



BU bibliothèque Lyon 1

<http://portaildoc.univ-lyon1.fr>

Creative commons : Paternité - Pas d'Utilisation Commerciale -
Pas de Modification 2.0 France (CC BY-NC-ND 2.0)



<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.0/fr>

**UNIVERSITE CLAUDE BERNARD-LYON I
U.F.R. D'ODONTOLOGIE**

Année 2014

THESE N° 2014 LYO 1D

**T H E S E
POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE**

Présentée et soutenue publiquement le : Lundi 24 Février 2014

par

LAX-COMERRO Lorène

Née le 14 juin 1989, à Oullins (69)

**LES « CELLULES SOUCHES DENTAIRES » :
EXEMPLE DES CELLULES SOUCHES PULPAIRES
ET APPLICATIONS POSSIBLES EN ODONTOLOGIE**

JURY

M. le Professeur FARGES Jean-Christophe

Président

Mme. le Docteur BODARD Anne-Gaëlle

Assesseur

M. le Docteur JEANNIN Christophe

Assesseur

M. le Docteur DUCRET Maxime

Assesseur

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON I

Président de l'Université	M. le Professeur F-N. GILLY
Vice-Président du Conseil Scientifique	M. le Professeur P-G. GILLET
Vice-Président du Conseil des Etudes et de Vie Universitaire	M. le Professeur P. LALLE
Directeur Général des Services	M. A. HELLEU

SECTEUR SANTE

Comité de Coordination des Etudes Médicales	Président : Mme la Professeure C. VINCIGUERRA
Faculté de Médecine Lyon Est	Directeur : M. le Professeur. J. ETIENNE
Faculté de Médecine et Maïeutique Lyon-Sud Charles Mérieux	Directeur : Mme la Professeure C. BURILLON
Faculté d'Odontologie	Directeur : M. le Professeur D. BOURGEOIS
Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques	Directeur : Mme la Professeure C. VINCIGUERRA
Institut des Sciences et Techniques de la Réadaptation	Directeur : M. le Professeur Y. MATILLON
Département de Formation et Centre de Recherche en Biologie Humaine	Directeur : Mme la Professeure A.M. SCHOTT

SECTEUR SCIENCES ET TECHNOLOGIES

Faculté des Sciences et Technologies	Directeur : M. le Professeur F. DE MARCHI
UFR des Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives	Directeur : M. le Professeur C. COLLIGNON
Institut Universitaire de Technologie Lyon 1	Directeur : M. C. VITON, Maître de Conférences
Ecole Polytechnique Universitaire de l'Université Lyon 1	Directeur : M. P. FOURNIER
Institut de Science Financière et d'Assurances	Directeur : Mme la Professeure V. MAUME DESCHAMPS
Institut Universitaire de Formation des Maîtres De l'Académie de Lyon (IUFM)	Directeur : M. A. MOUGNIOTTE
Observatoire de Lyon	Directeur : M. B. GUIDERDONI, Directeur de Recherche CNRS
Ecole Supérieure de Chimie Physique Electronique	Directeur : M. G. PIGNAULT

FACULTE D'ODONTOLOGIE DE LYON

Doyen : M. Denis BOURGEOIS, Professeur des Universités

Vice-Doyen : Mme Dominique SEUX, Professeure des Universités

SOUS-SECTION 56-01: **PÉDODONTIE**

Professeur des Universités : M. Jean-Jacques MORRIER
Maître de Conférences : M. Jean-Pierre DUPREZ

SOUS-SECTION 56-02 : **ORTHOPÉDIE DENTO-FACIALE**

Maîtres de Conférences : M. Jean-Jacques AKNIN, Mme Sarah GEBEILE-CHAUTY,
Mme Claire PERNIER, Mme Monique RABERIN

SOUS-SECTION 56-03 : **PRÉVENTION - EPIDÉMIOLOGIE
ECONOMIE DE LA SANTÉ - ODONTOLOGIE LÉGALE**

Professeur des Universités : M. Denis BOURGEOIS
Professeur des Universités Associé : M. Juan Carlos LLODRA CALVO
Maître de Conférences : M. Bruno COMTE

SOUS-SECTION 57-01 : **PARODONTOLOGIE**

Maîtres de Conférences : Mme Kerstin GRITSCH, M. Pierre-Yves HANACHOWICZ,
M. Philippe RODIER

SOUS-SECTION 57-02 : **CHIRURGIE BUCCALE – PATHOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE
ANESTHÉSIOLOGIE ET RÉANIMATION**

Maître de Conférences : Mme Anne-Gaëlle CHAUX-BODARD, M. Thomas FORTIN,
M. Jean-Pierre FUSARI

SOUS-SECTION 57-03 : **SCIENCES BIOLOGIQUES**

Professeur des Universités : M. J. Christophe FARGES
Maîtres de Conférences : Mme Odile BARSOTTI, Mme Béatrice RICHARD,
Mme Béatrice THIVICHON-PRINCE, M. François VIRARD

SOUS-SECTION 58-01 : **ODONTOLOGIE CONSERVATRICE - ENDODONTIE**

Professeur des Universités : M. Pierre FARGE, M. Jean-Christophe MAURIN, Mme
Dominique SEUX
Maîtres de Conférences : Mme Marion LUCCHINI, M. Thierry SELLI, M. Cyril VILLAT

SOUS-SECTION 58-02 : **PROTHÈSE**

Professeurs des Universités : M. Guillaume MALQUARTI, Mme Catherine MILLET
Maîtres de Conférences : M. Christophe JEANNIN, M. Renaud NOHARET, M. Gilbert
VIGUIE, M. Stéphane VIENNOT, M. Bernard VINCENT

SOUS-SECTION 58-03 : **SCIENCES ANATOMIQUES ET PHYSIOLOGIQUES
OCCLUSODONTIQUES, BIOMATÉRIAUX, BIOPHYSIQUE, RADIOLOGIE**

Professeur des Universités : Mme Brigitte GROSGOGEAT, M. Olivier ROBIN
Maîtres de Conférences : M. Patrick EXBRAYAT, Mme Sophie VEYRE-GOULET
Maître de Conférences Associé : Mme Doris MOURA CAMPOS

A notre Président du jury,

Monsieur le Professeur Jean-Christophe FARGES

Professeur des Universités à l'UFR d'Odontologie de Lyon

Praticien-Hospitalier

Docteur en Chirurgie Dentaire

Docteur de l'Université Lyon I

Responsable de la sous-section Sciences Biologiques

Habilité à Diriger des Recherches

Vous nous faites l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.

Nous avons eu le plaisir de profiter de vos conseils aussi bien pratiques que théoriques au cours de notre cursus universitaire.

Merci d'avoir su vous rendre disponible lorsque nous vous avons sollicitée, ainsi que pour l'aide que vous nous avez apportée pour l'élaboration de notre travail.

Veillez recevoir ici le témoignage de notre estime et de notre sincère reconnaissance.

A nos juges,

Madame le Docteur Anne-Gaëlle CHAUX-BODARD

Maître de Conférences à l'UFR d'Odontologie de Lyon

Praticien-Hospitalier

Docteur en Chirurgie Dentaire

Ancien Interne en Odontologie

Docteur de l'Université Grenoble 1

Nous vous remercions d'avoir si gentiment et spontanément accepté de siéger dans notre jury de thèse.

Nous avons eu le plaisir de profiter de vos précieux conseils et de votre humanité dans l'enseignement que vous nous avez donné.

Nous ne pouvons ainsi plus prendre un syndesmotome sans que l'équation « pas de lunettes = pas d'extraction » ne nous revienne en mémoire.

Apprendre la chirurgie avec vous a été un réel plaisir.

Puisse ce travail vous témoigner toute l'estime que nous vous portons.

A nos juges,

Monsieur le Docteur Christophe JEANNIN

Maître de Conférences à l'UFR d'Odontologie de Lyon

Praticien-Hospitalier

Docteur en Chirurgie Dentaire

Docteur de l'Institut National Polytechnique de Grenoble

*Nous vous remercions du plaisir que
vous nous faites en siégeant parmi nos juges.*

*Merci pour votre aide et votre disponibilité
dans l'élaboration de notre travail.*

*Vos conseils avisés, votre passion, votre
patience et votre compétence nous permettent d'avancer
sereinement dans notre carrière, et de devenir jour
après jour « le bon dentiste » que nous voudrions être.*

*Merci à votre équipe qui a su être à notre
écoute et nous ont permis de nous épanouir dans
notre première expérience professionnelle.*

Merci pour votre gentillesse.

*Veillez trouver dans ce travail le
témoignage de notre sincère considération.*

A notre Directeur de thèse,

Monsieur le Docteur Maxime DUCRET

Assistant hospitalo-universitaire au CSERD de Lyon

Docteur en Chirurgie Dentaire

Nous vous remercions de l'honneur que vous nous avez fait en acceptant la direction de notre thèse.

Nous vous sommes reconnaissant pour vos précieux conseils dans l'élaboration de notre travail, et votre rapidité de réponse pour vos corrections.

Merci d'avoir su vous rendre disponible lorsque nous vous avons sollicitée.

Merci de nous avoir transmis la passion des cellules souches, et la rigueur que nécessite un tel travail.

Veillez trouver dans cette thèse l'expression de nos remerciements et de notre profond respect.

TABLE DES ABBREVIATIONS

ARN: Acide Ribonucléique

BDGF : Brain Derived Growth Factor

bFGF : basic Fibroblast Growth Factor

BMMSC: Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells

BMSSC: Bone Marrow Stroma Stem Cells

DPSCs: Dental Pulp Stem Cells

DFSCs: Dental Follicle Stem Cells

FACS: Fluorescent Activated Cell Sorting

IDPSC: Immature Dental Pulp Stem Cells

IGF: Insulin-like Growth Factor

iPSC: induced Pluripotent Stem Cells

MACS: Magnetic Activated Cell Sorting

MSC: Mesenchymal Stem Cells

ODHPSC: Osteoblasts Derived from Human Pulp Stem Cells.

PDLSCs: Periodontal Ligament Stem Cells

SCAP: Stem Cells of Apical Papilla

SGSCs: Salivary Gland Stem Cells

SHED: Stem Cells from Human

Exfoliated Deciduous teeth

TGPCs: Tooth Germ Progenitor Cells

TABLE DES MATIÈRES

TABLE DES ABREVIATIONS.....	9
TABLE DES MATIÈRES	10
TABLE DES FIGURES.....	12
INTRODUCTION	14
I – LES CELLULES SOUCHES « D’ORIGINE DENTAIRE »	15
1 – LES CELLULES SOUCHES	15
<i>A) Les cellules souches/indifférenciées : propriétés fondamentales et rôle physiologique</i>	<i>15</i>
a) Cellules souches totipotentes	16
b) Cellules souches pluripotentes	16
c) Cellules souches multipotentes	17
d) Cellules en cours de différenciation.....	17
e) Cellules souches pluripotentes induites (iPSCs)	17
<i>B) Le concept de « niche » cellulaire.....</i>	<i>18</i>
<i>C) Isolement et marqueurs cellulaires.....</i>	<i>19</i>
2 – LES CELLULES SOUCHES D’ORIGINE « DENTAIRE » ET « PÉRI-DENTAIRE »	21
<i>A) Cellules souches des dents lactéales (SHED).....</i>	<i>21</i>
<i>B) Cellules souches de la papille apicale (SCAP)</i>	<i>22</i>
<i>C) Cellules souches du ligament parodontal (PDLSC).....</i>	<i>24</i>
<i>D) Cellules souches du follicule dentaire (DFSC)</i>	<i>25</i>
<i>E) Cellules souches pulpaires (DPSCs).....</i>	<i>26</i>
II – LES CELLULES SOUCHES DE LA PULPE DENTAIRE : ISOLEMENT, AMPLIFICATION ET DIFFÉRENCIATION	28
1 – PRÉLÈVEMENT ET ISOLEMENT DES CELLULES	28
<i>A) Techniques d’isolement.....</i>	<i>31</i>
a) Explant	31
b) Dissociation par dispase/collagénase pendant une heure	32
<i>B) Technique de purification</i>	<i>32</i>

a) Par migration.....	32
b) Par adhésion au plastique	33
c) Par taille	33
d) Par tri cellulaire par action Magnétique/Fluorescente (Cell Sorting)	35
2 – POTENTIEL DE DIFFÉRENCIATION <i>IN VITRO/ IN VIVO</i>	38
A) <i>Différenciation ostéoblastique</i>	38
B) <i>Différenciation adipocytaire</i>	39
C) <i>Différenciation chondrocytaire</i>	39
D) <i>Différenciation neuronale</i>	40
E) <i>Différenciation musculaire</i>	40
F) <i>Différenciation hépatocytaire</i>	41
G) <i>Différenciation mélanocytaire</i>	41
III – PERSPECTIVES ODONTOLOGIQUES	43
1 - NÉOFORMATION RADICULAIRE	43
2 - RÉGÉNÉRATION PULPAIRE.....	46
3 - RÉGÉNÉRATION OSSEUSE/PARODONTALE	48
CONCLUSION.....	50
BIBLIOGRAPHIE	51

TABLE DES FIGURES

<u>Figure 1</u> : Schéma des différents types de cellules indifférenciées	16
<u>Figure 2</u> : Schéma de division asymétrique d'une cellule souche.....	18
<u>Figure 3</u> : Schéma des différentes cellules souches de l'organe dentaire.....	21
<u>Figure 4</u> : Anatomie de la papille apicale.....	23
<u>Figure 5</u> : Photo de la papille apicale d'une dent de sagesse mandibulaire jumelée avant la fin de son édification radriculaire	24
<u>Figure 6</u> : le germe dentaire.....	25
<u>Figure 7</u> : Classification de Nolla.....	28
<u>Figure 8</u> : Photo de dents de sagesse maxillaire et mandibulaire juste après extraction	29
<u>Figure 9</u> : Photo de collecte de dents dans un tube de collection provenant d'une patiente de 20 ans	29
<u>Figure 10</u> : Photo de dent de sagesse maxillaire sectionnée à l'aide d'un disque, après extraction, en vue du prélèvement pulpaire.....	30
<u>Figure 11</u> : Photo de récupération de la pulpe dentaire d'une dent au stade 4 ou 5 de Nolla.....	30
<u>Figure 12</u> : Photo de fractionnement de la pulpe avec un scalpel pour obtenir des explants de 0,5 à 2 mm ³	31
<u>Figure 13</u> : Photo montrant l'isolement de DSPC par culture d'explants dans différentes boîtes de Pétri pour une même patiente n°16	31
<u>Figure 14</u> : Photo représentant des fragments de pulpe dentaire pendant la digestion enzymatique	32
<u>Figure 15</u> : Photo de microscopie inversée montrant des cellules en migration à partir d'un fragment de pulpe	32
<u>Figure 16</u> : Photo de microscopie représentant des DPSC en culture sur une boîte de Pétri	33
<u>Figure 17</u> : Schéma du protocole d'isolement par la taille cellulaire	34
<u>Figure 18</u> : Photo d'élimination des débris cellulaires par tamis à 20µm après bain enzymatique	34
<u>Figure 19</u> : Schéma du protocole de tri cellulaire activé par magnétisme.....	35

<u>Figure 20</u> : Schéma du marquage des cellules d'intérêt de façon directe ou indirecte à l'aide d'anticorps dirigés contre les marqueurs membranaires des cellules indifférenciées.....	36
<u>Figure 21</u> : Schéma du protocole de tri cellulaire magnétique par sélection positive	36
<u>Figure 22</u> : Schéma du protocole de tri cellulaire par fluorescence	37
<u>Figure 23</u> : Photo de microscopie à fluorescence de cellules souches mésenchymateuses isolées à partir de pulpe dentaire humaine	38
<u>Figure 24</u> : Schéma synthétisant les différentes applications médicales possibles utilisant des cellules souches pulpaires	42
<u>Figure 25</u> : Construction d'une dent "bio-ingénériée"	44
<u>Figure 26</u> : Schéma du protocole de génération d'une unité dentaire « bio-ingénériée	45
<u>Figure 27</u> : Unité dentaire "bio-ingénériée"	45
<u>Figure 28</u> : Analyse histologique de l'unité dentaire "bio-ingénériée" à 30 jours	46
<u>Figure 29</u> : Revascularisation d'une prémolaire avec cicatrisation osseuse après désinfection tri-antibiotiques et obturation par MTA	47
<u>Figure 30</u> : Radiographies des sites T (test) et C (contrôle) chez un patient avant et après extraction des dents de sagesse mandibulaires.....	49

Introduction

Les cellules souches sont aujourd'hui au centre de l'actualité scientifique, bien que leur découverte date de plus de quarante ans. D'abord sur le plan médico-légal, par la révision de la loi de bioéthique de 2004 autorisant par dérogation et sous stricte surveillance, le travail sur les cellules souches provenant d'embryons humains. Le développement des banques de stockage met également les cellules souches face à une nouvelle problématique industrielle et commerciale qui divise les états. Enfin, le nombre de publications sur le sujet ne cesse de croître, avec un impact scientifique grandissant, comme le montre le prix Nobel de médecine 2012, remis aux scientifiques John GURDON et Shinya YAMANAKA pour l'obtention de cellules souches induites (iPSC : induced Pluripotent stem cells), à partir de cellules différenciées de l'épiderme humain¹, ou encore l'invention du steak haché à partir de cellules souches de bœuf^{2,3}.

Cet engouement pour les cellules souches s'explique en grande partie par le développement de la médecine « régénérative », basée sur le concept de l'ingénierie tissulaire. Le but est de reconstruire un tissu ou un organe entier, identique à l'original et prêt à être greffé, grâce à 3 outils : des cellules, un biomatériau et des « médiateurs chimiques ».

Comme tous les acteurs des métiers de la santé, le chirurgien-dentiste sera lui aussi confronté prochainement aux cellules souches et à la médecine régénérative.

Ainsi, l'objectif de ce travail est d'étudier comment les cellules souches pourrait modifier notre activité future, au travers d'un modèle qui nous semble le plus susceptible d'être un jour utilisable: les cellules souches de la pulpe dentaire.

Pour ce faire, nous essayerons de définir dans une première partie ce que sont les cellules « souches », ainsi que tous les sites où elles pourraient être présentes au niveau de la cavité buccale. Ensuite, pour illustrer les aspects technologiques et expérimentaux, nous étudierons le modèle des cellules souches issues de la pulpe dentaire. Enfin, nous exposerons synthétiquement dans une dernière partie, les différentes applications possibles des cellules souches dans le domaine odontologique.

I – Les cellules souches « d’origine dentaire »

1 – Les cellules souches

Afin d’utiliser un vocabulaire commun, il est nécessaire de définir clairement ce qu’est une « cellule souche ».

A) Les cellules souches/indifférenciées : propriétés fondamentales et rôle physiologique

Historiquement, les premières cellules souches isolées, il y a 40 ans par Friedenstein, étaient issues de la moelle osseuse ⁴. Elles se regroupaient en « colony-forming unit fibroblasts » (CFU-Fs), qui semblaient capables d’une différenciation ostéoblastique. Deux types de cellules souches furent ensuite identifiées : les cellules souches stromales, (BMSSC : Bone Marrow Stromal Stem Cells), qui sont des progéniteurs hématopoïétiques, et les cellules souches mésenchymateuses (BMMSC : Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells) qui peuvent engendrer de nombreux types cellulaires comme les adipocytes, les chondrocytes, les ostéocytes et les fibroblastes. Elles font partie de la famille des MSC (Mesenchymal Stem Cells) et représentent actuellement la référence (gold standard) à laquelle sont comparées les autres cellules souches en termes de marqueurs cellulaires, de capacité de prolifération et de différenciation ⁵⁻⁸.

Les cellules souches sont des cellules indifférenciées qui ont un pouvoir d’auto-renouvellement tout au long de la vie de l’individu, elles présentent également la capacité de se différencier en de nombreux types cellulaires, mais elles n’ont en revanche pas la structure spécifique d’une cellule spécialisée. Ces cellules participent principalement à la cicatrisation et au renouvellement du pool cellulaire d’un tissu.

Les cellules souches peuvent être d’origine anté-natales (embryonnaires), péri-natales (cordon ombilical) ou post-natales (adultes), et se classent en fonction de leur potentiel de différenciation plus ou moins important : totipotentes, pluripotentes, multipotentes, bipotentes ou unipotentes.

Pour la suite de notre exposé, nous utiliserons le terme de MSC pour *Mesenchymal Stem Cell*, aussi appelée CSM pour Cellule Souche Mésenchymateuse.

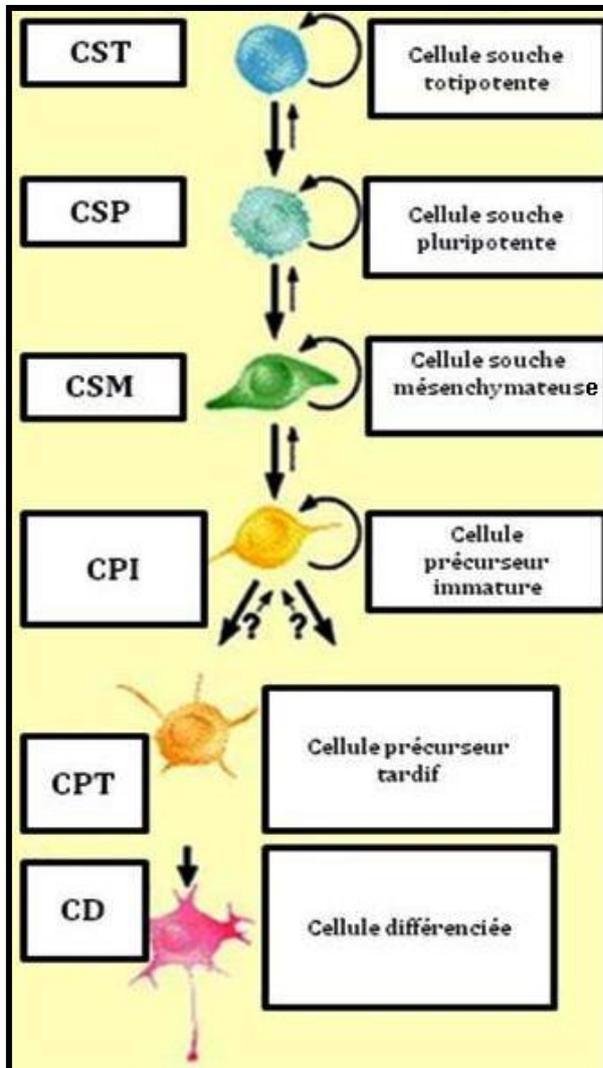


Figure 1 : Schéma des différents types de cellules indifférenciées (d'après ¹¹⁹)

a) Cellules souches totipotentes

Une cellule souche est totipotente (CST, Fig. 1) lorsqu'elle est capable de se différencier en toutes les cellules d'un organisme. Elles sont retrouvées aux premiers stades du développement de l'embryon, jusqu'au stade de la morula (quatrième jour après la fécondation, stade de 16 à 64 cellules) ⁹⁻¹¹.

b) Cellules souches pluripotentes

Les cellules souches pluripotentes (CSP, Fig. 1) sont issues de l'embryon (jusqu'au 2^{ème} mois), ou du fœtus (du 3^{ème} au 9^{ème} mois). Elles ont la capacité de se différencier en tous types de cellules du mésoderme, de l'endoderme ou de

l'ectoderme, ce qui laisse envisager de nombreuses applications cliniques ^{9, 10, 12,}

^{13.} Leur utilisation pose néanmoins un problème éthique car le prélèvement des cellules souches nécessite la mort de l'embryon. Même si des exceptions existent, la recherche sur les cellules souches pluripotentes est normalement interdite en France. De plus, leur utilisation dans des protocoles d'ingénierie tissulaire expose à un risque de cancérisation et de rejet immun non négligeable ¹⁴.

c) Cellules souches multipotentes

Les cellules souches multipotentes (CSM, Fig. 1) peuvent se différencier en cellules provenant du même feuillet embryonnaire : mésoderme (reins, gonades, vaisseaux sanguins...), ectoderme (épiderme, cornée, moelle épinière, système nerveux...) ou endoderme (glandes digestives, épithéliums du tube digestif et respiratoire)¹⁰⁻¹².

d) Cellules en cours de différenciation

Il s'agit de progéniteurs précoces (CPI, CPT, CD : Fig. 1) qui peuvent se multiplier et se différencier, mais qui ne possèdent plus la capacité de s'auto renouveler.

- Précurseur immature (CPI) = progéniteur uni ou bipotent)

Ces cellules peuvent donner naissance à des précurseurs tardifs, qui posséderont un engagement avancé dans leur différenciation.

- Précurseur tardif (CPT)

Ces cellules sont en cours de différenciation, pour pouvoir jouer le rôle de cellules spécialisées (CD) (ex : préodontoblaste).

e) Cellules souches pluripotentes induites (iPSCs)

Les iPSCs (Induced Pluripotent Stem Cells) sont des cellules souches pluripotentes qui ont été fabriquées en laboratoire à partir de cellules différenciées humaines adultes. Après isolement, une combinaison de plusieurs gènes clés, retrouvés actifs dans les cellules souches (Oct-3/4, Sox2, c-Myc et Klf4), sont introduits par un rétrovirus dans les cellules différenciées, ce qui leur donne des caractéristiques proche des cellules souches pluripotentes.

Cette découverte représenterait une avancée majeure dans le domaine des cellules souches car cela permettrait de contourner les interdits éthiques concernant les cellules souches embryonnaires. Cependant, l'utilisation de gènes hautement prolifératifs comme c-Myc, augmente le risque de voir se développer des cancers.

La transmission germinale de telles cellules pourrait également poser problème. D'autres techniques de production doivent donc être développées pour optimiser et sécuriser ces iPSCs^{1,15}.

B) Le concept de « niche » cellulaire

La présence de cellules souches est caractérisée dans différents tissus autres que la moelle osseuse, comme l'épiderme¹⁶, les follicules pileux¹⁷, les muscles squelettiques¹⁸, le cerveau¹⁹ et la pulpe dentaire²⁰.

Ces cellules seraient retrouvées, dans des zones bien spécifiques appelées « niches », qui sont des micro-environnements particuliers au sein des tissus et qui influencent le devenir des cellules souches (attente, auto-renouvellement ou différenciation)²¹⁻²⁴.

Une « niche » est un concept basé sur un ensemble de cellules en trois dimensions au centre duquel se trouve la cellule souche « mère » ou « originelle » qui s'auto-renouvelle tout en créant des cellules filles progénitrices, par un phénomène de division asymétrique (Fig. 2).

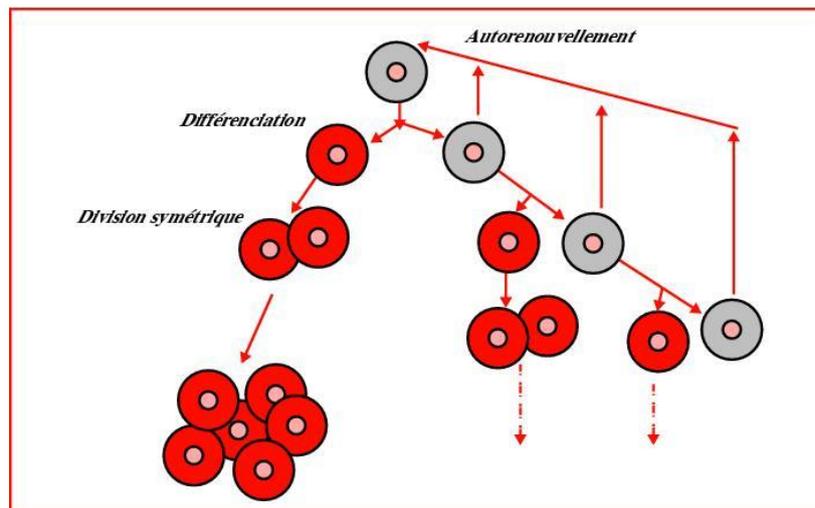


Figure 2 : Schéma de division asymétrique d'une cellule souche (grise) en une cellule entamant un mécanisme de différenciation (rouge) et en une cellule souche « fille » (grise)²⁵.

Ces cellules filles progénitrices ont une capacité d'auto renouvellement plus limitée, mais un taux de prolifération beaucoup plus élevé que la cellule « mère », elles sont plus engagées dans une voie de différenciation, tout en conservant une certaine plasticité. En périphérie, les cellules sont de plus en plus spécialisées, mais elles n'ont plus les particularités de la cellule souche. Il existe également d'autres types cellulaires de soutien qui génèrent un environnement riche en facteurs et en molécules, servant à maintenir l'état indifférencié des cellules souches, et à les préserver de l'apoptose ou de l'épuisement ^{26, 27}.

La communication entre ces différentes cellules et entre les cellules et leur environnement permet le maintien du statut quiescent (état de repos) de la « niche », mais la réactivité aux stimuli externes en fait un système dynamique. La moelle osseuse serait le plus grand site de niches de MSC du corps humain, dans lesquelles des interactions peuvent se produire avec les cellules souches hématopoïétiques. Il existe par exemple des niches endo-osseuses et/ou périvasculaires ²⁸.

C) Isolement et marqueurs cellulaires

Les cellules souches sont une très infime partie de la population cellulaire totale d'un tissu puisqu'elles représenteraient seulement 1 à 4% de cette population, en comptant les cellules progénitrices, ce qui rend leur isolement complexe et très souvent hétérogène ^{22, 29}. Des étapes de purification seront impératives pour pouvoir exploiter correctement ces cellules en laboratoire, puis en clinique.

Des caractères physiques tels que la morphologie, les éléments cellulaires présents, ou leur capacité d'adhérence sur certaines surfaces, sont utilisés pour reconnaître ces cellules.

Dans la moelle osseuse, par exemple, les BMSSC et les BMMSC ont de nombreux marqueurs cellulaires en commun, ce qui rend obligatoire la recherche de marqueurs spécifiques afin de pouvoir différencier et séparer les deux populations cellulaires.

Par exemple, selon Dominici et Rodriguez-Lozano, pour qu'une colonie soit considérée comme cellules souches mésenchymateuses, elle doit être adhérente en culture standard, elle doit avoir un potentiel de différenciation *in vitro* en ostéoblastes, adipocytes et chondrocytes, et son immunophénotypage doit présenter au moins 95% de cellules positives pour le marqueur CD 105, CD 73 et CD 90 et moins de 2% de cellules positives pour le marqueur hématopoïétique CD45, le marqueur endothélial CD34, les marqueurs des monocytes et des macrophages CD11b et CD14, et les marqueurs lymphocytaires CD19 et CD79a, ou HLA-II^{30,31}. Ces critères qui servent actuellement de référence sont ceux de l'International Society for Cellular Therapy.

Malgré tout, il existe une variabilité de réponse aux protocoles de différenciation et dans l'expression de ces marqueurs, en fonction de la technique d'isolement, du milieu de culture, du temps de culture, de la source cellulaire, ce qui entretient la question de l'hétérogénéité des populations cellulaires isolées.

La séparation des différents types de cellules souches reste aujourd'hui une étape difficile, et la recherche de nouvelles techniques d'isolement ou de marqueurs membranaires spécifiques (ou combinaison de marqueurs) permettrait d'affiner l'isolement de ces cellules et de cultiver des populations plus homogènes.

2 – Les cellules souches d’origine « dentaire » et « péri-dentaire »

Les cellules souches d’origine dentaire (Fig. 3) ont les mêmes propriétés que les MSC, à savoir, l’auto-renouvellement et le potentiel de différenciation en plusieurs lignées cellulaires. Ces cellules sont retrouvées dans de nombreuses zones de l’organe dentaire, comme la pulpe, le ligament parodontal, le follicule dentaire, ou la papille apicale de la dent permanente, ou déciduale. La physiopathologie de ces différents types cellulaires est encore méconnue, mais elles semblent jouer un rôle dans l’homéostasie de l’organe²².

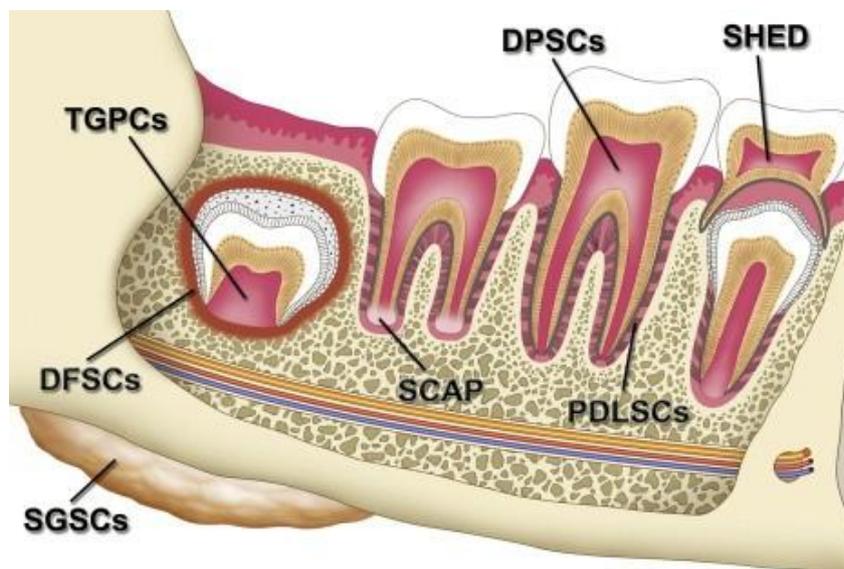


Figure 3: Schéma des différentes cellules souches de l’organe dentaire
SHED (cellules souches des dents déciduales), DPSC (cellules souches de la pulpe dentaire),
PDLSC (cellules souches du ligament parodontal), SCAP (cellules souches de la papille apicale),
DFSC (cellules souches du follicule dentaire)¹⁰⁹

A) Cellules souches des dents lactéales (SHED)

Les cellules souches des dents lactéales exfoliées, appelées aussi SHED pour *Stem cells from Human Exfoliated Deciduous teeth*, représentent une source de cellules souches multipotentes post-natales facilement accessibles, qui peuvent être isolées et cultivées *ex vivo*³² (Fig.3).

Elles présentent également un taux de prolifération, et une vitesse de doublement de population plus élevés que les cellules souches pulpaire et que les BMSSC (SHED > DPSC > BMSSC), mais ne peuvent être recueillies que chez l'enfant ³².

Leur plasticité est élevée et elles peuvent se différencier en cellules neuronales, en adipocytes, en myocytes, en chondrocytes ^{33,34} ou induire une différenciation ostéogénique, voire dentinogénique lors d'une implantation *in vivo* ³². Les SHED permettent aussi le recrutement de cellules ostéogéniques ^{32,35}. Les dents de lait ne sont pas seulement un guide pour les dents définitives, mais elles sont aussi impliquées dans l'induction de la formation osseuse, lors de leur éruption ³⁶. Une différenciation en odontoblastes est possible, mais, à l'inverse des DPSC, elles ne sembleraient pas capables de régénérer un complexe dentino-pulpaire complet *in vivo* si elles ne sont pas associées à d'autres cellules souches ³².

Les SHED exprimeraient des molécules de surface comme STRO-1 et CD146 (MUC 18), et elles se situeraient dans un microenvironnement périvasculaire ²⁸. Des marqueurs neuronaux et gliaux sont également exprimés lors d'une implantation *in vivo* chez la souris, signe du potentiel neurogénique de ces cellules provenant de la crête neurale, et de leur capacité à se différencier en cellules « neural-like » ³⁷. Les SHED seraient une population cellulaire multipotente, potentiellement plus immature que les autres cellules stromales post-natales ³⁸. Elles sont d'ailleurs nommées « Immature DPSC » (IDPSC), par l'équipe de Kerkis ³⁴.

Karaöz a également étudié les cellules souches de la pulpe des dents natales, ou hNDP (human Natal Dental Pulp), qui sont de petites dents sans racines présentes à la naissance du nourrisson, mais la rareté d'apparition de ces dents (1/3000 naissances), ne permet pas de les qualifier de source fiable pour de l'ingénierie tissulaire ^{39,40}.

B) Cellules souches de la papille apicale (SCAP)

Les cellules souches de la papille apicale, ou SCAP : *Stem Cells of Apical Papilla*, sont des MSC qui se situent dans la région apicale de la racine des dents permanentes immatures (Fig.3). Le tissu appelé papille apicale est distinct de la pulpe dentaire. Il contient moins de cellules et de vaisseaux que celle-ci et en est séparé par une zone apicale riche en cellules (Fig.4, 5).

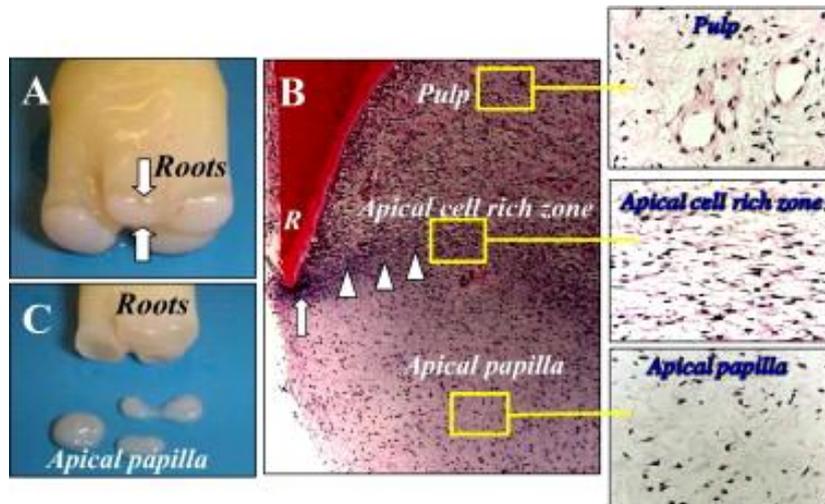


Figure 4: Anatomie de la papille apicale.

A- Papille apicale (flèches blanches) fixée sur les racines d'une dent de sagesse humaine en développement. B- Coloration Hématoxyline et éosine d'une racine en développement. (R) diaphragme épithélial (flèche) et la zone apicale riche en cellules (triangles). C- Papille apicale prélevée pour l'isolement des cellules souches ⁴¹.

Les SCAP ont un rôle dans la formation continue des racines dentaires. En effet, elles semblent être la source des odontoblastes primaires, responsables de la formation de la dentine radiculaire, alors que les DPSC seraient plutôt la source d'odontoblastes de remplacement, qui forment la dentine tertiaire. Dans une étude réalisée sur « mini-cochons », l'ablation chirurgicale de la papille apicale à un stade précoce du développement radiculaire stoppe celui-ci. Le tissu pulpaire demeure intact et les autres racines de la même dent dont la papille apicale était toujours présente ont un développement complet ²². Ces SCAP semblent se concentrer au niveau de « niches » périvasculaires, mais elles peuvent également être éparpillées dans le tissu ⁴¹.

Ces cellules possèdent une capacité de différenciation odontogénique inférieure aux DPSC, ainsi qu'un potentiel de différenciation adipogénique *in vitro* ^{42,43}. Cependant, comme les DPSC, les SCAP sont capables de recréer un complexe dentino-pulpaire fonctionnel *in vivo* lorsqu'elles sont transplantées dans une matrice appropriée (hydroxyapatite/phosphate tricalcique) ²².

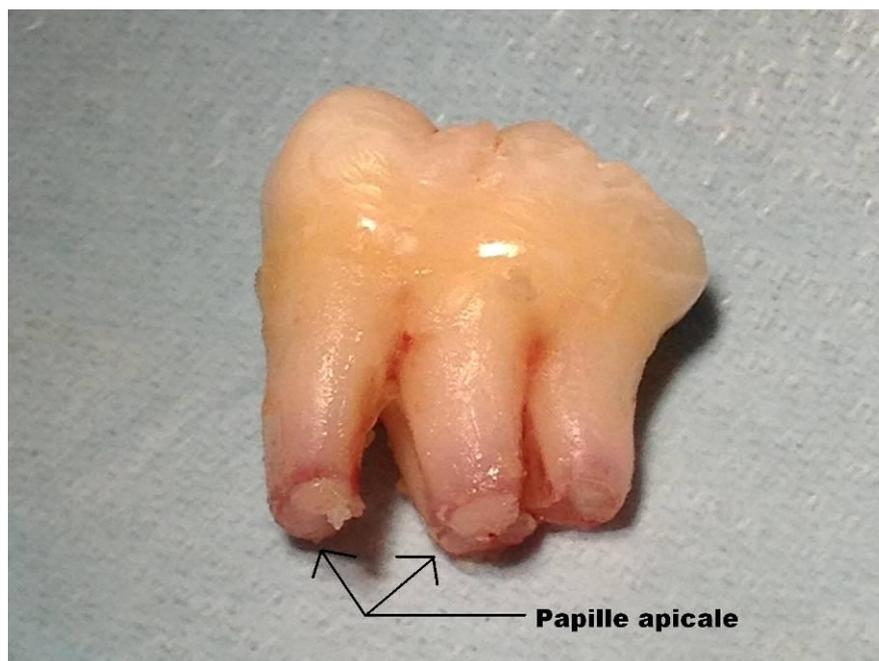


Figure 5: Photo de la papille apicale d'une dent de sagesse mandibulaire jumelée avant la fin de son édification radiculaire

C) Cellules souches du ligament parodontal (PDLSC)

Les cellules du ligament parodontal, ou PDLSC pour **PerioDontal Ligament Stem Cells** sont des cellules souches qui peuvent être prélevées à la surface des racines extraites (Fig.3). Le ligament parodontal est constamment sous l'effet des forces masticatoires, et ces cellules souches jouent un rôle endogène en maintenant un nombre cellulaire constant au sein de ce tissu.

Des études antérieures ont montré que le ligament parodontal contenait des populations cellulaires capables de former soit du ciment (cémentoblastes), soit de l'os (ostéoblastes)^{44,45}. La présence de ces différents types cellulaires suggère que le ligament parodontal contient des progéniteurs cellulaires qui maintiennent l'homéostasie tissulaire et assurent la régénération du parodonte. Les « niches » où sont principalement retrouvées les PDLSC semblent être périvasculaires et extravasculaires⁴⁶.

Les PDLSC expriment le marqueur des MSC STRO-1, et les critères minimum de l'International Society for Cellular Therapy²². Des analyses ont montré l'expression de marqueurs cémentoblastiques et ostéoblastiques⁴⁷. Ces cellules sont ainsi capables de se différencier, *in vitro*, en ostéoblastes, chondrocytes et adipocytes, selon les conditions de culture⁴⁸⁻⁵⁰.

Il est possible d'observer *in vivo* la formation de tissu s'apparentant au ligament parodontal. Une structure ciment/ligament parodontal peut être régénérée après transplantation de PDLSC chez des souris immunocompromises ²². Cette structure est complètement différente de la structure de la moelle osseuse des BMMSC, ou de la structure dentino-pulpaire des DPSC.

Les PDLSC synthétisent un collagène de type I, très dense, qui est capable de se connecter avec le ciment nouvellement formé, pour simuler des fibres de Sharpey physiologiques, responsables d'un attachement fonctionnel entre le ciment et le ligament parodontal. Il est possible d'en déduire qu'une sous population cellulaire serait capable de se différencier en cimentoblastes/cémentocytes, et une autre population en cellules synthétisant le collagène *in vivo* ²².

Après transplantation de PDLSC humaines au niveau de défauts parodontaux chez la souris, une régénération du tissu ligamentaire est observée, ainsi qu'une étroite proximité entre les PDLSC et les trabécules osseuses proches de la zone ligamentaire régénérée, suggérant leur implication dans la régénération de l'os alvéolaire ⁴⁷.

D) Cellules souches du follicule dentaire (DFSC)

Le follicule dentaire est un tissu qui entoure l'organe amélaire et la papille dentaire lors du développement du germe dentaire avant son éruption, il peut néanmoins persister tout au long de la vie de l'individu, dans le cas de dents incluses (Fig.3, 6).

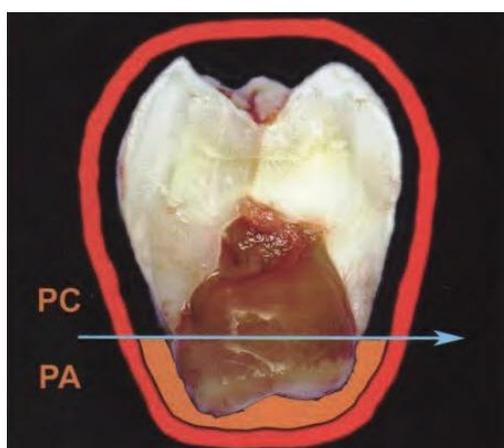


Figure 6: le germe dentaire.

Le tissu folliculaire enveloppe l'organe dentaire et la papille dentaire.

Le germe présente deux pôles : le pôle apical (PA) et le pôle coronaire (PC) ⁵¹

Ce tissu contient des cellules progénitrices, appelée DFSC pour **Dental Follicle Stem Cells**, qui forment le périodonte, le ciment, le ligament parodontal et l'os alvéolaire⁵². Elles sont issues des crêtes neurales et présentent donc un potentiel de différenciation similaire à celles-ci⁵³.

Ces précurseurs cellulaires ont pu être isolés à partir de follicules dentaires humains de dents de sagesse incluses ou à l'état de germe, avant la formation radiculaire⁵³. Comme les autres cellules souches dentaires, ces cellules forment un petit nombre de colonies clonogéniques adhérentes après digestion enzymatique du tissu⁵².

Les DFPC montrent une capacité de différenciation ostéogénique *in vitro* après induction. Nous pouvons voir une expression de la protéine d'attachement cimentaire et de la protéine cimentaire 23 (CP-23), qui sont deux marqueurs cimentaires spécifiques, lorsque ces cellules sont stimulées en culture par BMP-2 et BMP-7⁵⁴. Après mise en contact avec différents éléments d'induction de différenciation, il a été observé que les DFSC peuvent se différencier *in vitro*, en neurones, ostéoblastes, adipocytes et autres types cellulaires⁵³.

Lorsque des DFPC sont transplantées *in vivo*, un tissu fibreux et rigide est obtenu. Il n'y a pas de formation de dentine, de ciment ou d'os, peut être en raison du faible nombre de cellules dans la culture de départ^{52,55}.

E) Cellules souches pulpaires (DPSCs)

La pulpe dentaire est un tissu mou localisé au milieu de la dent, entouré par trois tissus minéralisés: l'émail, la dentine et le ciment (Fig.3). La pulpe contient des fibres nerveuses et des vaisseaux sanguins, ainsi que plusieurs types cellulaires, incluant des fibroblastes qui synthétisent la matrice extracellulaire et les odontoblastes qui forment le complexe pulpo-dentinaire avec la dentine. En cas d'agression de la dent, les odontoblastes détruits sont remplacés grâce à la présence de cellules souches/progénéiteurs pulpaires^{56,57}.

Les « cellules souches pulpaires » ont été découvertes par Fitzgerald, en 1990, qui observait des cellules de type fibroblastique, capables de se différencier en odontoblastes, en réponse à une agression chimique ou mécanique ayant entraîné la mort d'odontoblastes matures⁵⁸.

L'équipe de Gronthos est la première à les avoir identifiées et nommées en tant que DPSC, après comparaison avec des BMMSC ²⁰. Ces cellules souches pulpaire représentent un stock important et accessible de cellules souches post-natales.

Physiologiquement, ces DPSC seraient dans un état quiescent, mais lors d'une agression bactérienne, comme la carie, elles peuvent être activées pour permettre un phénomène de cicatrisation pulpaire, grâce à la formation de cellules spécialisées « odontoblast-like » qui seront acheminées jusqu'au lieu de l'agression pour prendre le relais des odontoblastes détruits ⁵⁹.

Shi a démontré que l'expression des marqueurs de cellules souches STRO-1 et CD146 dans la pulpe est restreinte aux pourtours des vaisseaux sanguins, mais absente dans le tissu fibreux environnant, la couche odontoblastique et la gaine nerveuse périphérique, ce qui semble indiquer que les niches de DPSC pourrait être localisées dans les régions périvasculaires de la pulpe dentaire ²⁸. Les DPSC positives à STRO-1 expriment des antigènes vasculaires comme le facteur de Von Willebrand, CD146 et l'antigène associé au péricyte (3G5), ce qui suggère que ces cellules pourraient avoir une origine vasculaire et leur localisation histologique peut être apparentée au système microvasculaire de la pulpe ²⁸.

II – Les cellules souches de la pulpe dentaire : isolement, amplification et différenciation

Les DPSC représentent une source très accessible de cellules souches, notamment au niveau des germes des dents de sagesse qui sont extraites et jetées quotidiennement, les dents étant considérées comme des déchets biologiques dans les cabinets dentaires. Elles présentent un taux prolifératif supérieur de plus de 30% à celui des cellules de type BMMSC de références^{20,22}, et peuvent facilement être cultivées et amplifiées ex-vivo⁶⁰. Ainsi nous allons illustrer dans cette partie les différentes étapes qui permettent d'isoler, d'amplifier et de différencier des cellules issues de la pulpe dentaire humaine.

1 – Prélèvement et isolement des cellules

Dans les études, il existe différents protocoles pour parvenir à récupérer la pulpe dentaire. En effet, la dent peut être prélevée sur l'arcade à différent temps de son embryogenèse selon la classification de Nolla⁶¹ (Fig.7). Lorsque la dent est à un stade tardif de son évolution (Stade 8 à 10), il faut nécessairement couper la dent au disque diamanté ou avec une turbine, pour parvenir à récupérer la pulpe. Cependant, s'il est possible de la récupérer à un stade précoce, lorsque la dent n'a pas terminé son édification radiculaire (stade 4 à 7 de la classification de Nolla), l'isolement de la pulpe est simplifié.

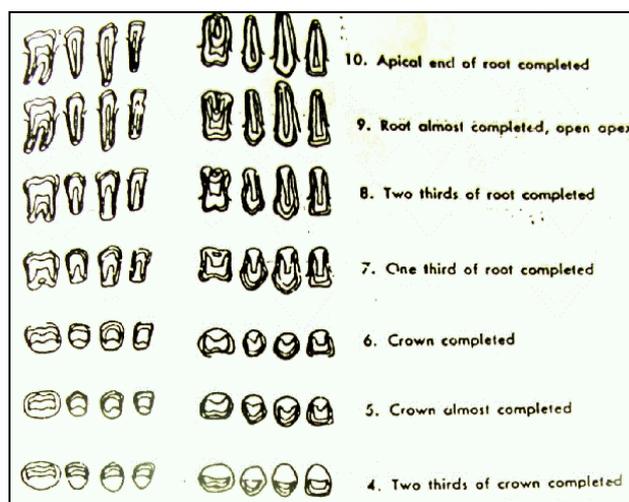


Figure 7 : Classification de Nolla :
les différents stades d'évolution de la dent et de sa racine⁶¹

Les patients doivent être avertis au préalable que leurs dents seront conservées et que leur contenu pourra servir à la recherche biomédicale mais qu'aucun bénéfice commercial, industriel ou pharmaceutique, n'en sera tiré. Le prélèvement se fait après vérification du statut sanitaire du patient grâce à une anamnèse médicale poussée.



Figure 8 : Photo de dents de sagesse maxillaire et mandibulaire juste après extraction chez une patiente de 16 ans

Une fois la dent extraite (Fig.8), elle est nettoyée à l'aide d'une compresse, puis stockée dans un tube de collection contenant une solution stérile supplémentée en antibiotiques (Fig.9).



Figure 9 : Photo de collecte de dents dans un tube de collection provenant d'une patiente de 20 ans (Photo Dr.Ducret)

Elle doit être acheminée au laboratoire pour récupérer la pulpe dans les 24 heures qui suivent l'avulsion. Pour les dents ayant terminé leur édification radiculaire, la pulpe camérale est prélevée après section de la dent à la limite émail/cément (Fig.10). Cette technique, productrice de chaleur et de contraintes mécaniques endommage partiellement la pulpe dentaire, c'est pourquoi le prélèvement se fait préférentiellement à un stade précoce de l'édification radiculaire.



Figure 10 : Photo de dent de sagesse maxillaire sectionnée à l'aide d'un disque, après extraction, en vue du prélèvement pulpaire.

Dans tous les protocoles, la pulpe est récupérée, décontaminée puis fractionnée en fragments allant de 0,5 à 2mm³, pour réaliser ensuite une culture d'explants, ou alors une digestion enzymatique (Fig.11, 12).



Figure 11 : Photo de récupération de la pulpe dentaire d'une dent au stade 4 ou 5 de Nolla, la pulpe est prélevée à l'aide d'une précelle. (photo Dr.Ducret)



Figure 12 : Photo de fractionnement de la pulpe avec un scalpel pour obtenir des explants d' $0,5$ à 2 mm^3
(Photo Dr.Ducret)

A) Techniques d'isolement

a) Explant

Il s'agit d'une technique décrite notamment par Couble et son équipe, pour obtenir des odontoblastes en culture primaire, mais aussi reprise par d'autres pour la culture de cellules souches de la pulpe dentaire ^{62, 63}. Elle consiste en une découpe de la pulpe en explants dont la taille ne dépasse pas 1 à 2 mm^3 (Fig.13). Ces explants sont ensuite mis en culture dans des boîtes de Pétri contenant du milieu qui a été enrichi en antibiotiques, en antifongiques, et en sérum de veau. La culture est réalisée dans un incubateur à 37°C sous 5% de CO_2 . Après 4 à 8 semaines, si les cellules sont gardées en culture, une matrice extracellulaire minéralisée est synthétisée ^{62,63}.

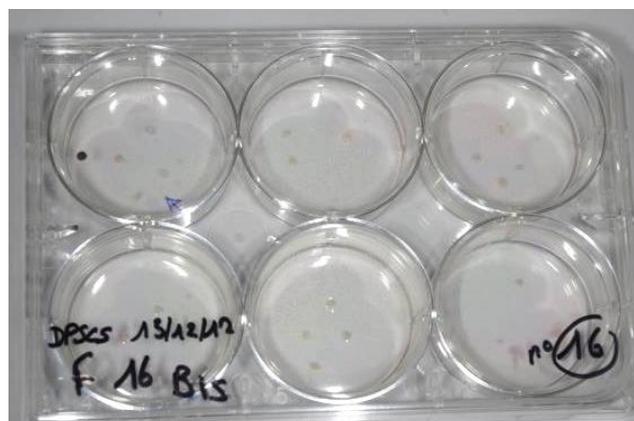


Figure 13 : Photo montrant l'isolement de DSPC par culture d'explants dans différentes boîtes de Pétri pour une même patiente n°16 (Photo Dr.Ducret)

b) Dissociation par dispase/collagénase pendant une heure



Figure 14 : Photo représentant des fragments de pulpe dentaire pendant la digestion enzymatique
(Photo Dr.Ducret)

Lorsque la pulpe a été extraite de la dent puis séparée en fragments d'un mm^3 , elle subit une digestion enzymatique visant à transformer le tissu pulpaire en une suspension de cellules individualisées (Fig.14). Pour ce faire, une solution de collagénase de type I, (enzyme capable de rompre les liaisons peptidiques du collagène de type I. Elle facilite la destruction des structures extracellulaires), de dispase sont utilisées à 37°C pendant une heure^{20, 64}. La suspension de cellules individualisées est obtenue en passant la mixture précédente à travers un tamis de $70\mu\text{m}$, afin d'éliminer les contaminants tissulaires²⁰.

B) Technique de purification

a) Par migration

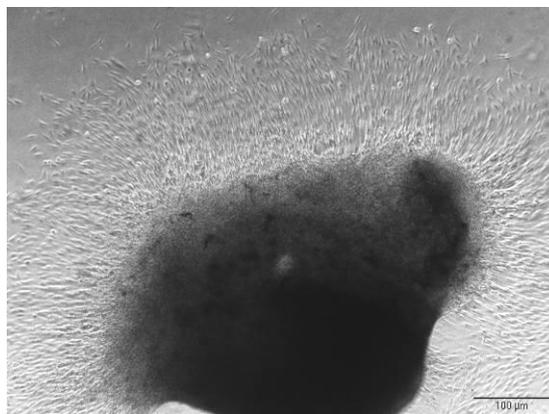


Figure 15 : Photo de microscopie inversée montrant des cellules en migration à partir d'un fragment de pulpe
(Photo Dr.Ducret)

Cette technique non agressive permet d'isoler des cellules par migration et multiplication (Fig.15). Cette technique s'applique principalement dans le cadre de la culture d'explants, et évite aux cellules de subir le bain enzymatique (collagénase/dispase), qui peut être néfaste pour leur viabilité et donc pour de futures expérimentations cliniques.

b) Par adhésion au plastique



Figure 16 : Photo de microscopie représentant des DPSC en culture sur une boîte de Pétri
(Photo Dr.Ducret)

Après avoir été dissociées en cellules individuelles, les DPSC comme toutes les cellules souches mésenchymateuses ont la propriété d'adhérer au plastique des boîtes de Pétri^{30, 20} (Fig.16). Cela permettrait d'éliminer des contaminants cellulaires comme certains précurseurs ou cellules souches hématopoïétiques présents dans la pulpe, mais il persisterait de nombreux contaminants de type monocytaires et/ou fibroblastiques.

c) Par taille

Il a été montré que la petite taille est l'une des principales caractéristiques des cellules souches adultes. Ces petites cellules ont une viabilité majeure, une capacité de prolifération et de régénération supérieures aux cellules plus larges^{65, 66}. Pendant la différenciation odontoblastique des DPSC, le volume des cellules va augmenter significativement par un long processus cellulaire, impliquant que les DPSC indifférenciées sont une population cellulaire à petit diamètre⁶⁷.

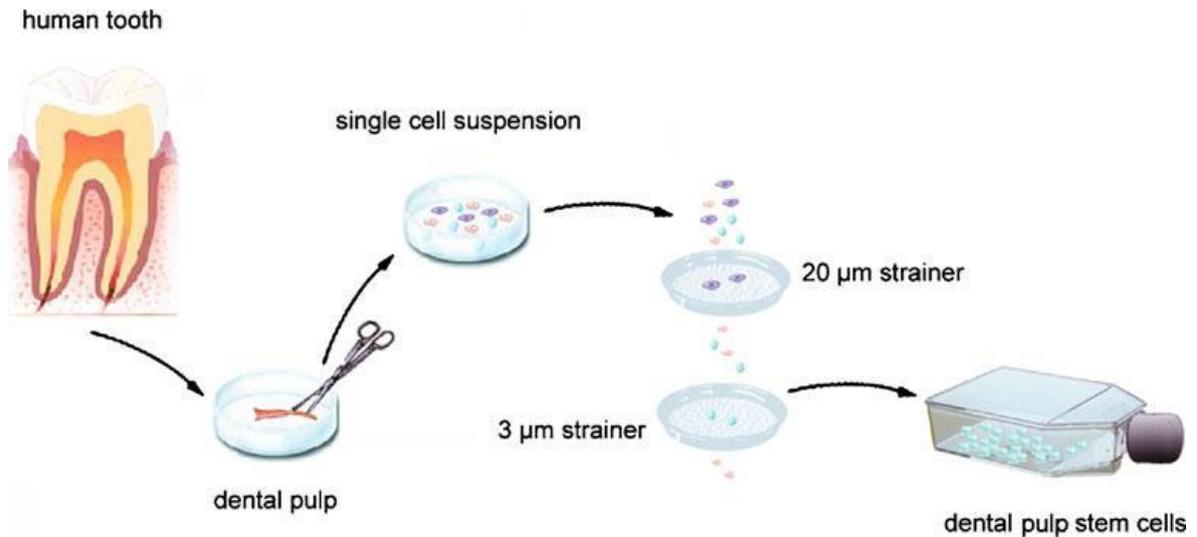


Figure 17 : Schéma du protocole d'isolement par la taille cellulaire

La pulpe dentaire est recueillie à partir d'une dent nouvellement extraite et subit une digestion enzymatique afin de préparer la suspension de cellules individualisées. Cette suspension est ensuite passée successivement dans des tamis de 20µm puis 3µm, afin de récupérer la fraction cellulaire de diamètre compris entre 3µm et 20µm.⁶⁷

Avec cette approche, les populations cellulaires de petite taille qui contiennent beaucoup de cellules souches peuvent être isolées à partir d'une suspension de cellules individuelles, et les DPSC serait ainsi purifiées⁶⁷ (Fig.18).

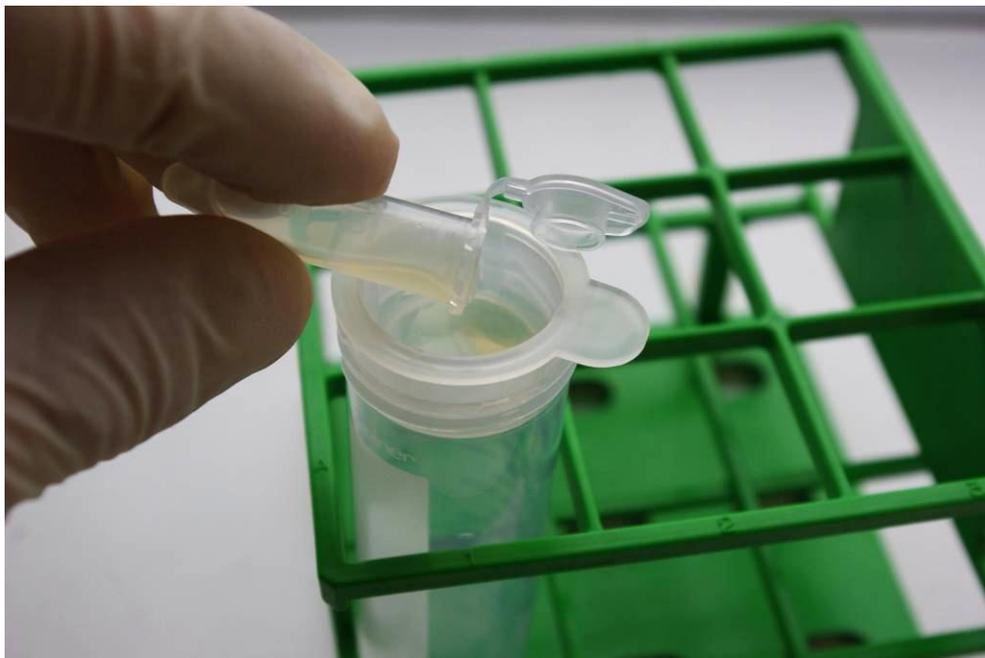


Figure 18 : Photo d'élimination des débris cellulaires par tamis à 20µm après bain enzymatique (Photo Dr.Ducret)

d) Par tri cellulaire par action Magnétique/Fluorescente (Cell Sorting)

Le Cell Sorting, ou tri cellulaire, est une technique visant à identifier, quantifier et séparer les cellules en fonction de leurs propriétés intracellulaires (ADN, ARN, protéines) ou extracellulaires (taille, morphologie, antigènes de surface).

- Tri cellulaire magnétique (Fig.19)

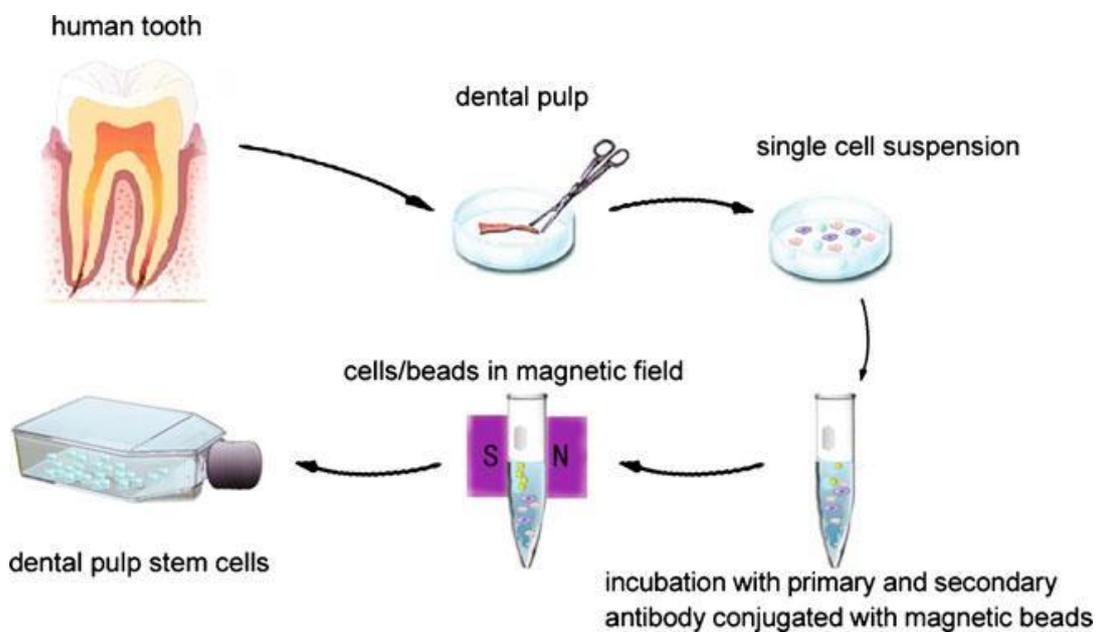


Figure 19 : Schéma du protocole de tri cellulaire activé par magnétisme

La pulpe dentaire est transformée en suspension cellulaire par digestion enzymatique. Cette suspension est incubée en présence d'un anticorps monoclonal primaire dirigé contre un marqueur de surface cellulaire caractéristique des cellules souches mésenchymateuses (STRO-1), couplé à une « bille magnétique », puis est ensuite passée dans un champ magnétique qui va retenir uniquement les cellules d'intérêt.⁶⁷

Le tri cellulaire magnétique permet d'identifier les cellules en fonction de leur phénotype, et plus particulièrement en fonction des antigènes présents à leur surface, en les soumettant à un champ magnétique.

Il existe des cellules ayant naturellement des propriétés magnétiques, comme l'hémoglobine des érythrocytes ou des bactéries magnéto-tactiques. Pour les autres cellules à trier, il faut leur adjoindre des particules magnétiques afin qu'elles soient différenciées des cellules ne réagissant pas au champ magnétique (Fig.20).

Il est donc possible de le faire par technique directe, à l'aide d'un anticorps dirigé contre un antigène de surface propre au type cellulaire qui doit être isolé. Une particule magnétique est au préalable fixée sur cet anticorps (Fig.21).

La technique indirecte ne diffère de la première que par le fait que le premier anticorps n'est pas directement fixé à la particule magnétique, mais nécessite la présence d'un second anticorps, dirigé contre le premier, qui est lui-même fixé à la particule magnétique.

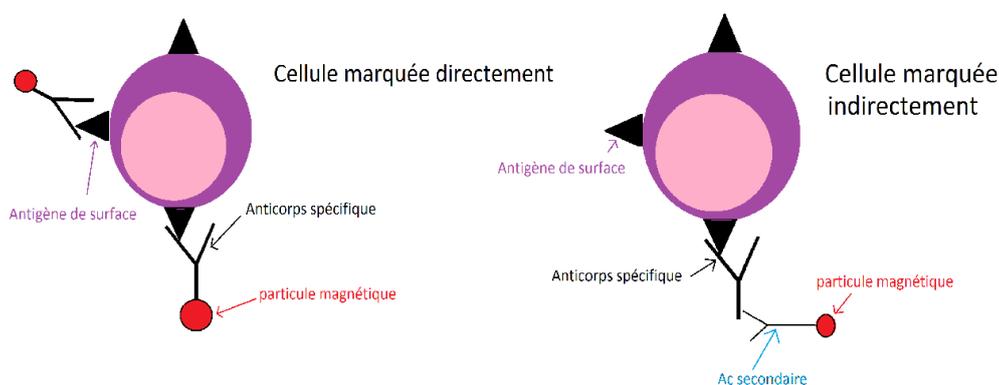


Figure 20 : Schéma du marquage des cellules d'intérêt de façon directe ou indirecte à l'aide d'anticorps dirigés contre les marqueurs membranaires des cellules indifférenciées ¹¹⁰

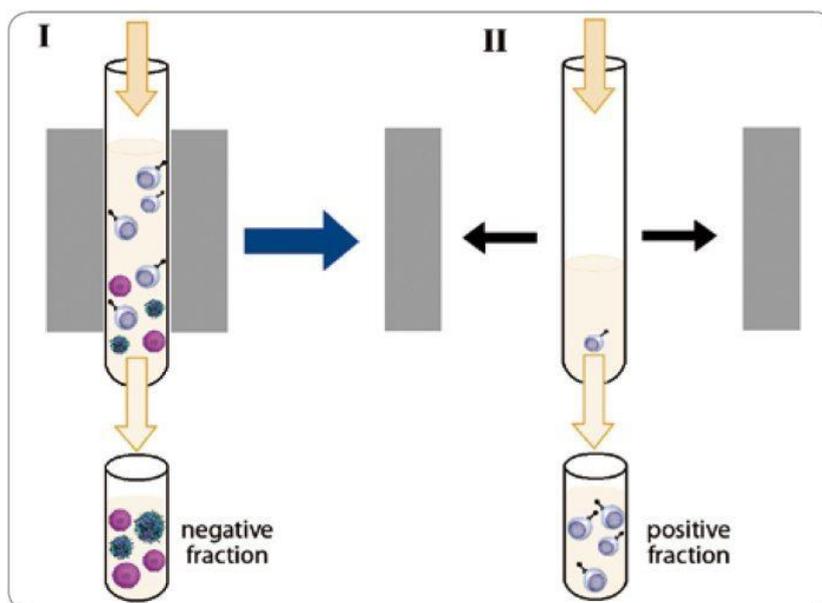


Figure 21 : Schéma du protocole de tri cellulaire magnétique par sélection positive

I. Les cellules non marquées passent à travers la colonne sans être retenues et sont éliminées.

II. Le champ magnétique est ensuite inactivé de façon à récupérer les cellules marquées. ¹¹¹

Dans les deux cas, la population cellulaire à isoler est marquée. Elle est retenue par le courant magnétique d'un aimant, permettant d'évacuer les cellules non marquées. Il est possible d'effectuer une sélection positive en marquant les cellules d'intérêt, ou une sélection négative en marquant toutes les cellules sauf celles qui doivent être isolées, car le marquage pourrait dénaturer ou activer ces cellules et donc empêcher le travail de recherche ultérieur.

- **Tri cellulaire active par fluorescence ou Cytométrie de flux (Fig.22)**

Le principe de cette technique est sensiblement le même que pour le tri cellulaire magnétique. Il s'agit en effet de trier des cellules en solution en les liant à une ou plusieurs molécules fluorescentes, appelées fluorochromes. Ceux-ci sont fixés aux cellules grâce à un ou plusieurs anticorps dirigés contre des marqueurs membranaires spécifiques des cellules. Les cellules sont ensuite passées devant un laser qui peut analyser, dénombrer et même trier physiquement les cellules marquées, en fonction de leur morphologie, de leurs organites intracellulaires ou de leur fluorescence. C'est la lumière réémise par le fluorochrome après absorption de la lumière laser qui permet ce tri. Ce procédé d'analyse individuelle (cellule par cellule) est multiparamétrique et peut s'effectuer à la vitesse de plusieurs milliers d'événements par seconde.

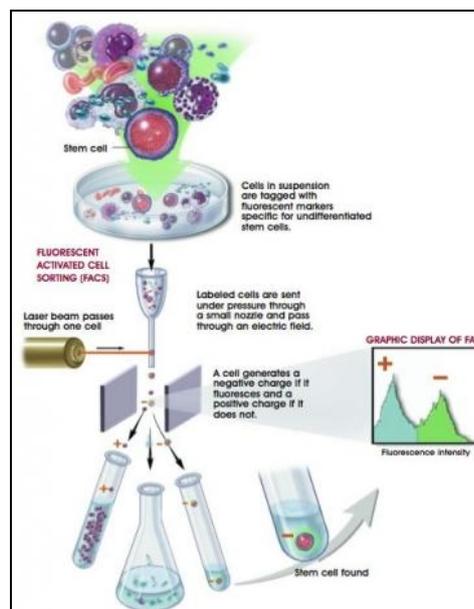


Figure 22 : Schéma du protocole de tri cellulaire par fluorescence

Les cellules souches en solution sont marquées avec un fluorochrome avant de passer devant la lumière du laser qui va les trier en fonction de leur fluorescence.¹¹⁷

2 – Potentiel de différenciation *in vitro/ in vivo*

Après avoir détaillé le protocole d'obtention des DPSC, l'objectif de cette partie est de montrer qu'en fonction du microenvironnement dans lequel elles sont placées, *in vitro* et *in vivo*, les DPSC semblent capables de suivre une voie de différenciation spécifique de type mésenchymateux, et parfois ectodermique ou endodermique (Fig. 23). Ces résultats offrent de nombreuses pistes pour des applications thérapeutiques futures.

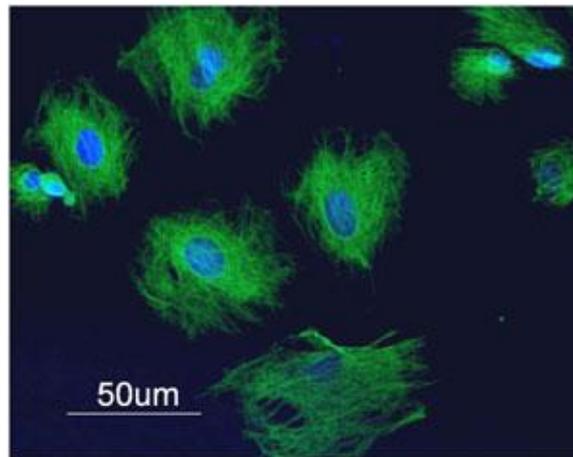


Figure 23 : Photo de microscopie à fluorescence de cellules souches mésenchymateuses isolées à partir de pulpe dentaire humaine²³

A) Différenciation ostéoblastique

Afin de différencier les DPSC en cellules de type ostéoblastique (Fig. 24), capables de produire une matrice minéralisée, il est généralement conseillé d'utiliser un milieu de culture supplémenté en sérum, en dexaméthasone, en acide ascorbique-2-phosphate, et en β -glycérophosphate. Les cellules sont ensuite incubées à 37°C sous 5% de CO₂, et le milieu de culture est changé deux fois par semaine. A l'issue de différents temps de culture, les cellules entament une différenciation ostéogénique en exprimant des gènes comme l'ostéocalcine, l'ostéopontine ou Runx2 et en synthétisant une matrice minéralisée^{68, 20}.

Pour confirmer ces travaux *in vitro*, d'Aquino et son équipe ont par exemple montré en 2007 le potentiel de différenciation *in vivo* des cellules souches pulpaires en tissu osseux. Après transplantation dans des « puces » de trame osseuse ou des matrices de polymères chez le rat immunocompromis, ils obtenaient une formation d'os adulte complet avec une néovascularisation⁶⁸.

Une autre étude, réalisée chez le chien, confirme qu'un mélange de plasma riche en plaquettes (PRP) avec des DPSC, introduits au moment de la pose d'un implant recouvert d'hydroxyapatite, induit la formation d'os et favorise l'ostéointégration de l'implant ⁶⁹.

Cette formation de tissus minéralisés pourrait permettre une solidification plus rapide de fractures, un comblement osseux après extraction dentaire, ou encore la reconstruction de défauts osseux provoqués une ostéoradionécrose chez les patients ayant subi une radiothérapie.

B) Différenciation adipocytaire

Après 5 semaines de culture de DPSC dans un environnement contenant un cocktail adipogénique (isobuthylméthylxanthines, hydrocortisone, indométacine), l'équipe de Gronthos a montré des agglutinations de lipides positifs à l'Oil Red O. La capacité de différenciation adipocytaire est confirmée par l'augmentation de l'expression des gènes comme PPAR γ 2 (peroxysome proliferator-activated receptor γ 2) ou de la LPL (lipoprotéine lipase) ^{20, 56}.

Par la suite, ces résultats ont été confirmés par différentes équipes, comme d'Aquino par exemple, qui ont utilisé un milieu de culture supplémenté avec de la dexaméthasone, de l'insuline recombinante humaine, de l'indométhacine, et du 3-isobutyl-1-méthyl-xantine. Afin d'identifier les cellules lipidiques, les auteurs ont réalisé une analyse immunohistochimique avec des anticorps anti-adiponectine et anti-PPAR- γ (peroxysome proliferator-activated receptor γ) ⁵³.

C) Différenciation chondrocytaire

Pour obtenir une différenciation chondrocytaire (Fig. 24), les cellules de pulpe dentaire sont mises en culture dans un milieu contenant du sérum, de l'acide ascorbique-2-phosphate, du TGF- β et de la dexaméthasone. La coloration au bleu de toluidine indique la présence de GAG (Glycosaminoglycansulfatés), caractéristique d'un tissu de type cartilagineux. La matrice extracellulaire de ces cellules est positive à la coloration aux anticorps anti-collagène II. Ces marqueurs sont spécifiques du tissu cartilagineux car ce collagène est principalement sécrété par des chondrocytes.

Ces expérimentations prouvent la capacité de différenciation des DPSC en cellules de type chondrocytes en présence d'un milieu de culture spécifique, ce qui laisse imaginer des applications thérapeutiques pour les traumatismes ou les usures du cartilage comme l'arthrose ⁷⁰.

A noter aussi que les cellules souches dentaires sont utilisées pour explorer la mécanotransduction obtenue lors de la compression dynamique cyclique pour la chondrogenèse ⁷¹.

D) Différenciation neuronale

Afin d'obtenir une différenciation en cellules neuronales (Fig. 24), les DPSC sont placées en milieu de culture contenant du serum bovin, du bFGF (basic Fibroblast Growth Factor), de l'acide ascorbique, du L-glutamine, pour 24 heures à 37°C sous 5% de CO₂. Le milieu de culture est ensuite changé afin d'y intégrer les facteurs trophiques nécessaires à la différenciation neuronale des cellules, comme le facteur de croissance dérivé du cerveau BDGF (Brain Derived Growth Factor), le facteur de croissance dérivé des plaquettes, et le facteur de croissance fibroblastique. Le milieu de culture est renouvelé tous les 3 jours pendant 14 jours. A l'issue de ce protocole de différenciation, Huang et son équipe ont montré que les DPSC peuvent promouvoir la prolifération et la différenciation de cellules neuronales *in vivo* dans l'hippocampe d'une souris.

Ces résultats indiquent que ces cellules ont un potentiel thérapeutique intéressant pour les traumatismes ou les pathologies touchant le système nerveux central et périphérique. ²⁹

E) Différenciation musculaire

Pour stimuler la différenciation myogénique (Fig. 24), les DPSC peuvent par exemple être mises en culture avec une lignée cellulaire comme C2C12, qui est une lignée cellulaire myogénique de souris, afin de tester la capacité des DPSC à fusionner et participer à la formation de nouvelles fibres myogéniques.

Ces cellules ont été mises en co-culture dans un milieu contenant du L-glutamine, du bicarbonate de sodium, du glucose et du sodium pyruvate, pour permettre la différenciation myogénique, pendant une semaine. Les auteurs ont réalisé ensuite une double immunofluorescence afin de vérifier la bonne différenciation des cellules musculaires⁵³.

Les DPSC ont également été testées sur un modèle de rats souffrant d'infarctus du myocarde. Après transplantation des DPSC au niveau du site lésé via une injection, une réduction de la surface d'infarctus est observée, ainsi qu'une amélioration de la fonction ventriculaire et une néoformation vasculaire à proximité de l'infarctus⁷².

Cela laisse entrevoir des perspectives thérapeutiques pour les patients souffrant de lésions cardiaques hypoxiques (infarctus) ou de dégénérescences musculaires (myopathie de Duchenne).

F) Différenciation hépatocytaire

Afin d'obtenir une différenciation en cellules hépatocytaires (Fig. 24), les DPSC sont mises en culture dans un milieu contenant du sérum bovin, des antibiotiques, de la L-glutamine, de la dexaméthasone, de l'insuline-transferrine-séléniumX, et de l'oncostatine pendant 11 jours. Cette différenciation est ensuite évaluée par dosage des marqueurs spécifiques des hépatocytes (AFP et CK19), de l'albumine, ainsi que par les changements morphologiques des cellules⁷³.

Ikeda et son équipe ont prouvé que les DPSC peuvent efficacement prévenir l'extension de fibroses du foie induites chez le rat, diminuer l'inflammation locale du tissu et potentialiser le retour de la fonction hépatique⁷³.

Ces résultats pourraient être utilisés chez les patients souffrant de cirrhoses, d'hépatites, ou de carcinomes hépatocytaires⁷³.

G) Différenciation mélanocytaire

En suivant un protocole de différenciation adapté, les DPSCs semblent pouvoir acquérir une similarité avec un mélanocyte mature *in vitro*^{74, 75} (Fig. 24). En effet, les cellules deviennent morphologiquement proches, car elles forment des mélanosomes et expriment des marqueurs spécifiques (DOPA ou MART-1).

Cela peut s'expliquer par l'origine commune des DPSCs et des mélanocytes, qui proviennent toutes deux des crêtes neurales ⁷⁶.

Ces résultats pourraient trouver des applications cliniques chez les patients souffrant de dépigmentation ou qui reçoivent des greffes de peau ⁷⁵.

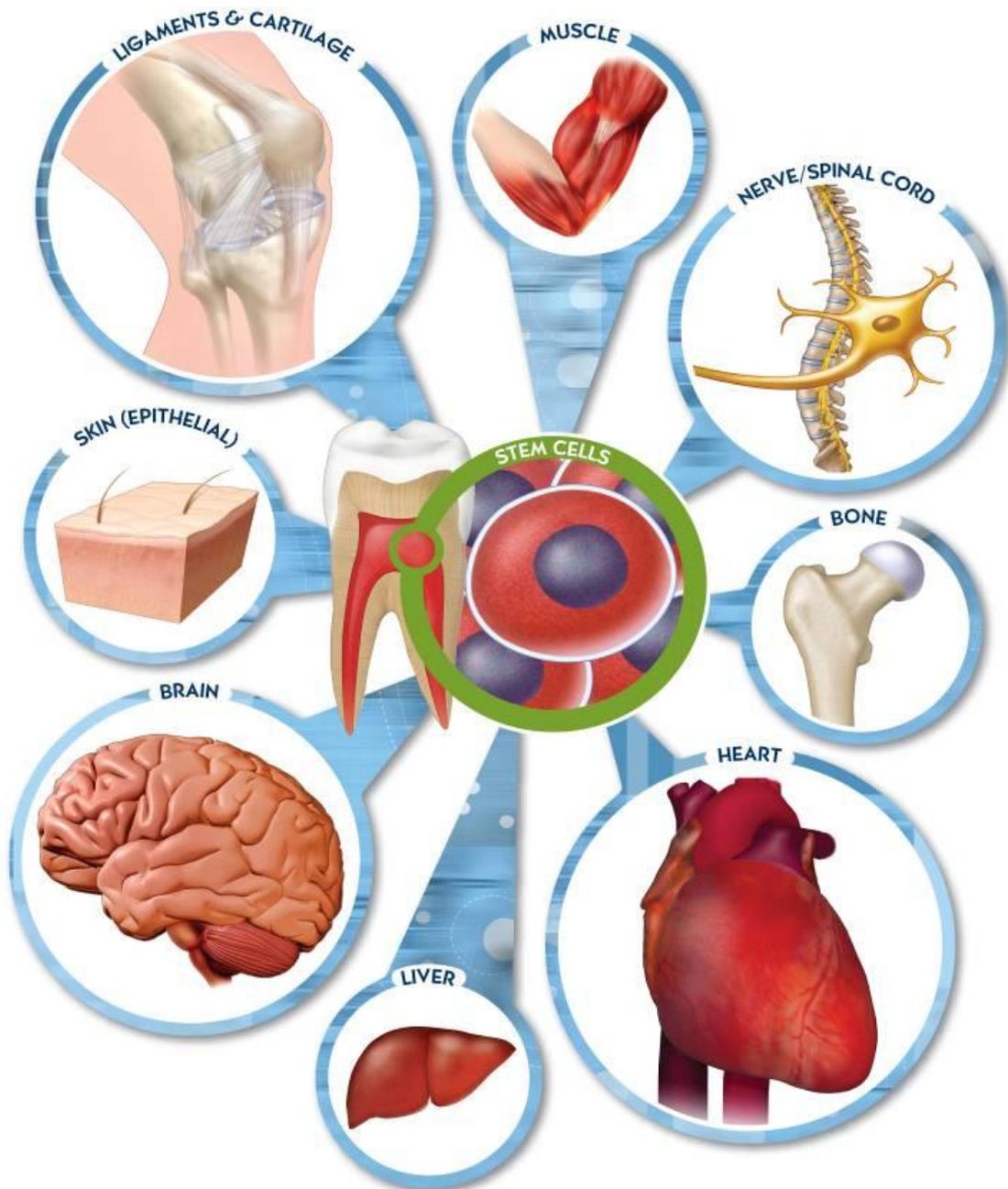


Figure 24 : Schéma synthétisant les différentes applications médicales possibles utilisant des cellules souches pulpaire

III – Perspectives odontologiques

L'ingénierie tissulaire à partir de cellules souches « dentaires » est un sujet d'actualité en raison du caractère prometteur de la médecine régénérative. Dans cette partie, nous allons proposer des voies d'applications en odontologie pour les cellules souches « dentaires », dans la néoformation radiculaire ou la régénération pulpaire et parodontale par exemple.

1 - Néoformation radiculaire

Depuis plus d'une décennie, les implants dentaires sont devenus une référence en matière de réhabilitation de la dentition. Cependant, leur défaut principal est l'absence de ligament parodontal et donc leur contact direct avec l'os alvéolaire, sans possibilité d'amortissement. Ce défaut a poussé à rechercher de nouvelles alternatives.

Un modèle expérimental de régénération dentaire a été testé avec la formation ectopique d'une structure dentaire *in vivo*, avec les cellules isolées d'un bourgeon dentaire, greffées sur une matrice⁷⁷⁻⁷⁹.

Dans une étude réalisée chez le chien, seules les cellules souches prélevées au stade de développement de la cloche ont été greffées sur une matrice et transplantées directement dans l'alvéole originale. Une régénération dentinaire est observée, mais pas de formation d'émail, ou de racine⁸⁰.

Chez le porc, ces cellules souches prélevées au stade de la cloche sont cultivées dans des matrices cylindriques et autogreffées dans les alvéoles originelles. Cela aboutit à la formation d'une dent avec sa racine et son périodonte. Il demeure malgré tout toujours un certain nombre d'obstacles à surmonter, comme la formation de dents de tailles anormales, de racines incomplètes ou imparfaites, et l'absence de preuve d'une possibilité d'éruption complète au sein d'une occlusion fonctionnelle⁸¹.

Plutôt que d'envisager de recréer une dent entière, Sonoyama et son équipe ont montré, chez le porc, qu'en utilisant les SCAP avec les PDLSC, il était possible de générer une bio-racine avec son ligament parodontal, qui pouvait par la suite être couronnée comme n'importe quelle dent naturelle⁴².

Les SCAP et PDLSC autologues sont implantées dans l'alvéole initiale à l'aide d'une matrice gélatineuse hydroxyapatite/phosphate tricalcique. La résistance mécanique de la racine formée est d'environ deux tiers de la résistance d'une racine naturelle ⁴².

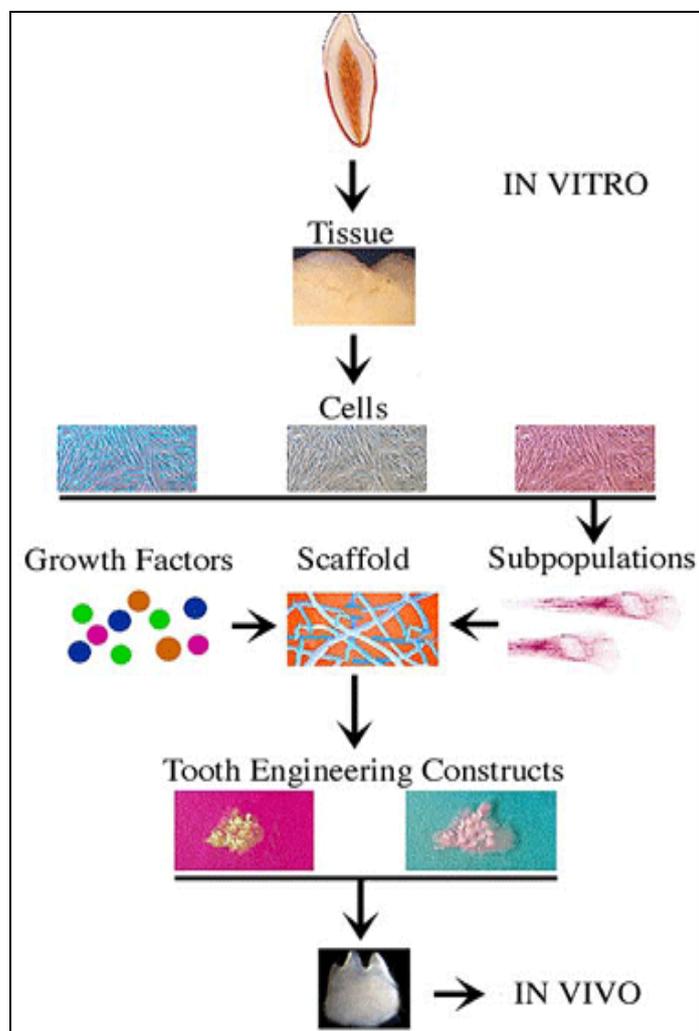


Figure 25 : Construction d'une dent "bio-ingénierée"

L'association de différentes cellules souches dentaires et d'une matrice avec des facteurs de croissance permet la création de structures pouvant aboutir à la formation d'une couronne, d'une racine ou d'une dent complète.⁸²

Malgré ces avancées majeures, l'un des principaux challenges que les équipes de recherche doivent encore surmonter pour régénérer une dent complète est de pouvoir recréer de l'émail humain, ce dont nous sommes actuellement incapables avec les cellules souches pulpaires seules ⁸³.

Cependant en associant deux types de cellules, épithéliales (précurseurs des améloblastes) et mésenchymateuses, l'équipe d'Oshima et al. 2011 a néanmoins réussi à créer une unité dentaire composée de la dent complète, de son ligament parodontal et de son os alvéolaire (Fig. 26, 27, 28). Ces cellules sont assemblées dans une matrice collagénique et la structure formée est mise à maturer, jusqu'à atteindre la taille nécessaire à la greffe intra-orale.

Cette technique permettrait d'obtenir une dent fonctionnelle, de taille et de forme proche d'une dent normale, avec une dureté équivalente ⁸⁴.

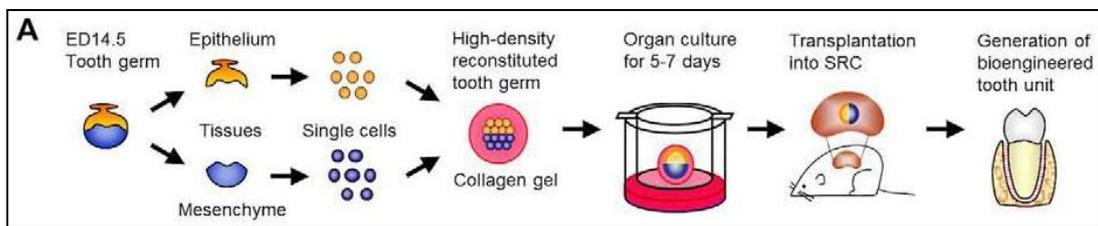


Figure 26 : Schéma du protocole de génération d'une unité dentaire « bio-ingénierée » ⁸⁴.

Des cellules épithéliales et mésenchymateuses dérivées d'un germe dentaire de souris au stade de cloche sont isolées puis recondensées *in vitro* dans une matrice collagénique gélifiée. L'unité dentaire en devenir est ensuite mise en culture pour 5 à 7 jours avant d'être transplantée dans la capsule rénale d'une souris, où elle évolue jusqu'à pouvoir être greffée.

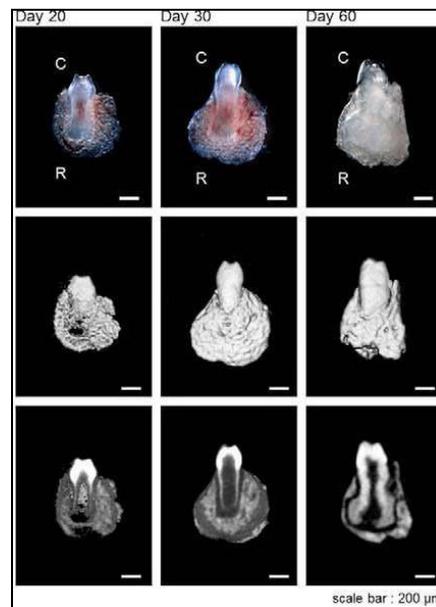


Figure 27 : Unité dentaire "bio-ingénierée"

Photographies (haut), images 3D de la surface externe (milieu), et radiologies (bas) d'une unité dentaire bio-ingénierée. Les images ont été prises à 20 (gauche), 30 (centre) et 60 jours (droite) après la transplantation dans la capsule sublinguale. C, côté coronaire; R, côté radiculaire. ⁸⁴

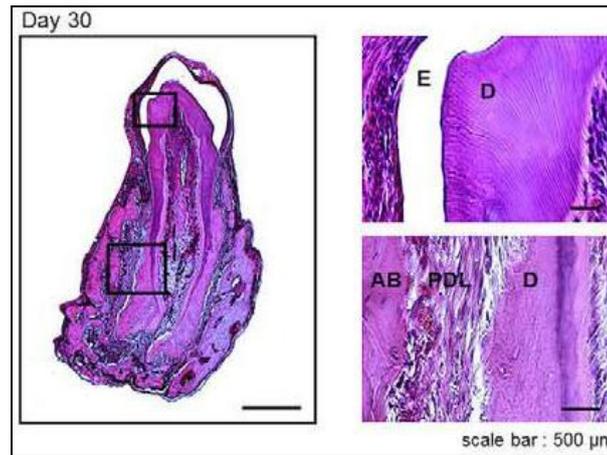


Figure 28 : Analyse histologique de l'unité dentaire "bio-ingénierée" à 30 jours après transplantation dans la capsule subrénale (gauche). Agrandissement de la zone coronaire en haut à droite) et la zone de tissu parodontal (en bas à droite). E, émail; D, dentine; AB, os alvéolaire; PDL, ligament parodontal.⁸⁴

2 - Régénération pulpaire

Le complexe pulpo-dentinaire possède un potentiel régénératif à l'origine de la formation de la dentine, permettant la conservation de la vitalité dentaire. Lors d'une attaque carieuse mettant en péril les odontoblastes existants, les cellules progénitrices sont recrutées et se différencient en nouveaux odontoblastes (cellules odontoblast-like), formant un pont d'ostéodentine atubulaire pour protéger la pulpe dentaire et stopper la progression bactérienne^{23, 56 - 58}.

De plus en plus d'études montrent l'existence de différentes niches potentielles de cellules souches dans la pulpe adulte qui contribuent à la formation de la dentine tertiaire. Ces cellules ne représentent que 1% de la population cellulaire totale de la pulpe, mais elles produisent des cellules hautement différenciées en réponse à des signaux extra-cellulaires spécifiques^{23, 56 - 58}.

La régénération pulpaire est l'objet d'une longue quête faite de multiples tentatives afin de pouvoir reconstruire le tissu vivant de la dent. Il a d'abord été proposé d'induire un saignement dans le canal radiculaire d'une dent mature afin que le sang guide les tissus de réparation⁸⁵. Il en résultait bien une obturation du canal, cependant, la structure formée était du tissu conjonctif très fin, et non du tissu pulpaire⁸⁶.

Plus récemment, avec l'émergence de l'ingénierie tissulaire, la régénération de la pulpe a été explorée à l'aide de différents biomatériaux synthétiques (acide polyglycolique, acide polylactique, acide polylactico-glycolique, polycaprolactone), ou polymères naturels (collagène, fibrine, polysaccharides, alginates), où les cellules souches pulpaire peuvent se multiplier, ce qui permet d'aboutir à la formation de tissu pulpaire *in vitro* et *in vivo*⁸⁷⁻⁹⁰. L'utilisation de matrices combinant hydroxyapatite, phosphate tricalcique et particules de transport a également permis d'optimiser la culture cellulaire *in vitro* et l'implantation *in vivo*^{90,91}. Des matrices biodégradables sont aussi en développement, elles ont pour objectif de fournir aux cellules souches un espace adéquat en trois dimensions pour optimiser leur différenciation sur le lieu d'implantation.^{9, 22, 90-92}.

Depuis l'isolement des DPSC, l'utilisation conjointe de ces cellules avec un biomatériau a été étudié dans le but de régénérer un complexe dentino-pulpaire^{29, 64, 93, 94}.



Figure 29 : Revascularisation d'une prémolaire avec cicatrisation osseuse après désinfection tri-antibiotiques et obturation par MTA¹¹²

L'un des problèmes rencontré dans la régénération pulpaire est l'insuffisance d'apport sanguin pour maintenir la vitalité des cellules greffées. Il a donc été proposé de faire une implantation des cellules en plusieurs étapes afin d'obtenir une véritable régénération tissulaire durable²⁹.

Contrairement à ce que soutenaient Myers et Fontaines en 1974 et ce qu'ont réalisé Banchs et Trope, la régénération pulpaire ne peut se faire par l'induction d'un saignement dans le canal afin d'acheminer des cellules souches du ligament parodontal ou des BMMSC de l'os alvéolaire, car elles n'ont pas la faculté de se différencier en cellules odontoblastiques^{95, 112}.

3 - Régénération osseuse/parodontale

La technique principale actuelle pour réparer des atteintes parodontales fait appel à des greffes autologues, allo ou xeno géniques d'os. Les effets bénéfiques du PDGF (Platelet-Derived Growth Factor), et de l'IGF (Insulin-derived Growth Factor) sur la réparation parodontale ont été mis en évidence dans des études animales, aussi bien que dans des études cliniques humaines⁹⁶⁻¹⁰². Le plasma riche en plaquettes, ou PRP (Platelet-Rich Plasma), est un concentré de plaquettes environ 5 fois supérieur au taux normal. Il est obtenu par centrifugation de sang autologue. Le PRP a des propriétés cicatrisantes par ses facteurs de croissances et a ainsi montré une amélioration de la santé parodontale ainsi qu'une régénération osseuse. Ainsi la préparation de PRP provenant des patients, afin de les soigner, est devenue une part de la pratique parodontale¹⁰³.

La thérapie de régénération cellulaire parodontale est arrivée sur le devant de la scène depuis l'isolement de cellules souches mésenchymateuses provenant de différents tissus. Un cas clinique a montré que l'utilisation de BMMSC autologues cultivées *ex-vivo* facilitait la réparation de défauts parodontaux¹⁰⁴. Afin de guérir ces atteintes parodontales, il a été considéré que réhabiliter le ligament parodontal était au moins aussi important que de régénérer l'os alvéolaire. La régénération unique de l'os, ainsi que du ciment, entraîne dans la quasi-totalité des cas, une ankylose entre la dent et l'os nouvellement formé¹⁰⁵.

Une étude sur la greffe d'un biocomplexe réalisé à partir de cellules souches dentaires autologues et d'une matrice d'éponge collagénique, a été réalisée par l'équipe de d'Aquino, dans le but de montrer une régénération osseuse optimale sur le site d'extraction de dents de sagesse mandibulaires incluses¹⁰⁶. Les cellules souches autologues sont prélevées au niveau de la pulpe des dents de sagesse maxillaires, extraites au préalable. Après amplification, elles sont associées à une matrice d'éponge collagénique pour former un bio complexe qui va être mis en place dans l'alvéole des dents de sagesse mandibulaire, après leur avulsion¹⁰⁶. Trois mois après la greffe autologue, la hauteur d'os verticale est revenue à la normale, avec une restauration complète des tissus parodontaux en distal de la 2nde molaire mandibulaire¹⁰⁶.

Une étude menée trois ans plus tard sur ces mêmes patients révèle une stabilité de ces résultats, avec l'obtention d'un os plus dense, compacte, et plus résistant que l'os alvéolaire normal (Fig. 30) ¹⁰⁷. Cette constatation permet alors d'envisager d'autres applications pour ce bio complexe, comme un comblement sinusien, pour lequel un os dense permet une meilleure stabilité primaire des implants¹⁰⁸.

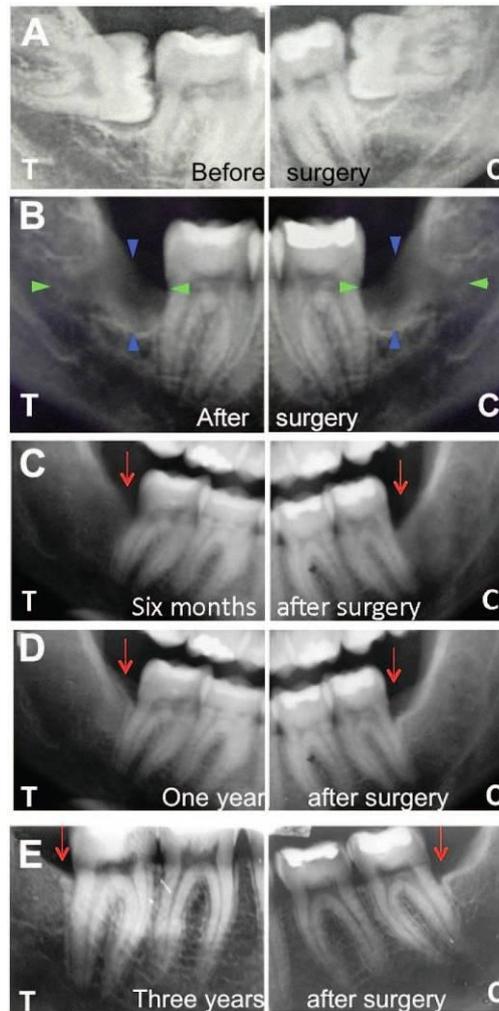


Figure 30 : Radiographies des sites T (test) et C (contrôle) chez un patient avant et après extraction des dents de sagesse mandibulaires.

Les radios sont prises avant (A) et juste après l'intervention (B), à 6 mois (C), un an (D) et trois ans (E). (A) les dents de sagesse sont en contact avec les racines des secondes molaires mandibulaires. (B) Défauts osseux observés après extraction des dents de sagesse (les flèches délimitent les défauts osseux verticalement (bleu) et horizontalement (vert)). (C) A six mois la régénération osseuse verticale est visiblement meilleure du côté T (les flèches rouges indiquent la jonction émail-cément). (D) La régénération osseuse est meilleure du côté T et la racine de la seconde molaire est moins exposée que dans le site C. (E) Le site T est intégralement régénéré avec une hauteur verticale osseuse supérieure à celle du site C. ¹⁰⁷

Conclusion

Depuis plusieurs années, l'ingénierie tissulaire est devenue un domaine pluridisciplinaire en associant la biologie, la médecine et différentes sciences de l'ingénieur. Comme toutes les disciplines médicales, la chirurgie dentaire sera amenée dans les années à venir à proposer des traitements régénératifs des structures détruites, comme l'os, la gencive ou même un organe dentaire entier. Au cours de ce travail, nous avons pu mettre en évidence que les cellules souches pulpaire possèdent un intérêt thérapeutique grandissant, grâce notamment aux résultats obtenus par les premières études cliniques. De plus, les avancées récentes en termes de cryopréservation permettent de conserver le potentiel de la prolifération et de différenciation des cellules, en vues d'un stockage massif de ces cellules à long terme¹¹³⁻¹¹⁶.

Cependant, il nous appartient de rappeler que les applications cliniques chez l'homme restent actuellement « limitées », ce qui impose de rester prudent vis a vis du stockage systématique de ces cellules. Cette question divise les états comme la Suisse dont les banques de stockage sont déjà effectives, alors que l'ANSM (Agence Nationale de Sécurité du Médicament) en France refuse l'émergence de ces banques qui pourraient être considérées comme une dérive commerciale sans débouchés certains. Le stockage est en effet actuellement relativement onéreux (environ 2 500 euros pour conserver deux pulpes pendant 20 ans). De plus, il est difficile d'imaginer le prix d'un organe réalisé à partir de ces cellules, lorsque que le prix d'un steak haché réalisé à partir de cellules souches de bœuf est d'environ 250 000 euros, ce qui soulève, une fois encore, le problème récurrent d'une médecine à deux vitesses.

Ce domaine de recherche reste malgré tout un bel espoir de repousser la maladie et la vieillesse, et aux vues du potentiel grandissant des DPSC, peut être qu'un jour une dent pourra sauver une vie.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K *et al.*
Induction of Pluripotent Stem Cells from Adult Human Fibroblasts by Defined Factors.
Cell. 2007;131(5):861-72.
- 2 - Post MJ. Cultured meat from stem cells: Challenges and prospects. *Meat Science.*
2012;92,(3): 297–301
- 3 - Langelan MLP, Boonen KJM, Polak RB, Baaijens FPT, Post MJ, van der Schaft
DWJ. Meet the new meat: tissue engineered skeletal muscle. *Trends in Food Science &
Technology.* 2010;21(2) : 59–66
- 4 - Friedenstein AJ, Deriglazova UF, Kulagina NN, Panasuk AF, Rudakowa SF, Luria
EA *et al.* Precursors for fibroblasts in different populations of hematopoietic cells as
detected by the in vitro colony assay method. *Exp Hematol.*1974; 2:83-92.
- 5 - Caplan AI. Mesenchymal stem cells. *J Orthop Res.*1991; 9:641-650
- 6 - Prockop DJ. Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues.
*Science.*1997;276:71-74.
- 7 - Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, *et al.*
Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science.*1999;284:143-
147.
- 8 - Gronthos S, Zannettino AC, Hay SJ, Shi S, Graves SE, Kortessidis A, *et al.*
Molecular and cellular characterisation of highly purified stromal stem cells derived from
human bone marrow. *J Cell Sci.*2003;116: 1827-1835.
- 9 - Dannan A. Dental-derived stem cells and whole tooth regeneration: an overview.
*Journal of Clinical Medicine and Research.*2009; 1:63-71.

- 10 - Mummery C, Wilmut I, van de Stolpe A, and Roelen BAJ. Stem Cells: Scientific Facts and Fiction. *Academic Press, London, England*.2011; 324 pp.
- 11 - Smith A. A glossary for stem-cell biology. *Nature*. 2006; 441:1060-1060.
- 12 - Alison MR, Poulson R, Forbes S, and Wright NA. An introduction to stem cells. *J Pathol*. 2002; 197:419-423.
- 13 - Fortier LA. Stem cells: classifications, controversies, and clinical applications. *Vet Surg*. 2005; 34:415-423.
- 14 - Wobus AM, and Boheler KR. Embryonic Stem Cells: Prospects for Developmental Biology and Cell Therapy. *Physiological Reviews*. 2005; 85:635-678.
- 15 - Takahashi K, Yamanaka S. Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors. *Cell*.2006;126(4): 663–676
- 16 - Lavker RM and Sun TT. Epidermal stem cells: Properties, markers, and location. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000; 97(25): 13473–13475.
- 17 - Morris RJ, Liu Y, Marles L, Yang Z, Trempus C, Li S *et al*. Capturing and profiling adult hair follicle stem cells. *Nature biotechnology*.2004;22, 411-417.
- 18 - Yin H, Price F, and Rudnicki MA. Satellite Cells and the Muscle Stem Cell Niche *Physiol Rev*.2013; 93(1) 23-67.
- 19 - Clarke DL, Johansson CB, Wilbertz J, Veress B, Nilsson E, Karlström H *et al*. Generalized Potential of Adult Neural Stem Cells. *Science*.2000;288 (5471):1660-1663.
- 20 - Gronthos S, Mankani M, Brahimi J, Robey PG, Shi S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*.2000 ;97(25):13625-30.

- 21 - Schofield R. The relationship between the spleen colony-forming cell and the haemopoietic stem cell. *Blood Cells*.1978;4:7-25.
- 22 - Huang GT, Gronthos S, Shi S. Mesenchymal stem cells derived from dental tissues vs. thoses from other sources: their biology and role in regenerative medicine. *J. Dent. Res.*2009;88(9):792-806.
- 23 - Sloan AJ, Waddington RJ. Dental pulp stem cells: what, where, how? *Journal of paediatric dentistry*.2009;19(1): 61–70.
- 24 - Kerkis I and Caplan AI. Stem cells in dental pulp of deciduous teeth. *Tissue Engineering Part B: Reviews*.2012;18(2): 129-138.
- 25 - Detante O, Remy C, Hommel M, Richard MJ. Thérapie cellulaire et accident vasculaire cérébral. *Sang Thrombose Vaisseaux*.2010 ;22(2):72-8.
- 26 - Scadden DT. The stem-cell niche as an entity of action. *Nature*.2006;441:1075-1079.
- 27 - Jones DL, Wagers AJ. No place like home: anatomy and function of the stem cell niche. *Nat Rev Mol Cell Biol*.2008;9:11-21.
- 28 - Shi S, Gronthos S. Perivascular niche of postnatal mesenchymal stem cells in human bone marrow and dental pulp. *J Bone Miner Res*.2003;18(4):696-704.
- 29 - Huang GT, Sonoyama W, Liu Y, Liu H, Wang S, Shi S. The hidden treasure in apical papilla: the potential role in pulp/dentin regeneration and bioroot engineering. *J Endod*.2008;34:645-651.
- 30 - Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini FC, Krause DS *et al*. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. *The International Society for Cellular Therapy position statement Cytotherapy*.2006; 8(4):315-317.

- 31 - Rodriguez-Lozano FJ, Bueno C, Insausti CL, Mesehuer L, Ramirez MC, Blanquer M *et al.* Mesenchymal stem cells derived from dental tissue. *Int. Endod J.*2011 ;44(9):800-806.
- 32 - Miura M, Gronthos S, Zhao M, Lu B, Fisher LW, Robey PG, Shi S. SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;100(10):5807-12.
- 33 - Petrovic V, Stefanovic V. Dental tissue – new source for stem cells. *ScientificWorldJournal.*2009;9 :1167-1177.
- 34 - Kerkis I, Kerkis A, Dozortsev D, Stukart-Parsons GC, Massironi SM, Pereira LV *et al.* Isolation and characterization of a population of immature dental pulp stem cells expressing OCT-4 and other embryonic stem cell markers. *Cells Tissues Organs.*2006;184(3-4):105-16.
- 35 - Telles PD, Machado MA, Sakai VT, Nör JE. Pulp tissue from primary teeth : new source of stem cells. *J Appl Oral Sci.*2011 ;19(3):189-194.
- 36 - Seo BM, Sonoyama W, Yamaza T, Coppe C, Kikuri T, Akiyama K *et al.* SHED repair critical-size calvarial defects in mice. *Oral Dis.*2008;14:428-434.
- 37 - Azizi SA, Stokes D, Augelli BJ, DiGirolamo C, Prockop DJ. Engraftment and migration of human bone marrow stromal cells implanted in the brains of albino rats- similarities to astrocyte grafts. *Proc Natl Acad Sci USA.*1998;95:3908-3913.
- 38 - Chai Y, Jiang X, Ito Y, Bringas P Jr, Han J, Rowitch DH *et al.* Fate of the mammalian cranial neural crest during tooth and mandibular morphogenesis. *Development.* 2000;127:1671-1679.

- 39 - Karaöz E, Doğan B, Aksoy A, Gacar G, Akyüz S, Ayhan S *et al.* Isolation and in vitro characterisation of dental pulp stem cells from natal teeth. *Histochemistry and Cell Biology*.2010;133:95-112.
- 40 - Leung AK and Robson WL. Natal teeth: a review. *J Natl Med Assoc*.2006;98:226-228.
- 41 - Sonoyama W, Liu Y, Yamaza T, Tuan RS, Wang S, Shi S *et al.* Characterization of the Apical Papilla and Its Residing Stem Cells from Human Immature Permanent Teeth: A Pilot Study. *Journal of Endodontics*. 2008;34(2):166–171.
- 42 - Sonoyama W, Liu Y, Fang D, Yamaza T, Seo BM, Zhang C *et al.* Mesenchymal stem cell-mediated functional tooth regeneration in Swine. *PLoS*.2006;1:e79.
- 43 - Abe S, Yamaguchi S, Amagasa T. Multilineage cells from apical pulp of human tooth with immature apex. *Oral Sci Int* .2007;4:45-58.
- 44 - McCulloch CA, Bordin S. Role of fibroblast subpopulations in periodontal physiology and pathology. *J Periodontal Res*.1991;26(3 Pt 1): 144-154.
- 45 - Isaka J, Ohazama A, Kobayashi M, Nagashima C, Takiguchi T, Kawasaki H *et al.* Participation of periodontal ligament cells with regeneration of alveolar bone. *J Periodontol* .2001;72:314-323.
- 46 - Chen SC, Marino V, Gronthos S, Bartold PM. Location of putative stem cells in human periodontal ligament. *J Periodontal Res*.2006;41: 547-553.
- 47 - Seo BM, Miura M, Gronthos S, Bartold PM, Batouli S, Brahim G *et al.* Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *Lancet*.2004;364:149-155.

- 48 - Gay I, Chen S, MacDougall M. Isolation and characterization of multipotent human periodontal ligament stem cells. *Orthod Craniofac Res* .2007;10:149-160.
- 49 - Lindroos B, Mäenpää K, Ylikomi T, Oja H, Suuronen R, Miettinen S. Characterisation of human dental stem cells and buccal mucosa fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun*.2008;368:329-335.
- 50 - Xu J, Wang W, Kapila Y, Lotz J, Kapila S. Multiple differentiation capacity of STRO-1+/CD146+ PDL mesenchymal progenitor cells. *Stem Cells Dev*.2009;18:487-496.
- 51 - Cahill DR, Marks CM Jr. Tooth eruption: evidence for the central role of the dental follicle. *Journal of Oral Pathology & Medicine*.1980; 9(4):189–200.
- 52 - Morsczeck C, Gotz W, Schierholz J, Zeilhofer F, Kuhn U, Mohl C *et al*. Isolation of precursor cells (PCs) from human dental follicle of wisdom teeth. *Matrix Biol*.2005;24:155-165.
- 53 - D'Aquino R, Tirino V, Desiderio V, Studer M, De Angelis GC, Laino L *et al*. Human neural crest-derived postnatal cells exhibit remarkable embryonic attributes either in vitro or in vivo. *Eur Cell Mater*.2011;21:304-16.
- 54 - Kémoun P, Laurencin-Dalicioux S, Rue J, Farges JC, Gennero I, Conte-Auriol F *et al*. Human dental follicle cells acquire cementoblast features under stimulation by BMP-2/-7 and enamel matrix derivatives (EMD) in vitro. *Cell Tissue Res*.2007;329:283-294.
- 55 - Morsczeck C, Schmalz G, Reichert T, Völlner F, Galler K, Driemel O. Somatic stem cells for regenerative dentistry. *Clin Oral Investig*.2008;12:113-118.
- 56 - Gronthos S, Brahimi J, Li W, Fisher LW, Cherman N, Boyde A, *et al*. Stem cell properties of human dental pulp stem cells. *J Dent Res*.2002;81(8):531-5.

- 57 - Liu Y, Zheng Y, Ding G, Fang D, Zhang C, Bartold PM *et al.* Periodontal ligament stem cell-mediated treatment for periodontitis in miniature swine. *Stem Cells*.2008; 26:1065-1073.
- 58 - Fitzgerald M, Chiego DJ Jr, Heys DR. Autoradiographic analysis of odontoblast replacement following pulp exposure in primate teeth. *Arch. Oral Biol*.1990;35:707-715.
- 59 - Li L & Clevers H. Coexistence of quiescent and active adult stem cells in mammals. *Science*.2010;327: 542–545.
- 60 - Casagrande L, Cordeiro MM, Nör SA, Nör JE. Dental pulp stem cells in regenerative dentistry. *Odontology*.2011; 99(1):1-7.
- 61 - Nolla CM. The developement of a permanent teeth. *J. Dent. Child*.1960;27:254-266
- 62 - Couble ML, Farges JC, Bleicher F, Perrat-Mabillon B, Boudeulle M, Magloire H. Odontoblast Differentiation of Human Dental Pulp Cells in Explant Cultures. *Calcified Tissue International*.2000;66(2):129-138.
- 63 - Spath L, Rotilio V, Alessandrini M, Gambarà G, De Angelis L, Mancini M *et al.* Explant-derived human dental pulp stem cells enhance differentiation and proliferation potentials. *J Cell Mol Med*.2010;14(6B):1635-44.
- 64 - Huang GT, Sonoyama W, Chen J, Park S. In vitro characterization of human dental pulp cells: various isolation methods and culturing environments. *Cell Tissue Res*. 2006;324:225-236.
- 65 - Fujimori Y, Izumi K, Feinberg SE & Marcelo CL. Isolation of small-sized human epidermal progenitor/stem cells by Gravity Assisted Cell Sorting (GACS). *Journal of Dermatological Science*.2009;56, 181–187.

- 66 - Hung SC, Chen NJ, Hsieh SL, Li H, Ma HL & Lo WH. Isolation and characterization of size-sieved stem cells from human bone marrow. *Stem Cells*.2002;20: 249–258.
- 67 - Ming Y, Yu Y, Zhang G, Tang C, Yu J. A Journey from Dental Pulp Stem Cells to a Bio-tooth. *Stem Cell Rev and Rep*.2011; 7:161–171.
- 68 - D'Aquino R, Graziano A, Sampaolesi M, Laino G, Pirozzi G, De Rosa A *et al*. Human postnatal dental pulp cells co-differentiate into osteoblasts and endotheliocytes: a pivotal synergy leading to adult bone tissue formation. *Cell Death Differ*. 2007;14(6):1162-71. Epub 2007 Mar 9.
- 69 - Yamada Y, Sayaka N, Kenji I, Takayuki S, Ryoko Y, Tetsuro N *et al*. A Feasibility of Useful Cell-Based Therapy by Bone Regeneration with Deciduous Tooth Stem Cells, Dental Pulp Stem Cells, or Bone-Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells for Clinical Study Using Tissue Engineering Technology. *Tissue Engineering Part A*.2010;16(6):1891-1900.
- 70 - Yamashita K, Dennis JE, Lennon DP, Morimoto H, Kitamura S, Caplan A. Dental pulp cells multi-potential for differentiation to odontoblast and chondroblast. *Journal of hard tissue biology*.2003;12(21):49-p55
- 71 - Laberge T and Cheung HS. Multipotent Dental Stem Cells: An Alternative Adult Derived Stem Cell Source for Regenerative Medicine. Embryonic Stem Cells - Differentiation and Pluripotent Alternatives, ISBN 978-953-307-632-4, Michael S. Kallos ed.). Chapter 23, 451-472, 2011.
- 72 - Gandia C, Armiñan A, García-Verdugo JM, Lledó E, Ruiz A, Miñana MD *et al*. Human dental pulp stem cells improve left ventricular function, induce angiogenesis, and reduce infarct size in rats with acute myocardial infarction. *Stem Cells*. 2008;26(3):638-45.

- 73 - Ikeda E, Yagi K, Kojima M, Yagyuu T, Ohshima A, Sobajima S *et al.* Multipotent cells from the human third molar: feasibility of cell-based therapy for liver disease. *Differentiation*.2008;76:495–505.
- 74 - Stevens A, Zuliani T, Olejnik C, LeRoy H, Obriot H, Kerr-Conte J *et al.* Human dental pulp stem cells differentiate into neural crest-derived melanocytes and have label-retaining and sphere-forming abilities. *Stem Cells Dev.* 2008;17(6):1175-84.
- 75 - Paino F, Ricci G, De Rosa A, D'Aquino R, Laino L, Pirozzi G *et al.* Ecto-mesenchymal stem cells from dental pulp are committed to differentiate into active melanocytes. *Eur Cell Mater*.2010;20:295-305.
- 76 - Dupin E, Le Douarin NM. Development of melanocyte precursors from the vertebrate neural crest. *Oncogene*.2003;22(20):3016-23
- 77 - Young CS, Terada S, Vacanti JP, Honda M, Bartlett JD & Yelick PC. Tissue engineering of complex tooth structures on biodegradable polymer scaffolds. *Journal of Dental Research*.2002;81: 695–700.
- 78 - Duailibi MT, Duailibi SE, Young CS, Bartlett JD, Vacanti JP, & Yelick PC. Bioengineered teeth from cultured rat tooth bud cells. *Journal of Dental Research*.2004; 83:523-528.
- 79- Nakao K, Morita R, Saji Y, Ishida K, Tomita Y, Ogawa M *et al.* The development of a bioengineered organ germ method. *Nature Methods*.2007;4, 227–230.
- 80 - Honda MJ, Ohara T, Sumita Y, Ogaeri T, Kagami H, Ueda M. Preliminary study of tissue-engineered odontogenesis in the canine jaw. *J Oral Maxillofac Surg*.2006; 64:283-289.

- 81 - Kuo TF, Huang AT, Chang HH, Lin FH, Chen ST, Chen RS, *et al.* Regeneration of dentin-pulp complex with cementum and periodontal ligament formation using dental bud cells in gelatin-chondroitinhyaluronan tri-copolymer scaffold in swine. *J Biomed Mater Res A*.2007;86:1062-1068.
- 82 - Bluteau G, Luder HU, De Bari C, Mitsiadis TA. Stem cells for tooth engineering. *Eur cells mater.* 2008;16:1–9.
- 83 - Mitsiadis TA, and Papagerakis P. Regenerated teeth: the future of tooth replacement? *Regenerative Medicine*.2011;6:135-139.
- 84 - Oshima M, Mizuno M, Imamura A, Ogawa M, Yasukawa M, Yamazaki H *et al.* Functional Tooth Regeneration Using a Bioengineered Tooth Unit as a Mature Organ Replacement Regenerative Therapy. *PlosOne*.2011
- 85 - Ostby B. The role of the blood clot in endodontic therapy, an experimental histological study. *Acta. Odont. Scand.* 1961;19: 323-353
- 86 - Myers WC, Fountain SB. Dental pulp regeneration aided by blood and blood substitutes after experimentally induced periapical infection. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*.1974;37:441-450.
- 87 - Gu K, Smoke RH, Rutherford RB. Expression of genes for bone morphogenetic proteins and receptors in human dental pulp. *Arch Oral Biol*.1996;41:919-923.
- 88 - Mooney DJ, Powell C, Piana J, Rutherford RB. Engineering dental pulp-like tissue in vitro. *Biotechnol Pro*.1996;12:865-868.
- 89 - Buurma B, Gu K, Rutherford RB. Transplantation of human pulpal and gingival fibroblasts attached to synthetic scaffolds. *Eur J Oral Sci*.1999;107:282-289.

- 90 - Sharma S, Sikri V, Sharma N, and Sharma V. Regeneration of tooth pulp and dentin: trends and advances. *Annals of Neurosciences*. 2010;17:31-43.
- 91 - Caton J, Bostanci N, Remboutsika E, De Bari C, and Mitsiadis TA. Future dentistry: cell therapy meets tooth and periodontal repair and regeneration. *J. Cell. Mol. Med.*2011;15(5):1054–1065.
- 92 - Yen A, Sharpe P. Stem cells and tooth tissue engineering. *Cell Tissue Res.*2008;331:359-372.
- 93 - Murray PE, Garcia-Godoy F, Hargreaves KM. Regenerative endodontics: a review of current status and a call for action. *J Endod.*2007;33: 377-390.
- 94 - Prescott RS, Alsanea R, Fayad MI, Johnson BR, Wenckus CS, Hao J *et al.* In vivo generation of dental pulp-like tissue by using dental pulp stem cells, a collagen scaffold, and dentin matrix protein 1 after subcutaneous transplantation in mice. *J Endod.*2008; 34:421-426.
- 95 - Hu B, Unda F, Bopp-Kuchle S, Jimenez L, Wang XJ, Haikel Y *et al.* Bone marrow cells can give rise to ameloblast-like cells. *J Dent Res.*2006;85:416-421.
- 96 - Lynch SE, Williams RC, Polson AM, Howell TH, Reddy MS, Zappa UE *et al.* A combination of platelet-derived and insulin-like growth factors enhances periodontal regeneration. *J Clin Periodontol.*1989;16:545-548.
- 97 - Giannobile WV, Finkelman RD, Lynch SE. Comparison of canine and non-human primate animal models for periodontal regenerative therapy: results following a single administration of PDGF/IGF-I. *J Periodontol.*1994;65:1158-1168.

- 98 - Howell TH, Fiorellini JP, Paquette DW, Offenbacher S, Giannobile WV, Lynch SE. A phase I/II clinical trial to evaluate a combination of recombinant human platelet-derived growth factor-BB and recombinant human insulin-like growth factor-I in patients with periodontal disease. *J Periodontol.*1997;68:1186-1193.
- 99 - Camelo M, Nevins ML, Schenk RK, Lynch SE, Nevins M. Periodontal regeneration in human Class II furcations using purified recombinant human platelet-derived growth factor-BB (rhPDGF-BB) with bone allograft. *Int J Periodontics Restorative Dent.*2003;23:213-225.
- 100 - Nevins M, Camelo M, Nevins ML, Schenk RK, Lynch SE. Periodontal regeneration in humans using recombinant human platelet-derived growth factor-BB (rhPDGF-BB) and allogenic bone. *J Periodontol.*2003;74:1282-1292.
- 101 - Nevins M, Giannobile WV, McGuire MK, Kao RT, Mellonig JT, Hinrichs JE *et al.* Platelet-derived growth factor stimulates bone fill and rate of attachment level gain: results of a large multicenter randomized controlled trial. *J Periodontol.*2005;76:2205-2215.
- 102 - McGuire MK, Kao RT, Nevins M, Lynch SE. rhPDGF-BB promotes healing of periodontal defects: 24-month clinical and radiographic observations. *Int J Periodontics Restorative Dent.*2006;26:223-231; *erratum in Int J Periodontics Restorative Dent.*2007; 27:88.
- 103 - Tozum TF, Demiralp B. Platelet-rich plasma: a promising innovation in dentistry. *J Can Dent Assoc.*2003;69:664.
- 104 - Yamada Y, Ueda M, Hibi H, Baba S. A novel approach to periodontal tissue regeneration with mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma using tissue engineering technology: a clinical case report. *Int J Periodontics Restorative Dent.*2006; 26:363-369.

- 105 - Selvig KA, Sorensen RG, Wozney JM, Wikesjö UM. Bone repair following recombinant human bone morphogenetic protein-2 stimulated periodontal regeneration. *J Periodontol.*2002;73:1020-1029.
- 106 - D'Aquino R, De Rosa A, Lanza V, Tirino V, Laino L, Graziano A *et al.* Human mandible bone defect repair by the grafting of dental pulp stem/progenitor cells and collagen sponge biocomplexes. *Eur Cell Mater.* 2009;18:75-83.
- 107 - Giuliani A, Manescu A, Langer M, Rustichelli F, Desiderio V, Paino L *et al.* Three Years After Transplants in Human Mandibles, Histological and In-Line Holotomography Revealed That Stem Cells Regenerated a Compact Rather Than a Spongy Bone: Biological and Clinical Implications. *Stem Cells Trans Med.* 2013;2:316-324.
- 108 - Graziano A, D'Aquino R, Brunelli G, Fanali S, Carinci F. Sinus lift augmentation using pulp stem cells: a case report and histological evaluation. *European journal of inflammation.*2011; 9(1):89-94.
- 109 - Egusa H, Sonoyama W, Nishimura M, Atsuta I, Akiyama K. Stem cells in dentistry – Part I: Stem cell sources. *J. of Prosthodontic Research.*2012;56(3) :151–165.
- 110 - Wikipédia. Tri cellulaire magnétique.
http://fr.wikipedia.org/wiki/Tri_cellulaire_magnétique (consulté le 20/11/13)
- 111 - Potáčová A, Štossová J, Burešová I, Kovářová L, Almáši M, Penka M *et al.* Sample Processing and Methodological Pitfalls in Multiple Myeloma Research. *Klin Onkol.* 2011; 24 :S18–S23.
- 112 - Banchs F and Trope M. Revascularization of Immature Permanent Teeth With Apical Periodontitis: New Treatment Protocol? *J. of Endodontics.*2004 ;30(4) :196-200.

- 113 - Ding G, Wang W, Liu Y, An Y, Zhang C, Shi S *et al.* Effect of cryopreservation on biological and immunological properties of stem cells from apical papilla. *J Cell Physiol.* 2010;223:415-422.
- 114 - Papaccio G, Graziano A, d'Aquino R, Graziano MF, Pirozzi G, Menditti D *et al.* Long-term cryopreservation of dental pulp stem cells (SBP-DPSCs) and their differentiated osteoblasts: a cell source for tissue repair. *J Cell Physiol.* 2006;208(2):319-25.
- 115 - Woods EJ, Perry BC, Hockema JJ, Larson L, Zhou D, and Goebel WS. Optimized cryopreservation method for human dental pulp-derived stem cells and their tissues of origin for banking and clinical use. *Cryobiology.* 2009;59:150-157.
- 116 - Zhang W, Walboomers XF, Shi S, Fan M, Jansen JA. Multilineage differentiation potential of stem cells derived from human dental pulp after cryopreservation. *Tissue Eng.* 2006;12:2813-2823.
- 117 - Fluorescent activated cell sorting.
<http://stemcells.nih.gov/StaticResources/info/scireport/images/figuree2.jpg> . Consulté le 20/12/13)
- 118 - Stem Save, Saving Cells for Life.
<http://stemsaveblog.com/tag/liver-cells/>. (Consulté le 10/01/14)
- 119 - Journal de l'association GFME (oct-dec.2011)
<http://gfme.free.fr/journal/journal22/journal22.html>

	N° 2014 LYO 1D 000
<p>LAX-COMERRO Lorène – Les « cellules souches dentaires » : exemple des cellules souches pulpaires et applications possibles en odontologie. (Thèse : Chir. Dent. : Lyon : 2014.000) N°2014 LYO 1D 000</p>	
<p>Les cellules souches ont une place prépondérante dans la recherche biomédicale actuelle, notamment dans le domaine de la médecine régénérative. De nombreux protocoles d'ingénierie tissulaire sont développés à partir de cellules souches présentes au niveau de l'organe dentaire et ses tissus environnants, dont les cellules souches de la pulpe dentaire.</p> <p>Nous avons souhaité mettre en lumière les avantages de l'utilisation de ces cellules en particulier, ainsi que les différentes étapes de leur isolement, nécessaires à leur utilisation ultérieure.</p> <p>En effet, la pulpe dentaire est facilement accessible et présente un nombre satisfaisant de cellules souches par rapport à d'autres sources, elles sont relativement aisées à isoler et leur potentiel thérapeutique en médecine générale et en odontologie est très important en raison de leur grande plasticité.</p> <p>Les applications cliniques générales sont encore limitées et coûteuses à l'heure actuelle, mais les perspectives futures sont multiples. Les cellules souches dentaires ont cependant déjà trouvées des applications cliniques, notamment en odontologie où elles sont d'ores et déjà utilisées.</p>	
<u>Rubrique de classement :</u>	
<u>Mots clés :</u>	<ul style="list-style-type: none"> - cellules souches - pulpe dentaire - ingénierie tissulaire, régénération
<u>Jury :</u>	<p>Président : Monsieur le Professeur J-C. FARGES Assesseurs : Madame le Docteur A-G. BODARD Monsieur le Docteur C. JEANNIN <u>Monsieur le Docteur M. DUCRET</u></p>
<u>Adresse de l'auteur :</u>	Lorène LAX-COMERRO 4, rue du Port Villiers 71 100 Chalon-sur-Saône