évaluation de la fonction myocardique a été réalisée *in vivo* grâce à l'utilisation de sondes échographiques de haute fréquence (13-15 MHz) et à un système d'acquisition numérique susceptible d'enregistrer des images bidimensionnelles du cœur à de très hautes cadences (> 65.5 images/seconde) qui permet maintenant d'étudier en temps réel le myocarde des petits animaux.

Cependant, l'utilisation de cellules fœtales pose, dans la perspective d'une application clinique, de nombreux problèmes, éthiques, immunologiques et d'approvisionnement cellulaire, d'où l'importance des myoblastes squelettiques qui ont alors été employés dans le but de prouver une efficacité comparable (Scorsin *et al.*, 2000). Avec un recul d'un mois, l'étude échocardiographique de la fonction myocardique des rats ayant subi une transplantation de cardiomyocytes fœtaux ou myoblastes

squelettiques de nouveau-nés (5×10^6 cellules dans chaque groupe), a montré une amélioration équivalente des fractions d'éjection ventriculaires gauches. Les myoblastes ont été identifiés chez tous les animaux transplantés par le marquage de la myosine.

Cependant, ce modèle d'allogreffe est à éviter du fait des phénomènes immunologiques et de l'immunosuppression qu'il impose.

C'est la raison pour laquelle nous avons étudié la transplantation de myoblastes squelettiques adultes autologues chez le rat (Pouzet *et al.*, 1999). Nous avons montré qu'après infarctus du myocarde par ligature coronaire gauche, la transplantation de myoblastes autologues améliore significativement les paramètres d'évaluation fonctionnelle (fractions d'éjection). Ce bénéfice est non seulement noté par rapport aux animaux témoins mais aussi et surtout par rapport aux valeurs de base, prétransplantation, chez les rats greffés par les myoblastes squelettiques. En outre, nous avons mis en évidence une amélioration préférentielle chez les animaux dont l'atteinte fonctionnelle est majeure (fractions d'éjection ventriculaires gauches inférieures à 35 %) (Pouzet *et al.*, 2000). Enfin, nous avons prouvé que l'amélioration de la fonction myocardique est liée au nombre de myoblastes greffés (Pouzet *et al.*, 2000).

Du point de vue structural, les études histologiques réalisées par notre groupe ont parfaitement mis en évidence la présence de myotubes au sein des zones greffées de myocarde infarcté, témoin de la différenciation des myoblastes transplantés en fibres musculaires squelettiques. Néanmoins, aucune connexion avec les cardiomyocytes du myocarde receveur n'a pu être révélée.

Le mécanisme d'action de la transplantation de myoblastes sur l'amélioration fonctionnelle reste donc à préciser. Seules des hypothèses, ne s'excluant d'ailleurs pas mutuellement, ont pu être émises : contribution directe à la contraction par stimulation mécanique exercée par le tissu myocardique-hôte avoisinant, limitation du remodelage ventriculaire due aux propriétés élastiques des cellules greffées, sécrétion de facteurs de croissance et/ou de facteurs angiogéniques.

En conclusion, il convient d'insister sur la cohérence des résultats expérimentaux obtenus par les différentes équipes en matière de bénéfice fonctionnel. Ce bénéfice est en effet observé quel que soit le modèle (ligature coronaire, cryothérapie, insuffisance cardiaque aux anthracyclines), quelle que soit l'espèce (rat, souris, lapin, porc), quelle que soit la technique d'évaluation (perfusion *ex vivo* sur colonne de Langendorff, microcristaux implantables, échocardiographie *in vivo*, scintigraphie au sésamibi) et quel que soit le type de cellules, pourvu qu'elles soient contractiles (cardiomyocytes fœtaux, myoblastes squelettiques, et même cellules musculaires lisses et maintenant cellules stromales de la moelle osseuse).

L'ensemble de ces résultats incite fortement à commencer chez l'Homme l'évaluation de cette technique qui, si elle devait être validée, s'inscrirait comme une option supplémentaire offerte au clinicien dans l'arsenal thérapeutique de l'insuffisance cardiaque.

BIBLIOGRAPHIE

- Chiu R.C.-J., Zibaitis A. & Kao R.L., Cellular cardiomyoplasty: myocardial regeneration with satellite cell implantation. *Ann. Thorac. Surg.*, 1995, 60, 12-18.
- Li R.-K., Mickle D.A.G., Weisel R.D., Zhang J. & Moha-beer M.K., *In vivo* survival and function of transplanted rat cardiomyocytes. *Circ. Res.*, 1996, 78, 283-288.
- Pouzet B., Vilquin J.-T., Hagège A.A., Scorsin M., Messas E., Fiszman M., Schwartz K. & Menasché P., Factors affecting functional outcome after autologous skeletal myoblast transplantation. *Ann. Thorac. Surg.*, 2000, sous presse.
- Pouzet B., Vilquin J.-T., Messas E., Scorsin M., Fiszman M., Hagège A.A., Schwartz K. & Menasché P., Intramyocardial transplantation of autologous myoblasts: can tissue processing be optimized. *Circulation*, 1999, 100 (Suppl. I), 1-92 (Abstract).
- Scorsin M., Hagège A.A., Vilquin J.-T., Fiszman M., Marotte F., Samuel J.-L., Rappaport L., Schwartz K. & Menasché P., Comparison of the effects of fetal cardiomyocytes and skeletal myoblast transplantation on postinfarction left ventricular function. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 2000, 119, 1169-1175.
- Scorsin M., Marotte F., Sabri A., Le Dref O., Demirag M., Samuel J.-L., Rappaport L. & Menasché P., Can grafted cardiomyocytes colonize peri-infarct myocardial areas. *Circulation*, 1996, 94 (Suppl. II), II-337-II-340.
- Soonpaa M.H., Koh G.Y., Klug M.G. & Field L.J., Formation of nascent intercalated disks between grafted fetal cardiomyocytes and host myocardium. *Science*, 1994, 264, 98-101.
- Taylor D.A., Atkins B.Z., Hungspreugs P., Jones T.R., Reedy M.C., Hutcheson K.A., Glower D.D. & Kraus W.E., Regenerating functional myocardium: improved performance after skeletal myoblast transplantation. *Nature Med.*, 1998, 4, 929-933.
-