



available at www.sciencedirect.com



journal homepage: <http://france.elsevier.com/direct/REURG/>



MISE AU POINT

Nouvelles stratégies thérapeutiques : les cellules souches. Progéniteurs endothéliaux circulants et Réanimation

Endothelial progenitor cells: New biomarkers and potential future therapy in intensive care!

T. Braun, T. Seguin, J.-P. Mira*

Service de réanimation médicale, hôpital Cochin-Port-Royal, Assistance publique–Hôpitaux de Paris et université René-Descartes, 27, rue du Faubourg Saint-Jacques, 75014 Paris, France

Disponible sur internet le 27 février 2007

MOTS CLÉS

Thérapie cellulaire ;
Progéniteurs
endothéliaux ;
Marqueurs

Résumé Une des avancées les plus remarquables des dernières années dans le domaine de la biologie vasculaire est la découverte de l'importance des cellules souches en général et des progéniteurs endothéliaux circulants en particulier (PECs). Ces cellules angiogéniques, qui conservent les propriétés des angioblastes embryonnaires, sont des résidents normaux de la moelle osseuse, qui peuvent être présentes dans la circulation générale soit spontanément soit en réponse à différents stimuli (cytokines pro-inflammatoires, facteurs de croissance, ischémie, statines...). Impliquées dans les mécanismes de réparation vasculaire et tissulaire, les PECs apparaissent comme de bons biomarqueurs de sévérité de l'atteinte endothéliale dans les pathologies cardiovasculaires, mais aussi lors d'atteintes respiratoires hypoxémiantes et dans le sepsis. La découverte de ces cellules a également ouvert une voie thérapeutique innovante pour le traitement des maladies cardiovasculaires ischémiques.

© 2007 Société de réanimation de langue française. Publié par Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

KEYWORDS

Cell Therapy;
Endothelial progenitor
cells;
Biomarker

Abstract One of the most important breakthroughs in the field of vascular biology in the last decade was the discovery of endothelial progenitor cells (EPCs). These angiogenic cells are bone marrow residents, and mobilize to the general circulation spontaneously and in response to various stimuli such as ischemia, growth factor, pro-inflammatory cytokines, and drugs such as statins. Evidence is accumulating that EPCs can differentiate into mature endothelial cells and facilitate endothelial repair and angiogenesis in vivo. In recent years, consistent publications have shown that EPCs provide both diagnostic and prognostic informations with respect to cardiovascular diseases, acute lung injury and sepsis. Mobilization of the EPCs from the

* Auteur correspondant. CHU de Cochin-Saint-Vincent-de-Paul, 27, rue du Faubourg Saint-Jacques, 75679 Paris cedex 14, France.
Adresse e-mail : jean-paul.mira@cch.aphp.fr (J.-P. Mira).

bonne marrow or injection of these cells may be used as therapeutic option for the treatment of ischaemic cardiovascular diseases.

© 2007 Société de réanimation de langue française. Publié par Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Introduction

Le rôle de l'endothélium vasculaire dans la biologie cardiovasculaire dépasse de beaucoup son effet barrière entre sang et tissus. En effet, il régule la plupart de fonctions vasculaires ainsi que le transport de molécules et de cellules vers les tissus, et constitue l'interface antithrombotique entre le sang circulant et les tissus sous-jacents. Cet « organe » essentiel est le siège potentiel de nombreux processus lésionnels qui mettent secondairement en route des mécanismes de réparation indispensable pour restituer son intégrité [1]. Ces phénomènes de restauration de l'épithélium nécessitent le remplacement des cellules lésées par des mécanismes qui restent encore imprécis. Des avancées récentes dans le domaine des cellules souches, cellules capables de prolifération, d'autorenouvellement et qui possèdent une capacité de différenciation dans au moins un type de cellule différenciée, pourraient apporter un début d'éclaircissement à ces phénomènes [2]. Il a en effet été clairement démontré que des cellules immatures provenant de la moelle ou déjà présentes dans la circulation participaient très activement à la réparation vasculaire : les progéniteurs endothéliaux circulants (PECs) [3,4]. Cette revue cherche à résumer les avancées récentes de la biologie dans ce domaine en centrant ses applications cliniques au domaine de la réanimation.

Progéniteurs endothéliaux circulants

Généralités

Avant la fin des années 1990, il était généralement admis que la source de remplacement de l'endothélium agressé était des cellules endothéliales matures circulantes, détachées de la paroi vasculaire et qui adhéraient aux vaisseaux lésés. Cette hypothèse découlait des travaux de Stump et al. qui avaient démontré en 1963 qu'un patch de Dacron, « suspendu » dans la circulation et n'ayant aucun contact avec l'endothélium, était recouvert d'îlots de cellules endothéliales matures en sept jours [5]. Le dogme étant que la formation de cellules endothéliales à partir d'angioblastes provenant du mésoderme était limitée à la période du développement embryonnaire, la seule conclusion possible de Stump était l'existence de cellules endothéliales matures circulantes [5]. En 1997, la publication de Asahara et al. a mis fin à ce dogme et a bouleversé le domaine de la médecine vasculaire [6]. Cette équipe a en effet identifié la source du renouvellement endothélial comme étant une sous-population de cellules mononucléées porteuses du marqueur hématopoïétique CD34. Asahara a en effet montré que des progéniteurs hématopoïétiques CD34+ purifiés à partir de prélèvements sanguins adultes pouvaient se différencier dans certaines conditions ex vivo en cellules ayant

un phénotype endothélial mature. De plus, chez le lapin, ces cellules avaient la capacité de s'incorporer dans des sites ischémiques afin de créer des nouveaux vaisseaux [6]. Ces cellules, appelées *progéniteurs endothéliaux circulants* (PEC), expriment différents marqueurs endothéliaux tels que le récepteur de type 2 du Vascular Endothelial Growth Factor (VEGFR2), le CD31, la VE-cadhérine ou le facteur de von Willebrand, et ont la capacité de former des néovaisseaux non seulement in vitro mais aussi in vivo au niveau de tissus ischémiques [7]. Un an après cette découverte, le groupe de Rafii confirmait l'existence de ces cellules dans le compartiment sanguin et démontrait leur capacité à coloniser et recouvrir une prothèse endovasculaire, permettant d'expliquer l'observation de Strump [8]. Des études complémentaires chez l'animal et chez l'homme ont ensuite rapidement démontré que, suite à une lésion tissulaire, des progéniteurs endothéliaux pouvaient être recrutés à partir de la moelle, entrer dans la circulation puis migrer vers le tissu endommagé où elles se différencient soit en cellules endothéliales, soit en cellules épithéliales [9]. La preuve ultime de l'origine médullaire des cellules réparatrices de l'endothélium a été apportée par les études qui s'intéressaient aux patientes ayant bénéficié d'une allogreffe de moelle avec un sexmismatch, c'est-à-dire recevant une moelle d'un donneur masculin. Chez ces femmes, il est constamment retrouvé entre 5 et 35 % de cellules XY au niveau de leur endothélium, prouvant qu'une partie des cellules hématopoïétiques greffées a la propriété de devenir des cellules progénitrices endothéliales puis des cellules endothéliales matures. Ainsi, s'il est actuellement prouvé qu'il existe une population cellulaire circulante ayant la capacité de réparation endothéliale, cette population est certainement hétérogène, comprenant des cellules CD14+CD34+ dérivées des monocytes (environ 15 % d'entre eux) et des cellules CD34+CD133+VEGFR2+ qui proviennent directement de la moelle et qui représentent les « vrais » progéniteurs endothéliaux circulants [10].

Caractérisation des PECs

Les progéniteurs endothéliaux sont initialement localisés dans la moelle osseuse à proximité des cellules souches hématopoïétiques et des cellules mésenchymateuses, dans un microenvironnement spécifique, nécessaire à l'hématopoïèse [11]. Dans des conditions physiologiques seulement 0,01 % de ces cellules entrent dans la circulation générale pour maintenir la régénération des cellules endothéliales [12]. Conformément à leur définition, les PECs sont des cellules qui expriment à la fois des marqueurs des cellules souches hématopoïétiques comme les protéines de surface CD34 ou CD133 et des marqueurs des cellules endothéliales tels que le VEGFR2 ou le VEGFR3. Cependant, CD34 pouvant être retrouvé en faible quantité à la surface de cellules endothéliales matures, il est préférable d'utiliser CD133,

qui est un marqueur plus spécifique des cellules souches et qui n'est présent ni sur les cellules endothéliales matures ni sur les monocytes [13]. Ainsi, les cellules CD133+VEGFR2+ représentent plus spécifiquement les PECs que les cellules CD34+VEGFR2+ qui peuvent potentiellement être des cellules endothéliales matures circulantes après s'être détachées de la paroi vasculaire. Ces protéines de surface (CD34, CD133, VEGFR2) ne sont pas simplement des identifiants des PECs, elles participent activement à leurs fonctions et permettent d'isoler ces cellules facilement soit par cytométrie de flux (FACS), soit grâce à des colonnes contenant des anticorps spécifiques. Les PECs peuvent également être mises en évidence par culture des cellules monoclées isolées du sang dans un milieu favorisant la différenciation endothéliale [14]. Toutes ces techniques d'identification et de quantification restent malgré tout discutées et controversées pouvant expliquer certains résultats discordants [15,16]. Malgré ces limites, qui reflètent aussi la diversité des moyens de réparation de l'endothélium et la jeunesse de ce domaine, et malgré l'absence de preuve clinique directe du rôle des PECs dans la réparation de l'endothélium endommagé, l'importance de ces cellules comme marqueurs de la sévérité de certaines pathologies de réanimation ou comme moyens thérapeutiques futurs (thérapie cellulaire) est de plus en plus certaine.

PECS et pathologie cardiovasculaire

PECs : biomarqueurs de la pathologie cardiovasculaire

Dans les cinq dernières années, de nombreuses publications ont suggéré que les PECs étaient de bons marqueurs diagnostiques et pronostiques des maladies cardiovasculaires [10]. La publication de Hill et al. dans le *New England Journal of Medicine* en 2003 a définitivement créé un lien entre le nombre de PECs, la fonction vasculaire et le risque d'athérosclérose [17].

Les facteurs de risque cardiovasculaire (diabète, tabac...) contribuent à l'athérogenèse en induisant des lésions et des dysfonctions endothéliales, qui théoriquement devraient pouvoir être contrôlées par les PECs. Ainsi, le groupe de Hill a émis l'hypothèse qu'un nombre insuffisant de PECs pouvaient contribuer à augmenter le risque cardiovasculaire. Chez des patients sains présentant des facteurs de risque cardiovasculaire mais n'ayant pas encore développé de pathologies, les auteurs ont montré une corrélation étroite entre le nombre de PECs et le score de Framingham, ainsi qu'avec la fonction vasculaire [17]. Ainsi, les patients avec le score de Framingham le plus élevé, produisaient moins de PECs. De plus la sénescence des PECs était plus avancée chez les sujets ayant les facteurs de risque les plus importants. Ainsi, la mesure des PECs semble être un témoin très relevant des facteurs de risque cardiovasculaire. Des observations multiples renforcent cette étude. Ainsi, chez des patients diabétiques, le recrutement de PECs est diminué à la fois à partir de la moelle et sur les sites vasculaires endommagés [18]. Par ailleurs, le nombre de PECs semble dépendant de facteurs de risque tels l'âge, l'activité physique et de la consommation tabagique. Ainsi, chez des animaux, l'activité physique aug-

mente de façon rapide et proportionnée le nombre de PECs grâce à une production de NO et un effet antiapoptotique sur les PECs. Cet effet pourrait expliquer l'effet bénéfique de l'exercice physique dans la maladie cardiovasculaire [19]. De façon identique chez le fumeur, le sevrage permet une augmentation significative de ces cellules dans le sang, alors que la reprise du tabagisme s'accompagne d'une baisse significative de leur nombre [20]. Enfin, les statines qui se sont imposées durant les dernières années comme le traitement majeur de l'athérosclérose augmentent significativement, chez la souris et chez les patients ayant une maladie coronaire stable, la mobilisation médullaire des progéniteurs endothéliaux ainsi que la transdifférenciation des monocytes en cellules endothéliales et stimulent l'activité des PECs in vitro [21-23]. Des résultats similaires ont été obtenus avec les estrogènes, le G-CSF et l'érythropoïétine. Ces observations suggèrent l'importance des PECs dans la physiopathologie et la prévention de la pathologie cardiovasculaire et démontrent qu'une modulation pharmacologique du nombre de PECs est possible [10].

Plus récemment deux études proposent que le nombre de PECs est un facteur pronostique chez les patients atteints d'une pathologie cardiovasculaire. Chez 512 patients coronariens, Werner et al. ont montré que des taux élevés de PECs CD34+ KDR+ étaient associés à un risque diminué de mort de cause cardiaque, ainsi qu'avec un besoin de revascularisation et d'hospitalisation en cardiologie diminués [24]. Des résultats identiques ont été rapportés par deux équipes indépendantes qui trouvent qu'un nombre réduit de PECs est un facteur de risque indépendant de mortalité et d'évolution de la maladie chez le patient atteint d'une cardiopathie (OR : 3,2) [25,26]. Les raisons permettant d'expliquer l'effet bénéfique d'un taux élevé de PECs dans la maladie cardiovasculaire ne sont pas claires et quelques études en cours pourraient apporter des réponses telles que le lien entre PECs et stabilité de la plaque par exemple.

PECS : thérapie cellulaire en pathologie cardiovasculaire

La relation entre le pronostic cardiovasculaire et le nombre de progéniteurs endothéliaux [11] ainsi que le fait que ce nombre des progéniteurs endothéliaux circulantes augmente suite à une ischémie aiguë ou après un infarctus [27,28] ont motivé une recherche active portant sur l'intérêt de la thérapie cellulaire par injection de cellules souches dans des pathologies ischémiques, telles que la maladie coronarienne et l'ischémie aiguë de membres. La découverte que les PECs ont la capacité de « coloniser » préférentiellement les zones ischémiques et y exprimer des marqueurs endothéliaux, ainsi que les résultats très encourageants des études animales, ont poussé à entreprendre rapidement des essais cliniques chez l'homme dont les résultats ont été publiés récemment.

De nombreuses techniques de thérapie cellulaire ont été employées dans ces études. Il s'agissait de l'injection systémique, in situ ou intracoronarienne de cellules souches hématopoïétiques autologues, ou de PECs autologues isolées et cultivées ex vivo afin d'en augmenter le nombre. Le pourcentage de cellules souches intégrant le site de

l'ischémie est extrêmement variable d'une étude à l'autre, voir d'un patient à l'autre et semble dépendant de la sévérité et de l'étendue de la lésion, ainsi que du type de cellules utilisées [29]. Le ou les mécanismes permettant d'expliquer les effets bénéfiques de ces thérapies ont été largement discutés. Étant données les caractéristiques des cellules souches hématopoïétiques, des progéniteurs endothéliaux et des cellules souches mésenchymateuses utilisées dans ces modèles, trois mécanismes ont été proposés afin d'expliquer la régénération et la récupération partielle de la fonction du myocarde après une ischémie aiguë :

- la régénération du myocarde peut s'effectuer par transformation des cellules souches hématopoïétiques ou mésenchymateuses en cellules myocardiques (phénomène de trans différenciation directe) [30] ;
- les progéniteurs endothéliaux créent des néovaisseaux et augmentent la revascularisation du myocarde ischémique [31] ;
- les cellules souches recrutées sur place libèrent des cytokines et d'autres facteurs non encore identifiés par un effet paracrine, permettant la récupération fonctionnelle du parenchyme intact [32].

Contrairement aux résultats des études initiales, des études récentes ont clairement mis en évidence que les cellules souches hématopoïétiques et mésenchymateuses ne peuvent pas se différencier directement en cellules myocardiques [33] mais peuvent seulement générer des cellules myocardiques en petit nombre en fusionnant avec des cellules myocardiques immatures in situ. Les deux autres mécanismes semblent en revanche valides. Ainsi, la sécrétion des facteurs angiogéniques et l'activation de voies de signalisation favorisant la survie cellulaire peuvent protéger des cellules myocardiques au cours d'une ischémie aiguë et améliorer la fonction cardiaque à la suite d'un infarctus du myocarde. Si ces facteurs paracrines sont les acteurs clés pour limiter une ischémie myocardique, la synthèse et l'administration de ces facteurs pourraient se révéler déterminantes dans la protection du myocarde [34].

Les études biologiques préliminaires avaient montré que des cellules souches et des progéniteurs endothéliaux provenant de la moelle osseuse pouvaient potentiellement régénérer des cellules du myocarde lésé [30]. Leur effet thérapeutique bénéfique a ensuite été démontré dans un modèle d'infarctus du myocarde chez la souris [35] puis confirmé dans différents modèles animaux de cardiopathie ischémique dans lesquels ces thérapies ont clairement démontré une amélioration de la fonction cardiaque [36, 37].

À la suite de ces travaux des études cliniques ont été rapidement initiées et des centaines de patients inclus dans plus d'une dizaine d'études cliniques ont été traités pendant les cinq dernières années, en utilisant différentes approches [38-42]. Des études de phase I, utilisant des cellules souches et des progéniteurs de la moelle osseuse dans des petites populations de patients atteints d'un infarctus du myocarde, ont rapporté un effet bénéfique de ces traitements sur la fonction cardiaque. Ainsi, l'étude d'Assmus avait conclu à une amélioration de la fonction ventriculaire

gauche, à une réduction des volumes systoliques et à une diminution de la taille de l'infarctus dans le groupe de patients « thérapie cellulaire » [39]. Le succès de ces études préliminaires a permis d'initier des études randomisées dont les résultats sont beaucoup plus contradictoires [43]. Dans toutes ces études, la moelle autologue contenant un mélange de cellules souches hématopoïétiques, cellules mésenchymateuses, progéniteurs endothéliaux et cellules mononuclées a été utilisée.

L'étude REPAIR-AMI (Reinfusion of Enriched Progenitor Cells and Infarct Remodeling in Acute Myocardial Infarction) a montré récemment une amélioration modérée de la fonction du ventricule gauche persistant à un an [44]. Dans cette étude 204 patients ont reçu, après revascularisation coronaire percutanée, une injection intracoronaire des cellules provenant de leur moelle osseuse ou un placebo. Le traitement par cellules souches a permis l'augmentation significative de la fraction d'éjection du ventricule gauche (FEVG) d'environ 5 %.

Dans le même esprit, l'étude BOOST (Bone Marrow Transfer to Enhance ST-Elevation Infarct Regeneration) a évalué l'injection intracoronaire de cellules de la moelle osseuse suite à la mise en place d'une revascularisation par angioplastie et stent chez 60 patients atteints d'un infarctus du myocarde à la phase aiguë [41]. Comme précédemment, on notait une amélioration significative de la FEVG après six mois chez les patients traités par thérapie cellulaire mais aucun bénéfice significatif n'était détectable après 18 mois d'observation [41]. Ce résultat est semblable à celui de l'étude STEMI (ST-Elevation Acute Myocardial Infarction) qui ne montrait aucune différence significative de la FEVG chez 67 patients à quatre mois du traitement par cellules souches et progéniteurs provenant de la moelle osseuse [40]. En effet, dans cette étude l'amélioration de la FEVG était de 2,2 % dans le groupe control et de 3,6 % dans le groupe traité. Cependant, il est certain que la faible altération de la fonction cardiaque des patients sélectionnés ne permettait pas d'obtenir de grandes améliorations fonctionnelles. En revanche, dans cette étude le traitement par cellules souches était associé à une réduction de la taille de la cicatrice du myocarde et à une régression de l'hypokinésie du ventricule gauche.

Une autre approche a consisté à étudier le bénéfice de la mobilisation des cellules souches endogènes par G-CSF dans le traitement de l'IDM [42]. Malheureusement, l'étude REVIVAL-2 (Regenerate Vital Myocardium by Vigorous Activation of Bone Marrow Stem Cells) qui a inclus 114 patients, qui avaient bénéficié d'une revascularisation percutanée préalable, n'a pas mis en évidence d'amélioration de la FEVG ou de réduction de la taille de la cicatrice du myocarde après traitement par G-CSF comparativement au placebo [42].

Enfin, l'étude randomisée récente TOPCARE-CHD (Transplantation of Progenitor Cells and Recovery of Left Ventricular Function in Patients with Ischemic Heart Disease) a évalué l'intérêt d'un traitement par cellules souches et progéniteurs de la moelle osseuse comparativement à un traitement par cellules souches et PECs dans la cardiopathie ischémique chronique, trois mois après un IDM [38]. Cette étude a ainsi montré une amélioration modérée mais significative de la FEVG chez les patients traités par

des cellules provenant de la moelle osseuse, alors qu'aucun bénéfice ne semble exister chez les patients ayant reçu des injections des cellules circulantes comparativement au groupe de contrôle qui a reçu un traitement médical standard.

Contrairement aux résultats des études initiales d'Orlic, les études cliniques récemment publiées suggèrent que les cellules souches hématopoïétiques ne participent pas très activement à la régénération du myocarde. Seules les études REPAIR-AMI et TOPCARE-CHD ont démontré un effet bénéfique de cette stratégie thérapeutique [38-44]. Les investigateurs de ces deux études proposent d'améliorer le traitement par injection de cellules de la moelle osseuse en utilisant seulement des cellules souches spécifiques qui seraient obtenues après purification de la moelle osseuse. Ces propositions thérapeutiques devront être analysées dans de grandes études randomisées. De plus, il semble indispensable d'harmoniser les protocoles d'évaluation de la fonction cardiaque car de multiples approches (échocardiographie, angiographie, scintigraphie, SPECT ou l'IRM cardiaque), ayant chacune leurs avantages et leurs inconvénients, ont été utilisées dans les différentes études, rendant leur comparaison difficile.

Progéniteurs endothéliaux circulants et atteintes pulmonaires

Les atteintes respiratoires aiguës dont la forme la plus sévère est représenté par le Syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA) sont des pathologies fréquentes de réanimation associées avec une morbidité et une mortalité élevées. En dehors de la limitation du volume courant, aucun traitement spécifique de ces pathologies n'existe. Des publications récentes et encore peu nombreuses suggèrent que les cellules souches en général et les PECs en particulier pourraient avoir un rôle essentiel dans la réparation pulmonaire et pourraient représenter non seulement un témoin de l'atteinte respiratoire et de son évolution mais aussi une approche thérapeutique innovante.

Comparativement au domaine cardiovasculaire qui a étudié l'importance des progéniteurs endothéliaux dans l'atteinte endothéliale de l'athérosclérose, la pneumologie s'est peu intéressée aux liens potentiels entre cellules souches et mécanismes de réparation du tissu pulmonaire lésé. Il a fallu attendre l'étude de Krause en 2001 pour que cette spécialité s'ouvre largement à cette nouvelle thématique. Dans cette étude, l'auteur rapportait la transplantation de cellules souches d'un animal mâle à des souris femelles irradiées. Après un suivi de 11 mois, il a objectivé que les cellules du donneur étaient retrouvées dans un nombre important d'épithélium, y compris les bronches (4 %) et les alvéoles (20 %) et que ces cellules étaient fonctionnelles, pouvant par exemple synthétiser du surfactant [45]. Suite à cette observation, de nombreuses études ont montré chez l'animal que les cellules souches, et en particulier les PECs pouvaient coloniser les poumons ayant subi une agression radiative, chimique ou infectieuse, et les repeupler en pneumocytes de type I ou II, en fibroblastes, en cellules endothéliales, et en monocytes interstitiels [46]. Chez l'homme, des exemples de « chimérismes » cellulaires ont

également été rapportés après des greffes impliquant des donneurs et des receveurs de sexes différents [46].

Concernant les atteintes pulmonaires de réanimation, deux études ont montré que le nombre de PECs était un bon marqueur de la sévérité de l'atteinte pulmonaire. Ainsi, Yamada et al. ont rapporté que lors d'un épisode infectieux pulmonaire, le nombre de PECs étaient plus important lors de la phase inflammatoire que pendant la phase de convalescence et que les patients ayant la plus petite quantité de PECs présentaient une récupération pulmonaire plus faible [47], suggérant in vivo, l'importance de ces cellules dans la réparation pulmonaire que le même groupe avait montré chez l'animal [48]. Enfin, une étude rapporte des résultats identiques chez des patients de réanimation présentant une atteinte pulmonaire hypoxémiant [49]. De plus, il existe une différence significative dans le nombre des PECs entre les survivants et les non-survivants. Ainsi, les patients ayant un nombre de « colony-forming units » de PECs inférieurs à 35 ont un pronostic plus sévère que les autres. Ce score reste un facteur de risque de mortalité indépendant après ajustement sur le sexe, l'âge et la sévérité clinique basée sur le score SOFA [49]. Des études chez des patients présentant une insuffisance respiratoire chronique confirment ces résultats en montrant que la sévérité de l'atteinte respiratoire est inversement proportionnelle au nombre de PECs [50]. Ces résultats devraient conduire à envisager rapidement dans le SDRA des thérapies cellulaires ou des traitements permettant de mobiliser les cellules souches [51].

Progéniteurs endothéliaux circulants et sepsis

L'endothélium vasculaire est au centre de la physiopathologie du sepsis sévère. Il est à la fois victime et bourreau ! Victime car les cellules endothéliales sont soumises à de multiples agressions durant les états de choc septiques et peuvent être détachées dans la circulation générale, bourreau car elles sont le siège d'une production importante de cytokines et d'une activation majeure de la coagulation. Il est surprenant dans ces conditions qu'une seule étude se soit intéressée la présence de PECs chez des patients présentant un sepsis [52]. Dans le contexte particulier du sepsis lié à une pneumonie acquise sous ventilation, les auteurs ont retrouvé un nombre de PECs CD34+CD45+ très augmentés lors du sepsis comparativement au contrôle avec une corrélation inverse entre le taux d'IL6 et le nombre de PECs. De plus, contrairement aux études précédemment citées, un faible taux de PECs à J1 était associé à une meilleure survie [52].

Conclusions et perspectives

La découverte des cellules souches a ouvert une nouvelle approche de la médecine qui devrait bouleverser notre compréhension de la physiopathologie de nombreuses affections et pourrait ouvrir des perspectives thérapeutiques innovantes [2]. Plus particulièrement, le rôle des PECs comme biomarqueur cardiovasculaire, bien que n'étant encore qu'à un stade expérimental, va connaître un développement exponentiel dans les prochaines années. L'importance de ce nouveau biomarqueur dans d'autres

affections aiguës reste hypothétique et nécessite des études ayant une méthodologie stricte aussi bien dans la définition du phénotype clinique que dans les techniques permettant de caractériser les PECs. Concernant la thérapie cellulaire, malgré un engouement initial, il semble raisonnable de limiter son développement à des études multicentriques, qui pourront apprécier à la fois son efficacité mais aussi ses éventuels effets secondaires qui sont encore peu connus mais peuvent être graves (arythmie, formation de tumeurs telles qu'un tératome intracardiaque, réponse greffe contre hôte si des cellules non-autologues sont utilisées...) [53]. Néanmoins, malgré ces limites, les thérapies utilisant des PECs semblent prometteuses dans le cadre d'ischémie tissulaire ou de réparation vasculaire. Le développement de techniques d'engineering génétique de ces cellules devrait permettre d'accroître leur mobilisation, leur survie, leur capacité de colonisation des tissus cibles ainsi que leurs fonctions, augmentant ainsi l'efficacité et les indications de ces thérapies.

Références

- [1] Aird WC. Mechanisms of endothelial cell heterogeneity in health and disease. *Circ Res* 2006;98:159-62.
- [2] Vats A, Bielby RC, Tolley NS, Nerem R, Polak JM. Stem cells. *Lancet* 2005;366(9485):592-602.
- [3] Hwa C, Sebastian A, Aird WC. Endothelial biomedicine: its status as an interdisciplinary field, its progress as a basic science, and its translational bench-to bedside gap. *Endothelium* 2005;12(3):139-51.
- [4] Masuda H, Kalka C, Asahara T. Endothelial progenitor cells for regeneration. *Hum Cell* 2000;13(4):153-60.
- [5] Stump MM, Jordan Jr. GL, Debakey ME, Halpert B. Endothelium Grown from Circulating Blood on Isolated Intravascular Dacron Hub. *Am J Pathol* 1963;43:361-7.
- [6] Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, van der Zee R, Li T, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science* 1997;275(5302):964-7.
- [7] Asahara T. Stem cell biology for vascular regeneration. *Ernst Schering Res Found Workshop* 2005(54):111-29.
- [8] Shi Q, Rafii S, Wu MH, Wijelath ES, Yu C, Ishida A, et al. Evidence for circulating bone marrow-derived endothelial cells. *Blood* 1998;92(2):362-7.
- [9] Blann AD, Pretorius A. Circulating endothelial cells and endothelial progenitor cells: two sides of the same coin, or two different coins? *Atherosclerosis* 2006;188(1):12-8.
- [10] Boos CJ, Lip GY, Blann AD. Circulating endothelial cells in cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol* 2006;48(8):1538-47.
- [11] Szmítko PE, Fedak PW, Weisel RD, Stewart DJ, Kutryk MJ, Verma S. Endothelial progenitor cells: new hope for a broken heart. *Circulation* 2003;107(24):3093-100.
- [12] Rafii S, Heissig B, Hattori K. Efficient mobilization and recruitment of marrow-derived endothelial and hematopoietic stem cells by adenoviral vectors expressing angiogenic factors. *Gene Ther* 2002;9(10):631-41.
- [13] Handgretinger R, Gordon PR, Leimig T, Chen X, Buhring HJ, Niethammer D, et al. Biology and plasticity of CD133+ hematopoietic stem cells. *Ann N Y Acad Sci* 2003;996:141-51.
- [14] Rosenzweig A. Endothelial progenitor cells. *N Engl J Med* 2003;348(7):581-2.
- [15] Lin Y, Weisdorf DJ, Solovey A, Hebbel RP. Origins of circulating endothelial cells and endothelial outgrowth from blood. *J Clin Invest* 2000;105(1):71-7.
- [16] Zhao Y, Glesne D, Huberman E. A human peripheral blood monocyte-derived subset acts as pluripotent stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100(5):2426-31.
- [17] Hill JM, Zalos G, Halcox JP, Schenke WH, Waclawiw MA, Quyyumi AA, et al. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk. *N Engl J Med* 2003;348(7):593-600.
- [18] Tepper OM, Galiano RD, Capla JM, Kalka C, Gagne PJ, Jacobowitz GR, et al. Human endothelial progenitor cells from type II diabetics exhibit impaired proliferation, adhesion, and incorporation into vascular structures. *Circulation* 2002;106(22):2781-6.
- [19] Laufs U, Werner N, Link A, Endres M, Wassmann S, Jurgens K, et al. Physical training increases endothelial progenitor cells, inhibits neointima formation, and enhances angiogenesis. *Circulation* 2004;109(2):220-6.
- [20] Kondo T, Hayashi M, Takeshita K, Numaguchi Y, Kobayashi K, Lino S, et al. Smoking cessation rapidly increases circulating progenitor cells in peripheral blood in chronic smokers. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24(8):1442-7.
- [21] Kusuyama T, Omura T, Nishiva D, Enomoto S, Matsumoto R, Murata T, et al. The effects of HMG-CoA reductase inhibitor on vascular progenitor cells. *J Pharmacol Sci* 2006;101(4):344-9.
- [22] Laus U, Custodis F, Bohm M. HMG-CoA reductase inhibitors in chronic heart failure: potential mechanisms of benefit and risk. *Drugs* 2006;66(2):145-54.
- [23] Walter DH, Dimmeler S, Zeiher AM. Effects of statins on endothelium and endothelial progenitor cell recruitment. *Semin Vasc Med* 2004;4(4):385-93.
- [24] Werner S, Kosiol S, Schiegl T, Ahlers P, Walenta K, Link A, et al. Circulating endothelial progenitor cells and cardiovascular outcomes. *N Engl J Med* 2005;353(10):999-1007.
- [25] Kunz GA, Liang G, Cuculi F, Gregg D, Vata KC, Shaw LK, et al. Circulating endothelial progenitor cells predict coronary artery disease severity. *Am Heart J* 2006;152(1):190-5.
- [26] Schmidt-Lucke C, Rossig L, Fichtlscherer S, Vasa M, Britten M, Kamper U, et al. Reduced number of circulating endothelial progenitor cells predicts future cardiovascular events: proof of concept for the clinical importance of endogenous vascular repair. *Circulation* 2005;111(22):2981-7 (7).
- [27] Takahashi T, Kalka C, Masuda H, Chen D, Silver M, Kearney M, et al. Ischemia- and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization. *Nat Med* 1999;5(4):434-8.
- [28] Schintani S, Murohara T, Ikeda T, Ueno T, Honma T, Katoh A, et al. Mobilization of endothelial progenitor cells in patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 2001;103(23):2776-9.
- [29] Werner N, Nickenig G. Clinical and therapeutic implications of EPC biology in atherosclerosis. *J Cell Mol Med* 2006;10(2):318-32.
- [30] Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Jakoniuk I, Anderson SM, Li B, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 2001;410(6829):701-5.
- [31] Kawamoto A, Gwon HC, Iwaguro H, Yamaguchi JI, Uchida S, Masuda H, et al. Therapeutic potential of ex vivo expanded endothelial progenitor cells for myocardial ischemia. *Circulation* 2001;103:634-7.
- [32] Chen CP, Lee YJ, Chiu ST, Shyu WC, Lee MY, Huang SP, et al. The application of stem cells in the treatment of ischemic diseases. *Histol Histopathol* 2006;21:1209-16.
- [33] Balsam LB, Wagers AJ, Christensen JL, Kofidis T, Weissman IL, Robbins RC. Haematopoietic stem cells adopt mature haematopoietic fates in ischaemic myocardium. *Nature* 2004;428:668-73.
- [34] Gneccchi M, He H, Noiseux N, Liang OD, Zhang L, Morello F, et al. Evidence supporting paracrine hypothesis for Akt-

- modified mesenchymal stem cell-mediated cardiac protection and functional improvement. *Faseb J* 2006;20:661-9.
- [35] Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Limana F, Jakoniuk I, Quaini F, et al. Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98:10344-9.
- [36] Kawamoto A, Iwasaki H, Kusano K, Murayama T, Oyamada A, Silver M, et al. CD34-Positive Cells Exhibit Increased Potency and Safety for Therapeutic Neovascularization After Myocardial Infarction Compared With Total Mononuclear Cells. *Circulation* 2006;114:2163-9.
- [37] Kocher AA, Schuster MD, Szabolcs MJ, Takuma S, Burkhoff D, Wang J, et al. Neovascularization of ischemic myocardium by human bone-marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function. *Nat Med* 2001;7:430-6.
- [38] Assmus B, Honold J, Schachinger V, Britten MB, Fischer-Rasokat U, Lehmann R, et al. Transcoronary transplantation of progenitor cells after myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006;55:1222-32.
- [39] Assmus B, Schachinger V, Teupe C, Britten M, Lehmann R, Dohert N, et al. Transplantation of Progenitor Cells and Regeneration Enhancement in Acute Myocardial Infarction (TOPCARE-AMI). *Circulation* 2002;106:3009-17.
- [40] Janssens S, Dubois C, Bogaert J, Theunissen K, Deroose C, Desmet W, et al. Autologous bone marrow-derived stem-cell transfer in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: double-blind, randomised controlled trial. *Lancet* 2006;367:113-21.
- [41] Meyer GP, Wollert KC, Lotz J, Steffens J, Lippolt P, Fichtner S, et al. Intracoronary bone marrow cell transfer after myocardial infarction: eighteen months' follow-up data from the randomized, controlled BOOST (BOne marrOw transfer to enhance ST-elevation infarct regeneration) trial. *Circulation* 2006;113(10):1287-94.
- [42] Zohlnhofer D, Ott I, Mehilli J, Schomig K, Michalk F, Ibrahim T, et al. REVIVAL-2 Investigators. Stem cell mobilization by granulocyte colony-stimulating factor in patients with acute myocardial infarction: a randomized controlled trial. *JAMA* 2006;295(9):1003-10.
- [43] Wollert KC, Drexler H. Cell-based therapy for heart failure. *Curr Opin Cardiol* 2006;21(3):234-9.
- [44] Schachinger V, Erbs S, Elsasser A, Haberbosch W, Hambrecht R, Holschermann H, et al. REPAIR-AMI Investigators. Intracoronary bone marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006;355(12):1210-21.
- [45] Krause DS, Theise ND, Collector MI, Henegariu O, Hwang S, Gardner R, et al. Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. *Cell* 2001;105(3):369-77.
- [46] Krause DS. Engraftment of bone marrow-derived epithelial cells. *Ann N Y Acad Sci* 2005;1044:117-24.
- [47] Yamada M, Kubo H, Ishizawa K, Kobayashi S, Shinkawa M, Sasaki H. Increased circulating endothelial progenitor cells in patients with bacterial pneumonia: evidence that bone marrow derived cells contribute to lung repair. *Thorax* 2005;60(5):410-3.
- [48] Yamada M, Kubo H, Kobayashi S, Ishizawa K, Numasaki M, Ueda S, et al. Bone marrow-derived progenitor cells are important for lung repair after lipopolysaccharide-induced lung injury. *J Immunol* 2004;172(2):1266-72.
- [49] Burnham EL, Taylor WR, Quyyumi AA, Rojas M, Brigham KL, Moss M. Increased circulating endothelial progenitor cells are associated with survival in acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;172(7):854-60.
- [50] Fadini GP, Schiavon M, Cantini M, Baesso I, Facco M, Miorin M, et al. Circulating progenitor cells are reduced in patients with severe lung disease. *Stem Cells* 2006;24(7):1806-13.
- [51] Yen CC, Yang SH, Lin CY, Chen CM. Stem cells in the lung parenchyma and prospects for lung injury therapy. *Eur J Clin Invest* 2006;36(5):310-9.
- [52] Tsaganos T, Giamarellos-Bourboulis EJ, Kollias S, Zervakis D, Karagianni V, Pelekanou A, et al. Kinetics of progenitor hemopoietic stem cells in sepsis: correlation with patients survival? *BMC Infect Dis* 2006;6:142.
- [53] Laflamme MA, Murry CE. Regenerating the heart. *Nat Biotechnol* 2005;23(7):845-56.