
Année : 2014

N° : 010

LA RECONSTRUCTION DE L'ORGANE DENTAIRE PAR INGENIERIE
TISSULAIRE : NOUVELLE PERSPECTIVE THERAPEUTIQUE ?

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT DE
DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE

présentée
et soutenue publiquement par

SARI Malik
Né le 26 Mars 1986

Le 15 janvier 2014 devant le jury ci-dessous

Président	Madame le Professeur Brigitte ALLIOT-LICHT
Directeur	Madame le Docteur Serena LOPEZ-CAZAUX
Assesseur	Monsieur le Professeur Pierre WEISS
Assesseur	Monsieur le Docteur Zahi BADRAN

Par délibération en date du 6 décembre 1972, le conseil de la Faculté de Chirurgie Dentaire a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'il n'entend leur donner aucune approbation, ni improbation.

UNIVERSITÉ DE NANTES	
Président	Pr. Olivier LABOUX
FACULTÉ DE CHIRURGIE DENTAIRE	
Doyen	Pr. Yves AMOURIQ
Assesseeurs	Dr. Stéphane RENAUDIN Pr. Assem SOUEIDAN Pr. Pierre WEISS
Professeurs des Universités Praticiens hospitaliers des C.S.E.R.D.	
Monsieur Yves AMOURIQ Madame ALLIOT-LICHT Brigitte Monsieur GIUMELLI Bernard	Monsieur Philippe LESCLOUS Madame PEREZ Fabienne Monsieur SOUEIDAN Assem Monsieur WEISS Pierre
Professeurs des Universités	
Monsieur BOHNE Wolf (Professeur Emérite) Monsieur JEAN Alain (Professeur Emérite)	Monsieur BOULER Jean-Michel
Praticiens Hospitaliers	
Madame Cécile DUPAS	Madame Emmanuelle LEROUXEL
Maîtres de Conférences Praticiens hospitaliers des C.S.E.R.D.	Assistants hospitaliers universitaires des C.S.E.R.D.
Monsieur AMADOR DEL VALLE Gilles Madame ARMENGOL Valérie Monsieur BADRAN Zahi Monsieur BODIC François Madame DAJEAN-TRUTAUD Sylvie Monsieur DENIAUD Joël Madame ENKEL Bénédicte Monsieur GAUDIN Alexis Monsieur HOORNAERT Alain Madame HOUCHMAND-CUNY Madline Madame JORDANA Fabienne Monsieur KIMAKHE Saïd Monsieur LAGARDE André Monsieur LE BARS Pierre Monsieur LE GUEHENNEC Laurent Madame LOPEZ-CAZAUX Sérèna Monsieur MARION Dominique Monsieur NIVET Marc-Henri Monsieur RENAUDIN Stéphane Madame ROY Elisabeth Monsieur STRUILLLOU Xavier Monsieur UNGER François Monsieur VERNER Christian	Madame BOEDEC Anne Monsieur CLÉE Thibaud Monsieur DAUZAT Antoine Madame DAZEL LABOUR Sophie Monsieur DEUMIER Laurent Monsieur FREUCHET Erwan (jusqu'au 03/01/14) Monsieur KOUADIO Kouakou (assistant associé) Monsieur LANOISELEE Edouard Madame LEGOFFE Claire Madame MAÇON Claire Madame MALTHIERY Eve Madame MELIN Fanny Madame MERAMETDJIAN Laure Monsieur PILON Nicolas Monsieur PRUD'HOMME Tony Monsieur RESTOUX Gauthier Madame RICHARD Catherine Monsieur ROLOT Morgan

Remerciements,

A Madame le Professeur Brigitte ALLIOT-LICHT,

Professeur des Universités,

Docteur de l'Université de Nantes,

Praticien hospitalier des Centres de Soins d'Enseignement et de Recherches Dentaires,

Habilitée à diriger des recherches,

Chef du département de Sciences biologiques.

-NANTES-

Qui m'a fait honneur de présider ce jury,

Veillez trouver ici l'expression de mes sincères remerciements et de mon profond respect.

A Madame le Docteur Serena LOPEZ-CAZAUX,

Maître de Conférences des Universités,

Docteur de l'Université de Nantes,

Praticien hospitalier des Centres de Soins d'Enseignement et de Recherches Dentaires,

Département de Pédiodontie.

-NANTES-

Pour avoir accepté de diriger cette thèse,

Je vous remercie de l'intérêt que vous avez porté à mon travail,

Votre énergie, votre patience, votre disponibilité m'ont grandement aidé à accomplir ce travail,

Recevez ici toute ma reconnaissance et l'expression de mon plus grand respect.

A Monsieur le Professeur Pierre WEISS,

Professeur des Universités,

Docteur de l'Université de Nantes,

Praticien hospitalier des Centres de Soins d'Enseignement et de Recherches Dentaires,
Habilité à diriger des recherches,
Chef du département de Biomatériaux,
Vice Doyen de la Faculté de Chirurgie Dentaire de Nantes,
Directeur du Laboratoire d'Ingénierie Ostéo-Articulaire et Dentaire INSERM UMRS 791 Nantes.

-NANTES-

Vous me faites l'honneur de participer au jury de thèse,
Veuillez trouver ici l'expression de mes sincères remerciements et de mon profond respect.

A Monsieur le Docteur Zahi BADRAN,
Maître de Conférences des Universités,
Docteur de l'Université de Nantes,
Praticien hospitalier des Centres de Soins d'Enseignement et de Recherches Dentaires,

Département de Parodontologie.

-NANTES-

Pour avoir accepté de participer au jury de thèse au pied levé.

Je tiens à te remercier sincèrement pour toutes ces années passées, à la fois sur le plan universitaire et extra-universitaire. Je garderai d'excellents souvenirs de tous ces moments passés, des grandes discussions géopolitiques, de ta sympathie, et de ton sens de l'écoute. J'espère que ce n'est là que le début d'une grande amitié.

A ma famille, à mes amis, à mon groupe de musique,

Merci de m'avoir encouragé et supporté toutes ces années,

C'est grâce à vous que j'en suis arrivé là aujourd'hui...

SOMMAIRE

<u>INTRODUCTION</u>	13
<u>PARTIE 1 : GENERALITES SUR LE DEVELOPPEMENT DENTAIRE</u>	14
1. LE DEVELOPPEMENT DENTAIRE.....	15
1.1. Aspects histo-morphologiques du développement dentaire.....	15
1.1.1. Stades d'évolution initiaux.....	17

1.1.2. Différenciation terminale des odontoblastes.....	19
1.1.3. Différenciation terminale des améloblastes.....	19
1.1.4. Rhizagénèse et cémentogénèse.....	20
1.2. Déterminisme du développement dentaire.....	22
1.2.1. «Patron» dentaire, théories clonales et des gradients.....	22
1.2.2. Crête neurale odontogène.....	23
1.2.3. Ectoderme oral et initiation de l'odontogénèse.....	25
2. INTERACTIONS MOLECULAIRES ET DEVELOPPEMENT DENTAIRE.....	26
2.1. Facteurs déterminant le développement dentaire.....	26
2.1.1. Les homéogènes.....	26
2.1.2. Les facteurs de croissance.....	27
2.1.3. La matrice extracellulaire et la lame basale.....	27
2.2. Les principaux facteurs de transcription du développement dentaire.....	28
2.2.1. Gènes Msx.....	28
2.2.2. Gènes Dlx.....	28
2.2.3. Gènes Pitx.....	28
2.2.4. Gènes Pax.....	29
2.2.5. Gènes Barx.....	29
2.2.6. Gène Lef-1.....	30
2.3. Les principaux facteurs de croissance du développement dentaire.....	30
2.3.1. Super-famille des TGFβs.....	30
2.3.2. Famille FGF.....	31
<u>PARTIE 2 : LES CELLULES SOUCHES EN ODONTOLOGIE.....</u>	32
1. GENERALITES SUR LES CELLULES SOUCHES.....	34
2. LES CELLULES SOUCHES DENTAIRES.....	36
2.1. Les cellules souches épithéliales.....	36
2.2. Les cellules souches ectomésenchymateuses.....	36
2.2.1. Les cellules souches de la pulpe dentaire des dents définitives (DPSC).....	37
2.2.2. Les cellules souches issues de la pulpe des dents temporaires exfoliées (SHED).....	40

2.2.3. Les cellules souches issues du ligament alvéolo-dentaire (PDLSC).....	41
2.2.4. Les cellules souches issues de la papille apicale dentaire (SCAP).....	41
2.2.5. Les cellules souches issues du follicule dentaire (DFPC).....	42
2.2.6. Les cellules souches d'origine gingivale (OMSC).....	43
3. CELLULES SOUCHES ET REPARATION DENTAIRE.....	44
3.1. Au niveau pulpo-dentinaire : exemple de la pulpopathie.....	44
3.2. Au niveau amélaire : cas des rongeurs.....	45
<u>PARTIE 3 : RECONSTRUIRE UN ORGANE DENTAIRE PAR INGENIERIE</u> <u>TISSULAIRE</u>	47
1. L'INGENIERIE TISSULAIRE.....	48
1.1. Définitions.....	48
1.2. Les bases d'expérimentation.....	50
1.2.1. Les concepts.....	50
1.2.2. Les composantes nécessaires.....	52
1.2.2.1. Des cellules.....	52
1.2.2.2. Des facteurs de croissance.....	53
1.2.2.3. Des biomatériaux de support.....	54
1.2.3. Les principales voies de recherche en odontologie.....	55
1.2.3.1. Construction à partir d'une matrice.....	56
1.2.3.2. Construction à partir de cultures organotypiques de cellules dentaires.....	57
1.3. Les problématiques.....	58
1.3.1. La morphologie de l'organe dentaire reconstruit.....	58
1.3.2. La formation du desmodonte.....	60
1.3.3. L'éruption.....	60
1.3.4. La vascularisation du transplant.....	61
1.3.5. L'innervation du transplant.....	62
1.3.6. La collecte de cellules compétentes.....	62
2. POINT SUR LES PRINCIPALES EXPERIMENTATIONS.....	65
2.1. La dent hybride.....	65
2.2. La reconstruction de l'organe dentaire.....	67

2.3. La reconstruction de l'unité dentaire fonctionnelle.....	73
3. LIMITES ACTUELLES ET PERSPECTIVES EN INGENIERIE TISSULAIRE DENTAIRE.....	79
3.1. Limites actuelles.....	79
3.2. Perspectives.....	79
<u>CONCLUSION</u>	81
<u>INDEX DES FIGURES ET TABLEAUX</u>	82
<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	85

INTRODUCTION

De nos jours, il existe trois moyens pour remplacer une dent manquante : la prothèse dentaire conventionnelle (fixée, amovible), la prothèse implantaire (implanto-portée, implanto-stabilisée), et l'auto-transplantation. Chacune de ces options a ses indications, et ses limites.

L'émergence de l'ingénierie tissulaire, qui est un des domaines les plus prometteurs de la médecine régénérative, a permis d'ouvrir une nouvelle voie dans la thérapeutique de remplacement d'un organe dentaire, ceci grâce à la connaissance approfondie des différentes étapes du développement dentaire, et à la maîtrise de la différenciation des cellules souches [121].

Ainsi, reconstituer une dent biologique entière et fonctionnelle est un défi majeur en ingénierie tissulaire dentaire, mais qui a déjà connu des succès, pour le moment chez le modèle animal [45].

Différentes approches ont été exploitées par les laboratoires du monde entier. En effet, certains utilisent des «matrices» en trois dimensions pour guider la morphogénèse et la croissance de l'organe dentaire, d'autres utilisent des techniques de biomimétisme cellulaire pour essayer de reproduire les étapes de la croissance d'un organe dentaire. Dans les deux cas, ces approches sont basées sur la connaissance du développement embryologique de la dent, car l'objectif est de se rapprocher le plus possible des étapes de l'odontogenèse physiologique [127].

Les résultats des études indiquent que nous allons connaître une véritable révolution en dentisterie, qui sera susceptible de bouleverser nos thérapeutiques restauratrices dans les années à venir.

Dans ce travail, nous allons rappeler les principales étapes du développement dentaire, puis nous nous intéresserons aux cellules souches dentaires et à leur utilisation, et ferons un point sur les dernières expérimentations en ingénierie tissulaire dentaire.

PARTIE 1 :

GENERALITES SUR LE

DEVELOPPEMENT DENTAIRE

1. LE DEVELOPPEMENT DENTAIRE

La dent est issue de structures bien spécifiques [83, 89] :

- L'épithélium buccal qui formera l'émail de la couronne, et disparaît ensuite au cours de l'éruption de la dent.
- L'ectomésenchyme sous-jacent qui sera à l'origine de la dentine de la couronne, puis de la racine de la dent.

1.1. Aspects histo-morphologiques du développement dentaire

L'odontogenèse est généralement décrite par la succession de différents stades : lame, bourgeon, capuchon et cloche dentaire, différenciation terminale des odontoblastes et des améloblastes, formation des racines (rhizagenèse), dont la différenciation fonctionnelle des cémentoblastes, et éruption dentaire (Figure 1) [83]. Chez l'homme, le développement de la dentition temporaire débute aux alentours des 6^{ème} et 7^{ème} semaines de la gestation. Mais l'odontogenèse des dents définitives ne se termine que vers 18-25 ans, avec la formation des troisièmes molaires permanentes ou dents de sagesse [89].

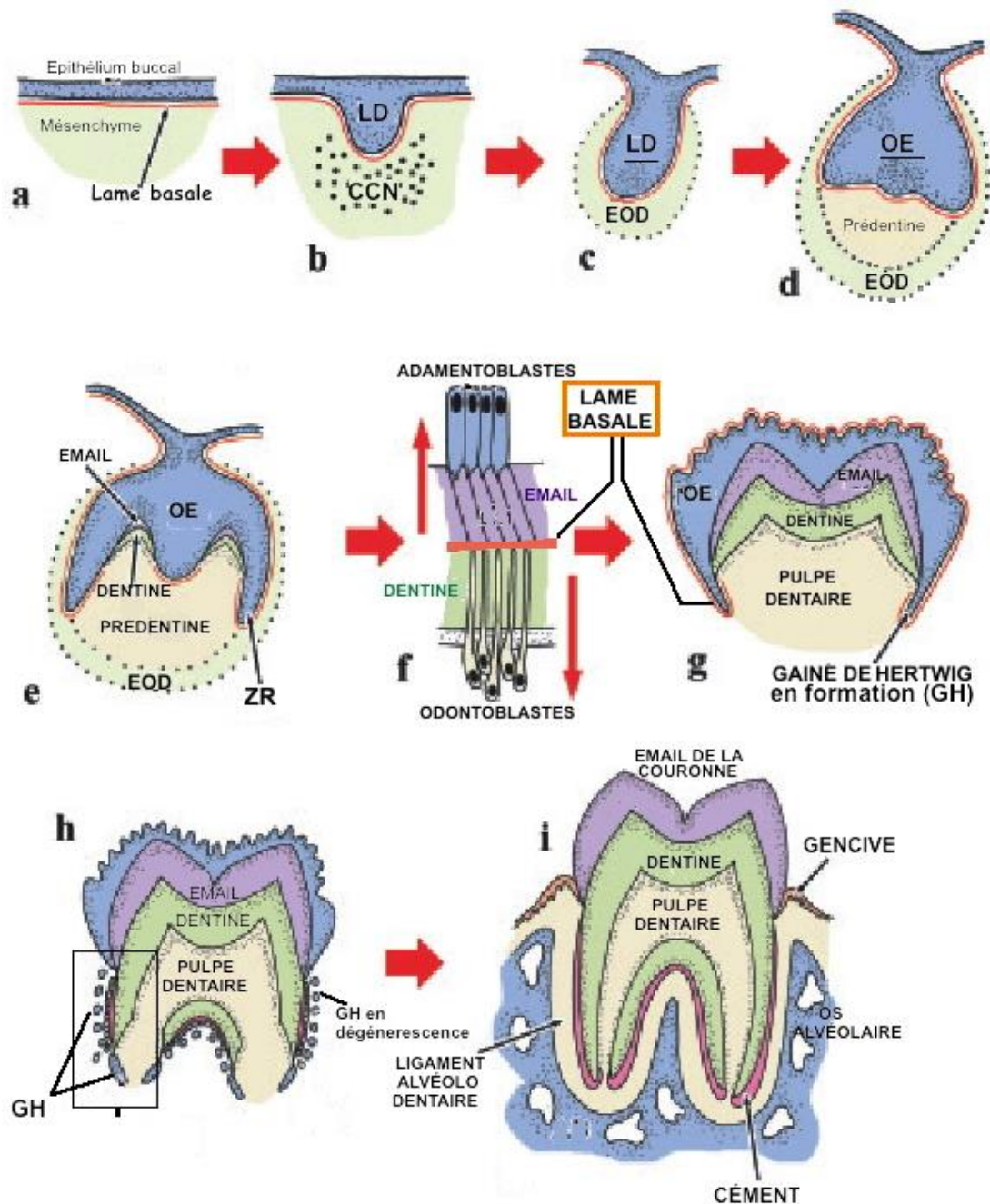


Figure 1: Les principales étapes de l'odontogenèse [83].

LD : Lame dentaire CCN : Cellules de la crête neurale
 EOD : Epithélium odontoblastique unistratifié
 OE : Organe de l'émail ZR : Zone de réflexion
 GEH : Gaine de Hertwig

a : formation de l'épithélium odontogène f : schématisation cellulaire au stade de la cloche
 b : invagination épithéliale g : stade de début de formation de la GEH
 c : stade de bourgeon h : dégénérescence de la GEH durant la rhizagenèse
 d : stade du capuchon (cupule) i : organe dentaire complet
 e : stade de la cloche

1.1.1. Stades d'évolution initiaux

L'odontogenèse débute pendant les étapes initiales du développement crânio-facial [57]. Le premier signe d'épaississement de l'épithélium buccal marque le démarrage du développement dentaire (Figure 1a).

Ce processus se déroule sous le contrôle de molécules signal qui contrôlent et régulent un certain nombre de gènes. Aussi, dans les régions spécifiques des arcs mandibulaires et maxillaire, on observe un épaississement de l'épithélium buccal (Figure 1b), formant dans chaque arc, les lames dentaires, en fer à cheval. Chaque lame donne naissance à des bourgeons dentaires (Figure 1c), correspondant à chaque future dent. On note alors, une condensation de l'ectomésenchyme sous-jacent [89].

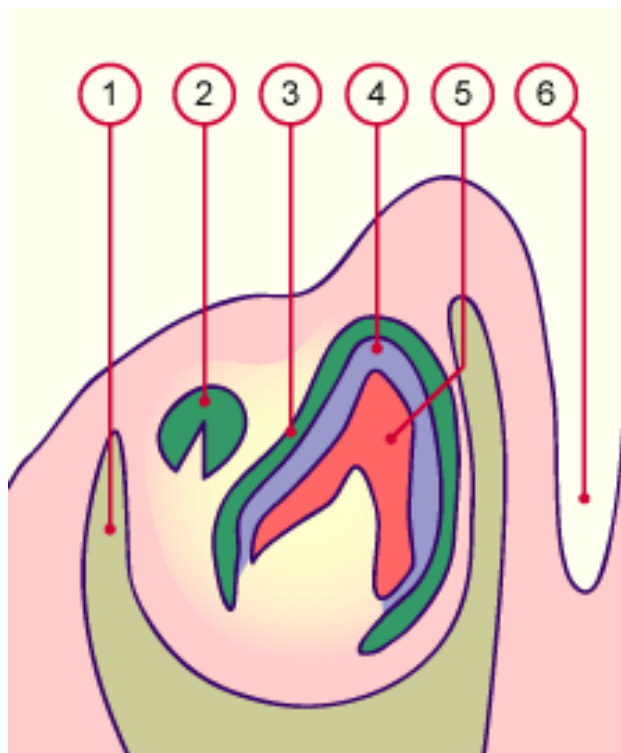
Chez l'embryon âgé de 8 semaines, les bourgeons des canines et incisives temporaires sont visibles. Durant la 9^{ème} semaine, les bourgeons des molaires temporaires se forment. Les cellules épithéliales et ectomésenchymateuses de chaque ébauche dentaire se divisent activement, le volume des bourgeons va alors augmenter rapidement, pour se transformer en capuchons dentaires (Figure 1d). Ces derniers sont caractérisés par une concavité du massif épithélial, enveloppant partiellement la future pulpe dentaire [89].

A partir du stade du capuchon, le massif épithélial se transforme progressivement en organe de l'émail. Ce processus implique la différenciation de l'épithélium dentaire interne (EDI), qui est constitué d'une couche de cellules palissadiques séparées de la future pulpe dentaire par l'intermédiaire d'une membrane basale. L'EDI est en continuité de l'épithélium dentaire externe (EDE), situé en périphérie du capuchon [83]. La jonction entre EDI et EDE forme la lèvre épithéliale (appelée aussi zone de réflexion). Les cellules épithéliales du centre de l'organe de l'émail constituent le réticulum stellaire. Les cellules au contact de l'EDI, donneront naissance par la suite au stratum intermedium. Progressivement, les cellules de l'EDI s'allongent alors que celles de l'EDE s'aplatissent. Au stade du capuchon se forme au centre de l'EDI, une structure histologique et transitoire : le noeud de l'émail (composé de cellules apoptotiques et de cellules vivantes de remplacement).

Chaque capuchon se transforme alors en cloche dentaire (Figure 1e) [83].

La lèvre épithéliale progresse en direction apicale, délimitant de plus en plus la pulpe dentaire, et l'EDI se plisse, annonçant la configuration des futures cuspides. Durant le stade de la cloche dentaire, la différenciation d'abord terminale des odontoblastes précède et induit la différenciation

des améloblastes. Il est à noter que les dents définitives commencent leur développement pendant l'odontogenèse des dents temporaires, de deux façons : soit séquentiellement, à partir de la région linguale de l'organe de l'émail de chaque dent temporaire, soit à partir d'une extension distale de la lame dentaire initiale.



1 : mandibule

2 : dent permanente en formation

3 : organe de l'émail

4 : émail

5 : dentine

6 : sillon labio-gingival

nt déciduale avec sa dent permanente [118].

1.1.2. Différenciation terminale des odontoblastes

La différenciation fonctionnelle des odontoblastes commence au sommet cuspidien et se prolonge en direction apicale [95] :

Les préodontoblastes se divisent une dernière fois, puis les cellules post-mitotiques au contact de la membrane basale s'allongent et se polarisent. On observe une position basale du noyau, et un important développement de l'appareil de Golgi supranucléaire [95].

Puis les odontoblastes fonctionnels synthétisent et sécrètent les constituants organiques du manteau dentinaire, puis de la dentine (collagènes, protéoglycanes, glycoprotéine, protéines de la famille des SIBLINGs, protéines riches en acide γ -carboxyglutamique, améline I, diverses métalloprotéases, divers lipides, facteurs de croissance, diverses protéines sériques...) [95].

Schmitt et coll. observent que des pré-odontoblastes de pulpes dentaires, isolés et cultivés in vitro dans des conditions standards, ou greffés in vivo ne donnent pas naissance à des odontoblastes fonctionnels. Ils suggèrent que la différenciation terminale de ces cellules exige un contrôle épigénétique assumé par des interactions épithélio-mésenchymateuses spécifiques [97]. En effet, l'EDI, par l'intermédiaire de la membrane basale spécifique, contrôle la différenciation fonctionnelle des cellules odontoblastiques. La lame basale joue le rôle de substrat et de contenant de facteurs paracrines [97].

1.1.3. Différenciation terminale des améloblastes

La différenciation finale des préaméloblastes ne se fait qu'en présence d'odontoblastes fonctionnels [95]. Elle est concomitante à la dégradation de la lame basale et implique la sortie du cycle cellulaire, l'allongement et la polarisation des cellules. Les améloblastes synthétisent et sécrètent l'amélogénine, l'énamélanine, l'améloblastine, la tufeline, des sialophosphoprotéines, la laminine-5, des enzymes protéolytiques, la phosphatase alcaline, divers lipides et protéines sériques [130].

En parallèle, il est aussi important de tenir compte du rôle de la lame basale. Elle représente un élément jonctionnel séparatif entre le compartiment odontoblastique et le compartiment améloblastique. Elle est fondamentale pour garantir une composition matricielle différente entre ces deux compartiments. L'histochimie ultrastructurale et l'immunocytochimie ont mis en évidence des phospholipides, des glycosaminoglycannes et des protéoglycannes existants dans la lame basale [111]. Toutes ces interactions vont agir dans le temps et l'espace sur les futures différenciations cellulaires [95].

1.1.4. Rhizagenèse et cémentogenèse

La formation des racines, sous la dépendance de la progression apicale de la lèvre épithéliale (qui constitue la gaine de Hertwig = GEH), débute à la fin du développement coronaire (Figure 3). La GEH est formée par l'accolement de la couche contro-pulpaire et de la couche contro-folliculaire. Dans les dents pluriradiculées, la gaine de Hertwig se plisse et par fusion de replis, des racines s'individualisent. En regard de la couche contro-pulpaire, les préodontoblastes radiculaires se différencient, comme dans la couronne, en odontoblastes fonctionnels et déposent le manteau dentinaire puis la dentine. La membrane basale est alors dégradée. La GEH va par la suite se dissocier, et du cément est déposé au contact de la dentine radiculaire [89].

L'origine des cémentoblastes serait l'ectomésenchyme du follicule dentaire. Cependant, cette possibilité est remise en question [7]. Des divergences persistent sur sa possible origine épithéliale, après transformation épithélio-mésenchymateuse des cellules contro-pulpaire après dissociation. Des critères histo-cytologiques autorisent la détermination de différents types de ciments, et plus particulièrement les ciments acellulaire et cellulaire (le cément cellulaire étant majoritairement présent dans le tiers apical). Les cémentoblastes synthétisent les constituants organiques du cément, et présentent des ressemblances métaboliques avec les ostéoblastes (cette caractéristique s'avérera intéressante en ce qui concerne l'ingénierie tissulaire). Ces deux types cellulaires synthétisent et sécrètent en particulier : différents types de collagènes, la sialoprotéine osseuse, l'ostéocalcine, l'ostéonectine et l'ostéopontine. Le contrôle de la différenciation terminale des cémentoblastes pourrait impliquer des molécules matricielles telles que la sialoprotéine ou/et l'ostéopontine, voire des protéines de l'émail sécrétées par la gaine de Hertwig avant son involution [7].

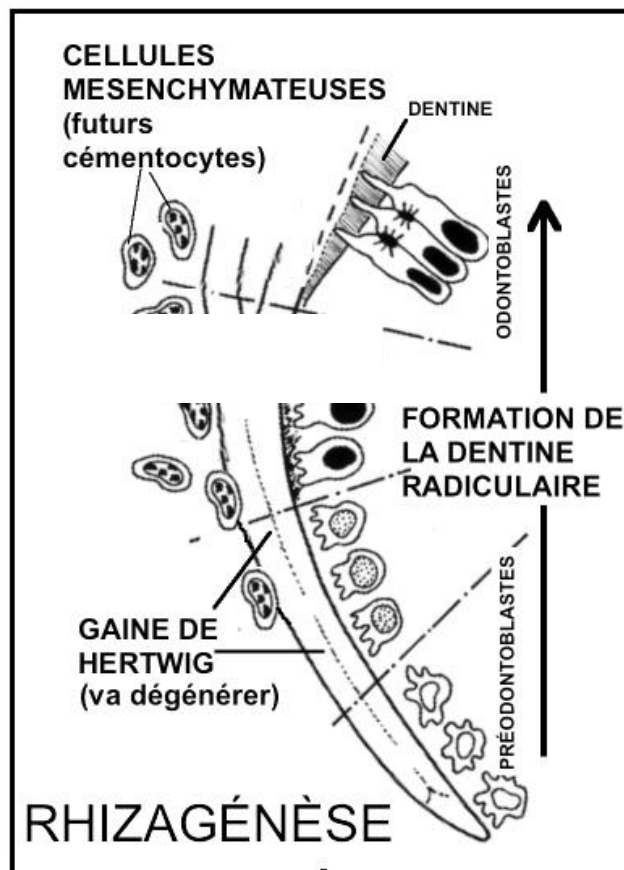


Figure 3 : La rhizagénèse [83].

1.2. Déterminisme du développement dentaire

Chez les mammifères, l'épithélium dentaire (organe de l'émail) provient de l'ectoderme oral. L'ectomésenchyme dentaire est à l'origine des odontoblastes, de la pulpe dentaire, du parodonte et des ostéoblastes de l'os alvéolaire. Il contient des cellules issues des cellules des crêtes neurales céphaliques. Cette origine a été démontrée chez de nombreux amphibiens, la souris et le rat [89].

1.2.1. «Patron» dentaire, théories clonales et des gradients

Les dents des mammifères forment des séries métamériques (incisives, canines, prémolaires-molaires), représentant une organisation segmentée. Les différences morphologiques entre les dents d'une série sont quantitatives et peuvent être analysées en terme de gradients de taille et de forme. Afin d'expliquer le patron dentaire (la distribution spatiale caractéristique des différentes dents), deux théories ont été proposées :

- la théorie des gradients [69]: dans un même ensemble, le développement de chaque dent (taille, forme), est fonction de sa position dans un champ de gradient de concentration de molécules de signalisation (BMP et FGF) selon l'axe antéro-postérieur de l'arc en formation. Cela contribuerait à la formation des incisives, canines, prémolaires et molaires. Le gradient de facteurs BMP concernerait la formation des dents antérieures (incisives), et le gradient FGF, les dents postérieures (Figure 4).

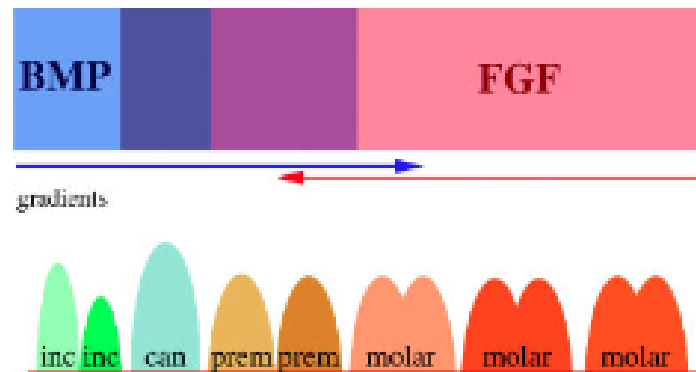


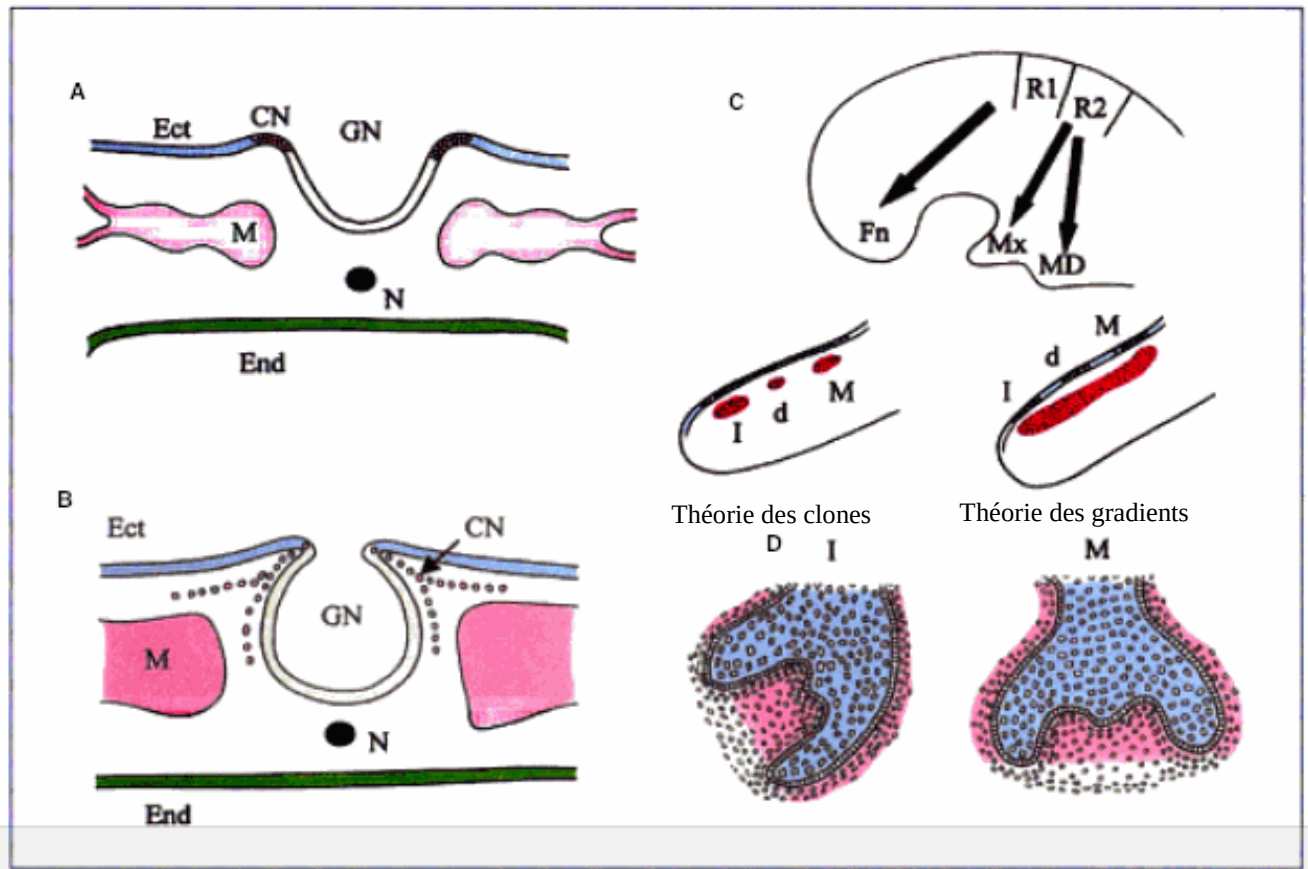
Figure 4 : Gradient de molécules signal en fonction de l'axe antéro-postérieur [69].

- la théorie clonale [85]: elle précise l'existence de trois clones cellulaires distincts responsables respectivement du développement des incisives, canines et des molaires. Chaque ébauche dentaire initiale serait donc fondamentalement différente, et sa morphogenèse serait contrôlée de manière autonome.

Les données expérimentales récentes soutiennent la théorie des gradients, mais démontrent, quoi qu'il en soit, que le développement dentaire est régulé de façon épigénétique par le biais d'interactions épithélio-ectomésenchymateuses qui sont réciproques et continues [69].

1.2.2. Crête neurale odontogène

Des travaux d'ablation et de transplantation de segments de crête neurale chez les amphibiens ont établi que cette dernière est à l'origine du mésenchyme dentaire et de ses dérivés [107]. Des analyses in vitro des potentiels de développement des cellules de la crête neurale cultivées en cultures clonales indiquent que la plupart des cellules de la crête neurale (avant leur migration) sont pluripotentes. Elles sont donc capables de donner naissance à des cellules de phénotypes différents [17].



et de l'ectoderme (Ect). M : mésoderme, N : corde, End : endoderme

B : les cellules de la CN migrent de leur emplacement d'origine et participent à construction des arcs branchiaux.

C : la CN odontogène provient pour sa plus grande partie de la région du rhombencéphale. Les rhombomères (R) sont des subdivisions temporaires du rhombencéphale, dont les cellules participent à la construction des arcs mandibulaire (MD) et maxillaire (Mx).

FN : processus frontonasal.

Les cellules neurales odontogènes, en interagissant avec l'épithélium oral constituent soit une population homogène (à droite) selon la théorie des gradients, soit plusieurs clones (à gauche), selon la théorie des clones, et seront à l'origine de l'incisive (I) ou des molaires (M). d : diastème.

D : quelle que soit la théorie, les interactions épithélio-ectomésenchymateuses seront responsables du développement incisif (I) ou molaire (M).

1.2.3. Ectoderme oral et initiation de l'odontogenèse

Des expériences menées par Lumsden et coll. [59, 60] consistant à réaliser des greffes intra oculaires de recombinaisons de crête neurale post-mésencéphalique avec de l'ectoderme mandibulaire de souris, ont permis d'observer le développement de dents «molariformes». Par contre, des recombinaisons entre crête neurale et ectoderme de patte ne permettaient pas le développement dentaire. Lumsden observe également que la crête neurale troncale recombinaisonnée avec de l'épithélium oral est susceptible de générer des dents. Il montre ainsi l'origine neurale du mésenchyme dentaire et démontre que l'interaction avec l'épithélium oral est essentielle [59, 60].

L'épithélium oral joue un rôle instructif permettant à l'ectomésenchyme d'exprimer ses potentialités dentaires [67]. Les mécanismes moléculaires de signalisation entre l'épithélium oral et le mésenchyme sous-jacent font l'objet de recherches actives et les données évoluent rapidement.

2. INTERACTIONS MOLECULAIRES ET DEVELOPPEMENT DENTAIRE

Les principaux mécanismes du développement dentaire comme la migration, l'adhésion, la différenciation et l'apoptose cellulaire, sont la conséquence d'événements moléculaires contrôlés par de nombreuses interactions entre gènes [62]. Comme on a pu le voir précédemment, l'épithélium est « l'instructeur » de l'odontogenèse par le biais d'un certain nombre de molécules « signal » contrôlant et régulant un certain nombre de gènes. En retour, le relais est pris par l'ectomésenchyme et cela progresse continuellement dans le cadre d'interactions séquentielles et réciproques entre l'épithélium et le conjonctif. Ainsi, si l'on veut recréer une dent ex nihilo, il est impératif de retrouver ce schéma embryologique, c'est à dire un processus relativement complexe d'interactions épithélio-mésenchymateuses. La biologie du développement tente de déterminer la nature de ces gènes ainsi que les mécanismes qui contrôlent leur expression séquentielle. Aussi, le développement des germes dentaires constitue un modèle intéressant permettant l'étude des mécanismes moléculaires impliqués dans l'initiation, la morphogenèse, la détermination, et la différenciation cellulaire [89]. Nous allons voir, à travers cette partie, les différents facteurs déterminant dans l'odontogenèse, et les différentes théories impliquées dans l'embryologie expérimentale (liste non exhaustive).

2.1. Facteurs déterminant le développement dentaire

2.1.1. Les homéogènes

Les homéogènes (appelés aussi gènes homéotiques) sont des gènes architectes qui définissent la localisation et précisent les caractéristiques de chaque organe [99]. Ils régissent la synthèse de facteurs de transcription qui régulent l'activité des gènes de structure. Ainsi, ils définissent le devenir des cellules dans les organes. La synthèse de facteurs de croissance est ainsi déterminée par les gènes homéotiques [53]. Ceux-ci ont pour rôle d'agir sur les cellules à des moments précis du développement. Ils peuvent également influencer sur la migration des lignées cellulaires. La classification des homéoprotéines est définie sur le degré d'homologie au sein de l'homéodomaine (région concernée de l'homéoprotéine ayant une haute affinité pour l'ADN).

Principales classes [99]:

- les gènes HOX : ils sont responsables de la mise en place des différents segments du corps : le tronc, les membres supérieurs et inférieurs. Ils ne sont pas exprimés au niveau de la tête.
- les gènes divergents ou PARAHOX : exprimés par les cellules des crêtes neurales au niveau de la tête, ils sont le support de l'organisation de la partie céphalique.

Nous allons détailler les principaux homéogènes impliqués dans le développement dentaire en partie 2.2.

2.1.2. Les facteurs de croissance

Les facteurs de croissance représentent une classe importante de molécules de signalisation qui a été conservée au cours de l'évolution. Ils jouent un rôle dans les interactions de proximité cellulaire [10]. Les facteurs de croissance interviennent dans la division, la migration, et la différenciation cellulaire. De ce fait, ils sont considérés comme des agents multifonctionnels. Chaque facteur est désigné soit, en fonction de son activité biologique, soit selon le site de son isolation. L'activité biologique des facteurs de croissance est tributaire du type de cellule et de son stade de différenciation. Ils présentent deux modes d'action différents : autocrine et paracrine [10]. Cela leur permet ainsi d'avoir soit une action directe sur les cellules qui les synthétisent (autocrine), soit sur les cellules environnantes (paracrine). Leur impact au niveau du développement dentaire sera traité en partie 2.3.

2.1.3. La matrice extracellulaire et la lame basale

Les protéines de la matrice extracellulaire interviennent dans la migration, l'adhésion cellulaire, division cellulaire[112]. Elles agissent sur les cellules par liaison à des récepteurs membranaires spécifiques, parmi lesquels les intégrines semblent jouer un rôle important. Les protéines matricielles sont capables de s'unir afin de former une matrice extracellulaire spécifique, la membrane basale d'interposition. Il s'agit d'un complexe supramoléculaire dynamique et asymétrique. L'organisation des divers composants de la lame basale paraît indispensable à la différenciation terminale de certains types cellulaires, tels que les améloblastes et les odontoblastes. Elle est généralement constituée : de laminine [130], nidogène, collagène de type IV, et d'héparane-sulfate protéoglycane.

2.2. Les principaux facteurs de transcription du développement dentaire

2.2.1. Gènes Msx

Chez les mammifères, la famille des gènes Msx (pour Muscle Segment Homeobox) comporte trois membres : Msx-1, Msx-2, et Msx-3. Msx-1 et Msx-2 s'expriment dans le premier arc branchial et dans les germes dentaires, et ont un rôle dans l'histomorphogenèse dentaire et la cytodifférenciation [89]. Msx-3 ne s'exprime pas dans les structures bucco-faciales. Des expériences ont pu montrer que Msx-1 et Msx-2 jouent un rôle dans la médiation de la signalisation épithélio-mésenchymateuse aux stades précoces du développement dentaire [13]. Par exemple une mutation ponctuelle dans l'homéoboîte du gène Msx-1 sera responsable d'une agénésie bilatérale sélective des deuxième prémolaires et troisième molaires, signifiant que Msx-1 est bien impliqué dans le patron de la dentition [117].

2.2.2. Gènes Dlx

Dans la famille des gènes à homéoboîte Dlx (pour Distal-Less Homeobox), on dénombre six membres : Dlx-1 à -6 [117]. Dlx-1 et -2 s'expriment à la fois dans les arcs maxillaire et mandibulaires [21]. Chez la souris, l'inactivation simultanée des gènes Dlx-1 et -2 a pour conséquence une agénésie sélective des molaires supérieures ; les autres dents se développant normalement [114]. Cependant, l'inactivation d'un seul des deux gènes ne perturbe pas le développement dentaire [28]. Dlx-1 et -2 ont donc une fonction redondante. Les gènes Dlx-3 -5 et -6 ne s'expriment que dans l'arc mandibulaire, mais leurs rôles n'ont pas encore été clairement élucidés.

2.2.3. Gènes Pitx

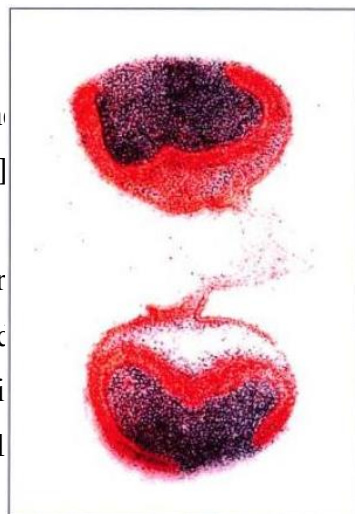
La famille des gènes à homéoboîte Pitx (pour Pituitary Homeobox) compte trois membres : Pitx-1 à -3. Les gènes Pitx-1 et -2 jouent un rôle important dans la régionalisation et la formation du premier arc branchial [54, 117]. Pitx-2 serait requis pour la spécification de l'épithélium odontogène et la morphogenèse dentaire (Figure 6) [1]. Pitx-1 est nécessaire au développement correct de la mandibule. En effet, l'inactivation du gène Pitx-1 est à l'origine d'une micrognathie chez les souris mutantes [54]. Pitx-3 n'a pas de rôle dans le développement dentaire.

Figure 6 : Expression des gènes Pitx-2 et Barx-1 par coloration (stade de la cloche de la molaire)
[1].

Barx-1 (en violet) marque la papille dentaire. Pitx-2 (en rouge) marque l'organe de l'émail.

2.2.4. Gènes Pax

La famille Pax (pour Paired Hom du développement dentaire [117] stades de l'odontogenèse. Une conséquence une agénésie dentaire germes dentaires s'arrête au stade sévères d'oligodonties entre plusieurs recherches sont en cours sur le rôle



3 : Pax-1 à -9. Pax-9 est un régulateur mésenchyme dentaire dès les premiers stades d'abord chez la souris a pour est initiée, mais le développement des forme, on peut retrouver des formes de famille [88]. A l'heure actuelle des développement dentaire.

2.2.5. Gènes Barx

La famille Barx (pour BarH-like Homeobox) comporte deux gènes : Barx-1 et -2 [117]. Les gènes Barx-1 et -2 s'expriment dans les processus maxillaire et mandibulaire. Barx-1 ne s'exprime jamais dans les germes incisifs mais seulement dans la partie postérieure du premier arc branchial (ectomésenchyme des molaires) (Figure 6). [115].

2.2.6. Gène Lef-1

Lef-1 est un gène codant pour une protéine de régulation (Lymphoid enhancer-binding factor-1) appartenant à la famille des protéines HMG (High Mobility Group) [117]. Lef-1 s'exprime au niveau des germes dentaires et des follicules pileux [117]. Des expériences chez des souris déficientes en Lef-1 montrent que ce gène est impliqué dans la morphogenèse dentaire. En effet, chez les souris, l'odontogenèse est initiée, mais le développement dentaire s'arrête au stade du bourgeon. De plus, son expression dans l'épithélium odontogène fournit un signal indispensable à la formation de la papille dentaire [117].

2.3. Les principaux facteurs de croissance du développement dentaire

2.3.1. Super-famille des TGFβ

❖ TGFβ :

Il existe trois TGFβ (Transforming Growth Factor-beta ou facteur de croissance transformant-bêta) : TGFβ-1, -2 et -3. Chacun d'entre eux a une activité biologique différente et complémentaire au cours de la morphogenèse dentaire [44]:

- TGFβ-1 joue un rôle important dans les processus mis en jeu au cours du développement. En effet, il peut à la fois stimuler et inhiber la prolifération et/ou la différenciation des différentes lignées cellulaires, épithéliales et mésenchymateuses. Il pourrait également servir de médiateur dans les interactions épithélio-mésenchymateuses au début de la morphogenèse dentaire (selon un mode paracrine).

- TGFβ-2 influe sur la taille et la morphologie des incisives et des molaires. Il empêche les proliférations cellulaires et la différenciation de l'organe de l'émail, ainsi que celle de la papille dentaire.
- TGFβ-3 n'a pas encore été décrit à ce jour.

❖ BMP :

Il existe huit BMP (Bone Morphogenetic Proteins ou protéines de la morphogenèse osseuse) différentes et toutes (sauf la BMP-1) appartiennent à la super-famille des TGFβ. Les BMP déterminent l'organogenèse et régulent le développement osseux et cartilagineux [122]. Elles participent aussi aux interactions inductrices entre l'épithélium et l'ectomésenchyme dentaire. Les BMP-2 et -4 sont impliquées dans le patron de la dentition, l'initiation du développement dentaire, l'histomorphogenèse dentaire, et la différenciation odontoblastique. Les BMP-2, -4 et -7 ont une action coordonnée pendant la morphogenèse dentaire. La BMP-4 semble être un signal inducteur et morphogénétique important pour acheminer l'information tissulaire (épithélium et mésenchyme) différents stades de l'odontogenèse. La BMP-5 intervient au moment de la différenciation des améloblastes. Les BMP présentent aussi un potentiel thérapeutique dans la réparation des tissus dentaires [122]. Aussi, leur utilisation comme stimulateurs de la formation de dentine pourrait offrir de nouvelles possibilités thérapeutiques en clinique, comme nous allons le voir par la suite.

2.3.2. Famille FGF

Actuellement, on dénombre 24 membres appartenant à la famille FGF (Fibroblast Growth Factor ou facteur de croissance fibroblastique). Les FGF stimulent les proliférations cellulaires dans plusieurs tissus en voie de développement. Plusieurs FGF sont associés à la morphogenèse dentaire et stimulent la division des cellules épithéliales et mésenchymateuses à différents stades de l'odontogenèse. On peut notamment citer le FGF-4 qui est un médiateur des effets organisateurs du noeud de l'émail [91].

PARTIE 2 :

LES CELLULES SOUCHES EN ODONTOLOGIE

L'histoire des cellules souches embryonnaires commence dans les années 1950, avec l'étude des tumeurs particulières du testicule (les tératocarcinomes) par différents chercheurs, dont Martin Evans, Gail Martin, Leroy Stevens... [56]. Ces expériences ont permis la découverte de cellules souches existantes dans la moelle osseuse et qui assurent le renouvellement des cellules sanguines. Ces cellules ont une durée de vie courte et doivent donc être remplacées pendant toute la durée de la vie. Les cellules souches de moelle osseuse sont capables de s'autorenouveler tout en produisant par division asymétrique, des cohortes de cellules à prolifération rapide qui s'engagent dans les voies de différenciation les conduisant à produire toutes les cellules du sang circulant [56].

De nombreux organes contiennent, à côté de cellules différenciées et fonctionnelles, un pool de cellules indifférenciées capables de remplacer les cellules mortes et de garantir ainsi une homéostasie cellulaire. Ces cellules indifférenciées appelées souches apparaissent au cours du développement embryonnaire où leur sont assignées une place déterminée dans l'organisme (une «niche»), et une fonction, celle de renouveler le tissu auquel elles appartiennent. Les cellules souches adultes restent ainsi essentielles pour le renouvellement, la régénération, et la cicatrisation tissulaire. Leur isolation et leur culture in vitro permettent de nouvelles possibilités de développement de thérapies cellulaires (voir 3^{ème} partie) [56].

1. GENERALITES SUR LES CELLULES SOUCHES

On appelle «cellule souche» une cellule indifférenciée, qui, lorsqu'elle est placée dans un environnement tissulaire adapté, est capable de se multiplier, et de générer des cellules spécialisées, qui vont acquérir une forme et une fonction spécifiques d'un tissu [102].

Les cellules souches se distinguent donc selon leur potentiel de différenciation, c'est-à-dire selon les types de cellules qu'elles peuvent produire [93] :

- Les cellules souches totipotentes peuvent produire un organisme complet. Elles ne sont présentes qu'au début de l'embryogenèse. Elles sont appelées ES, pour Embryonic Stem Cells.
- Les cellules souches pluripotentes peuvent produire pratiquement tous les types de cellules d'un organisme, hormis l'organisme lui-même. On les trouve au stade blastocyste , après le 5ème jour.
- Les cellules souches multipotentes peuvent produire plusieurs types cellulaires. Elles sont engagées dans un programme tissulaire spécialisée. En exemple, nous pouvons citer les cellules souches hématopoïétiques de la moelle osseuse qui vont être à l'origine de toutes les cellules sanguines.
- Les cellules unipotentes ne sont capables de produire qu'un seul type cellulaire différencié. Elles sont également appelées cellules précurseurs.

Il existe plusieurs contingents de cellules souches répartis dans le corps humain :

- La peau : Organe important par son étendue et son volume (16% du poids du corps), l'épiderme est le site d'un renouvellement permanent à partir d'une couche basale dite génératrice, constituée essentiellement de cellules souches pluripotentes. Les cellules souches cutanées sont aussi à l'origine des phanères et de glandes cutanées telles que les glandes sébacées. Des travaux sur les cellules souches de la peau mettant en évidence la dynamique du renouvellement des différents types cellulaires de la peau ont permis d'élaborer des techniques de culture et de transplantation de kératinocytes autologues, et ainsi de sauver des patients atteints de brûlures au 3^{ème} degré, ou bien de permettre à des patients atteints d'opacité de la cornée de retrouver la vue [3].

- Le coeur : L'idée d'une régénération cardiaque n'est pas récente, mais débattue depuis une quinzaine d'année. Dans la nature, certains animaux comme le poisson-zèbre sont capables de régénérer totalement leur myocarde. Des études ont récemment obtenu des résultats encourageants sur des moutons, en réussissant à former des cardiomyocytes à partir de cellules souches embryonnaires [5]. Cependant, toutes les cellules souches ne se sont pas spécialisées et ont continué à s'autorenouveler, formant des micro-kératomes.

- La moëlle osseuse : Les cellules de la moëlle osseuse (Bone Marrow Stem Cells) sont capables de se différencier en de nombreux types cellulaires [37]. Ces cellules présentent un grand intérêt car certains auteurs, en particulier l'équipe d'Hervé Lesot à Strasbourg, ont pensé que l'on pouvait, à partir de ces dernières, obtenir des cellules dentaires. Il a été constaté qu'un certain nombre de marqueurs de surface sont identiques à ceux des cellules souches dentaires [98]. Aussi, dans certaines conditions de culture, ces cellules sont capables d'afficher des marqueurs améloblastiques et odontoblastiques, et peuvent se différencier en améloblastes et odontoblastes [64].

- Le tissu adipeux : Il est localisé dans les couches sous-cutanées et dans les couches plus profondes. Il est particulièrement abondant, et facilement prélevable. Il est acquis depuis peu qu'il existe un autorenouvellement des adipocytes chez l'homme de l'ordre de 10% chaque année, laissant supposer la présence de cellules souches [19]. De plus, certaines pathologies engendrent une ossification du tissu adipeux sous-cutané, appuyant l'hypothèse de la présence de cellules souches multipotentes [19].

- La dent : Comme nous le verrons plus loin, la dent est un véritable réservoir de cellules souches, épithéliales et mésenchymateuses [93]. Ces cellules souches adultes présentent une grande plasticité

cellulaire [22], et sont capables de changer de direction de différenciation en fonction des signaux environnementaux.

2. LES CELLULES SOUCHES DENTAIRES

Comme nous l'avons vu précédemment, l'organogenèse de la dent résulte des interactions séquentielles et réciproques entre l'épithélium buccal et le mésenchyme sous-jacent, dérivé de la crête neurale [24, 68].

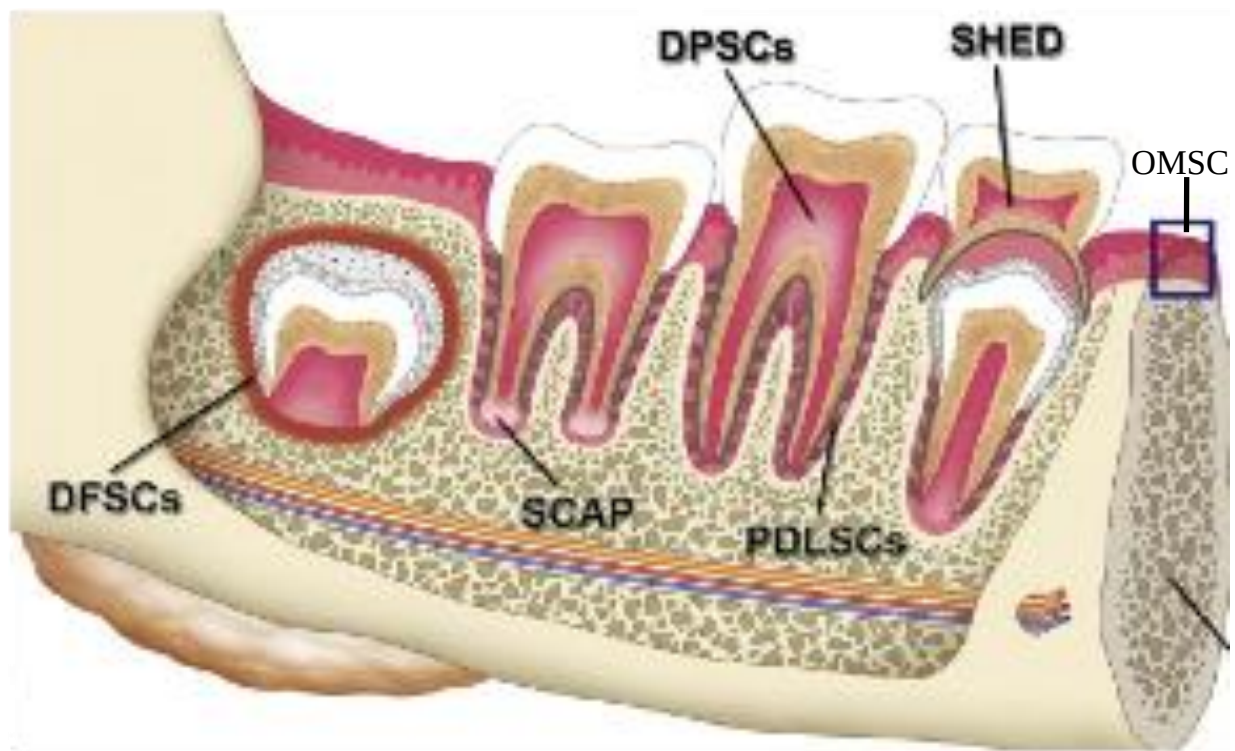
1.2.1. Les cellules souches épithéliales

Les cellules souches épithéliales apparaissent aux tous premiers stades de l'embryogenèse. Elles proviennent de l'épithélium de la bouche primitive, et vont se différencier par la suite, grâce aux interactions épithélio-mésenchymateuses, pour former les différents constituants de l'émail.

L'incisive de rongeur intéresse les chercheurs car elle présente une croissance continue, dans laquelle de l'émail se forme en permanence. Ainsi, des chercheurs ont montré que la niche de ces cellules souches épithéliales se situe dans la zone de réflexion. Récemment, une structure spécialisée située au niveau de la région apicale de la racine de l'incisive de la souris fut l'objet d'étude et a été ainsi dénommée : «la papille apicale» [84]. La papille apicale contiendrait des niches de cellules souches qui pourraient se différencier en améloblastes par interaction avec les cellules mésenchymateuses adjacentes.

2.2. Les cellules souches ectomésenchymateuses

Il existe plusieurs contingents de cellules souches dans l'organe dentaire. Il s'agit notamment des cellules de la pulpe dentaire (DPSC et SHED), des cellules du ligament parodontal (PDLSC), des cellules impliquées dans le développement radiculaire (SCAP), et des cellules du follicule dentaire (DFSC)(Figure 7). Toutes ces cellules partagent probablement une lignée commune, dérivée de cellules de la crête neurale [82]. Ces cellules possèdent des propriétés de cellules souches



mésenchymateuses, telles que l'expression de gènes marqueurs et un potentiel de différenciation en lignées des cellules mésenchymateuses (ostéoblastes, odontoblastes, cémentoblastes chondrocytes, adipocytes) in vitro et, dans une certaine mesure, in vivo (mélanocytes, cellules neurales...) [121].

Figure 7 : Les différentes sources de cellules souches dentaires mésenchymateuses, modifié d'après Egusa H. [27].

2.2.1. Les cellules souches de la pulpe dentaire des dents définitives (DPSC)

La capacité des dents humaines à former de la dentine réparatrice, en réponse à une carie ou à de légers traumatismes, suggère que des cellules présentes dans la pulpe dentaire ont conservé la capacité à former des odontoblastes fonctionnels, qui peuvent produire de la dentine [104, 105, 108].

Ces observations ont permis d'émettre la théorie que des cellules progénitrices mésenchymateuses indifférenciées ou cellules souches existent dans la pulpe dentaire, car elles ont la capacité de se différencier et de former une nouvelle dentine afin de réparer la lésion. C'est ainsi que des cellules souches adultes ont été isolées à partir de la pulpe dentaire de l'homme. Elles sont appelées cellules

souches de la pulpe dentaire (dental pulp stem cells, DPSC), et sont situées dans une niche périvasculaire de la pulpe dentaire [37].

In vitro, les DPSC sont capables de former des colonies en culture [128], et possèdent des propriétés de cellules pluripotentes, capables de se différencier en d'autres dérivés de cellules mésenchymateuses comme des odontoblastes, des adipocytes, des chondrocytes, et des ostéoblastes [51]. Gronthos [36], démontre que les DPSC, isolées à partir des troisièmes molaires, présentent un fort potentiel de prolifération, des capacités d'autorenouvellement et de différenciation multi-lignées. La transplantation des DPSC in vivo chez des souris immunodéprimées en sous-cutané génère des tissus dentaires sous la forme de complexes dentino-pulpaire (Figure 8).

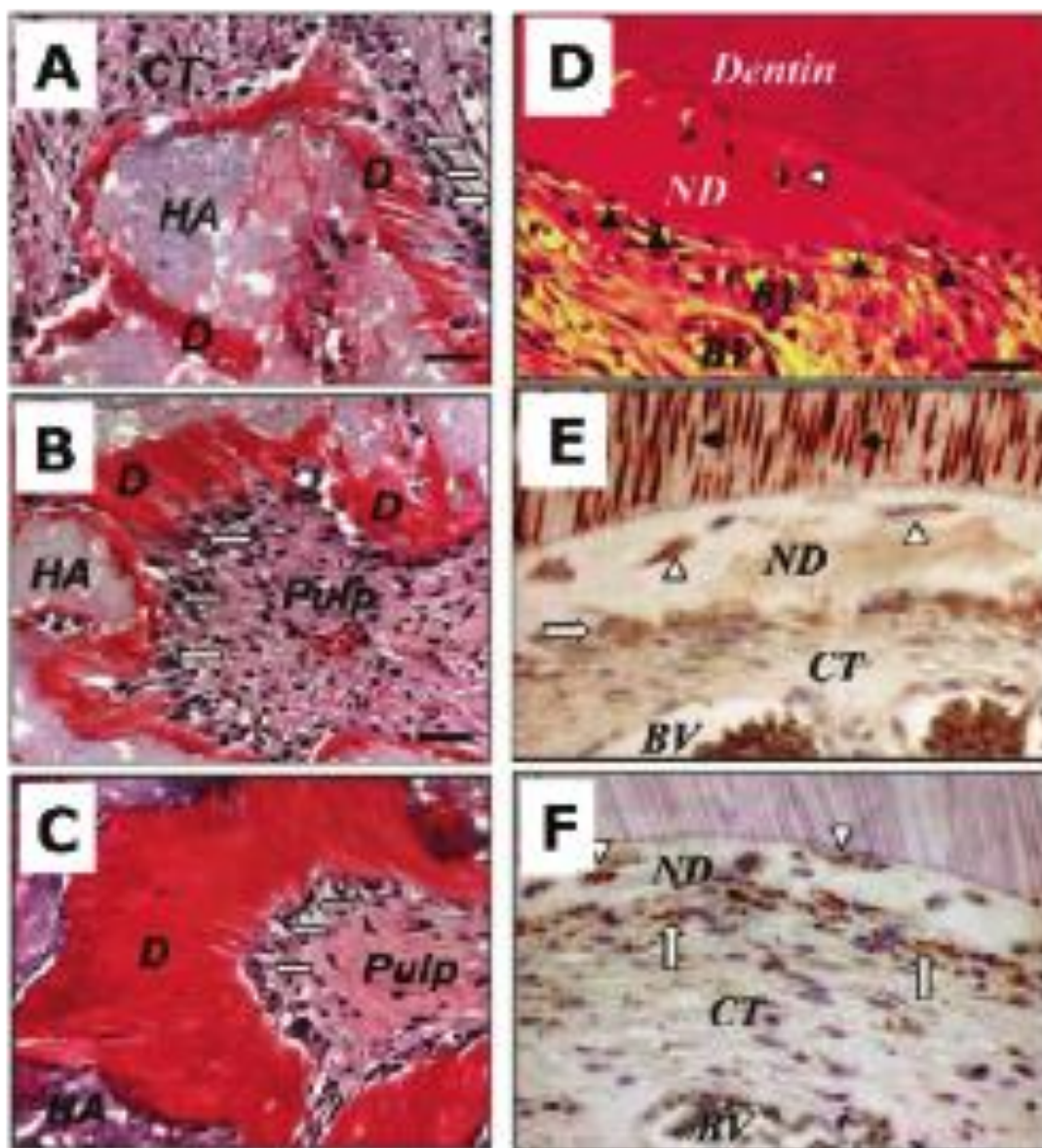


Figure 8 : Formation du complexe pulpo-dentinaire par les DPSCs transplantées chez la souris [4].

(HA) : Hydroxyapatite/phosphate tricalcique qui sert de support de croissance cellulaire.

(CT) : Tissu conjonctif

(D) : Dentine

(ND) : Nouvelle dentine formée

(BV) : Vaisseaux sanguins

(A) A J+4 semaines : différenciation des DPSCs en odontoblastes (flèches blanches) qui produisent de la dentine. (B) J+8 semaines. (C) J+16 semaines.

(D) Les DPSC forment une nouvelle dentine réparatrice.

(E,F) Expression de DSPP, grâce à la technique d'immuno-histochimie (points rouges).

2.2.2. Les cellules

souches issues de la pulpe des dents temporaires exfoliées (SHED)

Les cellules souches isolées à partir de pulpe des dents lactéales (Stem Cells Human Exfoliated Deciduous) sont capables d'induire la formation osseuse, de générer de la dentine, et de se différencier en une variété de type cellulaire, telle que les cellules nerveuses, des adipocytes, et des odontoblastes [70]. Cordeiro et al. [15] ont montré que des SHED, ensemencées dans des dents humaines préparées servant de matrices biodégradables, puis implantées en sous-cutanées chez des souris immunodéficientes, se sont différenciées en odontoblastes fonctionnels capables de générer de la dentine tubulaire et des cellules endothéliales angiogéniques .

Les DPSC et SHED ont pour même origine les cellules ectomésenchymateuses de la crête neurale, ainsi leur développement et leur fonctionnement semblent identiques [75]. Cependant, des études ont montré que leurs profils d'expression génique diffèrent. Comparativement aux DPSC, les SHED affichent des taux plus élevés de prolifération, une expression plus élevée des gènes qui participent à la formation de la matrice extracellulaire, et plusieurs facteurs de croissance tels que le facteur de croissance des fibroblastes (FGF) et le TGF- β [75]. Le TGF- β est important, car il est libéré après des lésions dentinaires, et pourrait agir pour mobiliser les cellules souches pulpaire à se différencier en odontoblastes [101, 104]. Ainsi, la découverte de cellules souches de dents temporaires offre une possibilité intéressante de les utiliser pour le génie tissulaire [72, 102].

Les avantages des SHED sont évidents : un rendement important, une grande plasticité, et un accès aisé puisque les enfants perdent naturellement 20 dents de lait. Des banques commerciales de ces cellules se sont répandues, avec l'objectif d'utiliser ces cellules lorsque l'enfant devient adulte. Cependant, quelques études montrent que les SHED ne gardent pas leurs propriétés au-delà de deux ans de cryoconservation [87]. Les stockages à long terme (> 10 ans) n'ont pas été encore évalués. En comparaison, les DPSC, conservent leurs caractéristiques de cellules souches après une culture prolongée [35], laissant possible leur utilisation comme source générique allogénique de cellules souches mésenchymateuses.

2.2.3. Les cellules souches issues du ligament alvéolo-dentaire (PDLSC)

Le ligament alvéolo-dentaire (LAD) est un tissu conjonctif fibreux qui contient des cellules spécialisées situées entre le ciment, et la paroi interne de l'os alvéolaire. Il est depuis longtemps reconnu pour contenir une population de cellules progénitrices [66]. Plus récemment, des études similaires à celles utilisées pour caractériser les DPSC et les SHED ont permis d'identifier une population de cellules souches provenant du LAD (appelées Periodontal Ligament Stem Cells)[98]. Dans des conditions de culture bien définies, les PDLSC sont capables de se différencier, in vivo et in vitro, comme des lignées de cellules mésenchymateuses, en cémentoblastes, en adipocytes, en ostéoblastes [116] et en fibroblastes [31]. Transplantées dans des souris immunodéprimées, les PDLSC peuvent former des structures de type cémentaire et ligamentaire. Trubiani , montre que les PDLSC peuvent coloniser, proliférer, et générer de l'os après une culture in vitro, dans un milieu approprié [116]. Ces cellules conservent leur capacité de régénération tissulaire après cryoconservation [100]. Les PDLSC sont susceptibles de jouer un rôle dans le maintien endogène du nombre de cellules du LAD. Ainsi, les PDLSC ont un potentiel fort intéressant pour de futures applications thérapeutiques [16].

2.2.4. Les cellules souches issues de la papille apicale dentaire (SCAP)

Une population unique de cellules souches isolée à partir de dents humaines se trouve à l'apex de la racine en cours de formation. Ces cellules souches issues de la papille apicale dentaire (appelées Stem Cell from the root of Apical Papilla), sont capables de se différencier en odontoblastes, adipocytes, ostéoblastes et chondrocytes...[27]. Les SCAP présentent des taux plus élevés de prolifération in vitro que les DPSC [106]. Cette population de cellules semble plus appropriée pour la régénération des cellules des racines dentaires. La papille apicale constitue un tissu fixé de façon lâche à l'apex de la racine en développement qui peut-être facilement enlevé. Elle n'est présente que pendant le développement de la racine, avant l'éruption de la dent. De ce fait, les dents de sagesse constituent une source cliniquement et facilement exploitable pour recueillir les SCAP.

2.2.5. Les cellules souches issues du follicule dentaire (DFPC)

Le follicule dentaire est un tissu ectomesenchymateux qui entoure l'organe de l'émail et la papille dentaire du germe dentaire en développement. Ce tissu contient des précurseurs cellulaires qui vont former le parodonte, c'est à dire le cément, le ligament parodontal et l'os alvéolaire. Des précurseurs ont été isolés de follicules dentaires issus de germe de troisième molaire. Ces cellules souches sont appelées Dental Follicle Precursor Cells. Par analogie aux autres cellules souches dentaires, ces cellules forment un petit nombre de colonies de clones adhérents suite à leur extraction par digestion enzymatique [71, 126].

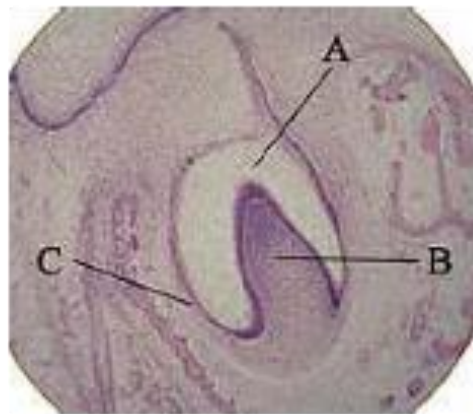


Figure 9 : Coupe histologique du follicule dentaire [11].

A : organe de l'émail, B : papille dentaire, C : follicule dentaire

Les DFPC sont capables de se différencier en ostéoblastes, cémentoblastes, chondrocytes et adipocytes selon le milieu de culture utilisé (adipogénique, ostéogénique..)[126].

Les résultats de recherches in vitro semblent montrer que les DPSC ont un meilleur potentiel de formation des tissus durs que les DFPC. Ceci pourrait être expliqué par les étapes de développement du germe dentaire : les DPSC isolées de la pulpe dentaire, au stade de la formation de la couronne, présentent une accumulation de calcium plus importante que les DFPC extraites du follicule dentaire. Les DPSC expriment des marqueurs odontoblastiques alors que les DFPC expriment des marqueurs cémentoblastiques [125].

Les DFPC, dont la capacité de division est "infinie", c'est à dire qu'elles ne vieillissent pas au fur et à mesure qu'elles se divisent, sont capables, chez la souris, de recréer un nouveau ligament

parodontal après une transplantation in vivo [129]. Cependant, les tissus durs comme la dentine, le cément ou l'os alvéolaire n'ont pas été identifiés après transplantation de ces cellules chez des souris immunodéficiences [125].

2.2.6. Les cellules souches d'origine gingivale (OMSC)

Une population de cellules souches mésenchymateuses a été identifiée au niveau de la lamina propria de la gencive attachée [132]. Ces cellules sont appelées OMSC : « oral mucosa-derived stem cells ».

Ces cellules prolifèrent plus rapidement que les progéniteurs de la moelle osseuse tout en possédant des capacités de différenciation similaires [132].

Marynka-Kalmani et coll. [65] ont démontré le potentiel de différenciation très ubiquitaire des cellules progénitrices gingivales humaines. Elles possèdent des propriétés anti-inflammatoires puissantes. Leur injection systémique chez des souris atteinte de colites est suivie d'une migration de ces cellules vers la lésion (le « homing ») où elles contribuent à sa réparation. La multipotence, la facilité d'isolation, l'expansion rapide, ainsi que l'abondance constituent un grand avantage des OMSC gingivales par rapport aux autres sources de cellules souches orales, mais néanmoins les études actuellement disponibles n'ont pas fait état de leur utilisation en thérapie cellulaire [132].

3. CELLULES SOUCHES ET REPARATION DENTAIRE

3.1. Au niveau pulpo-dentinaire : exemple de la pulpopathie

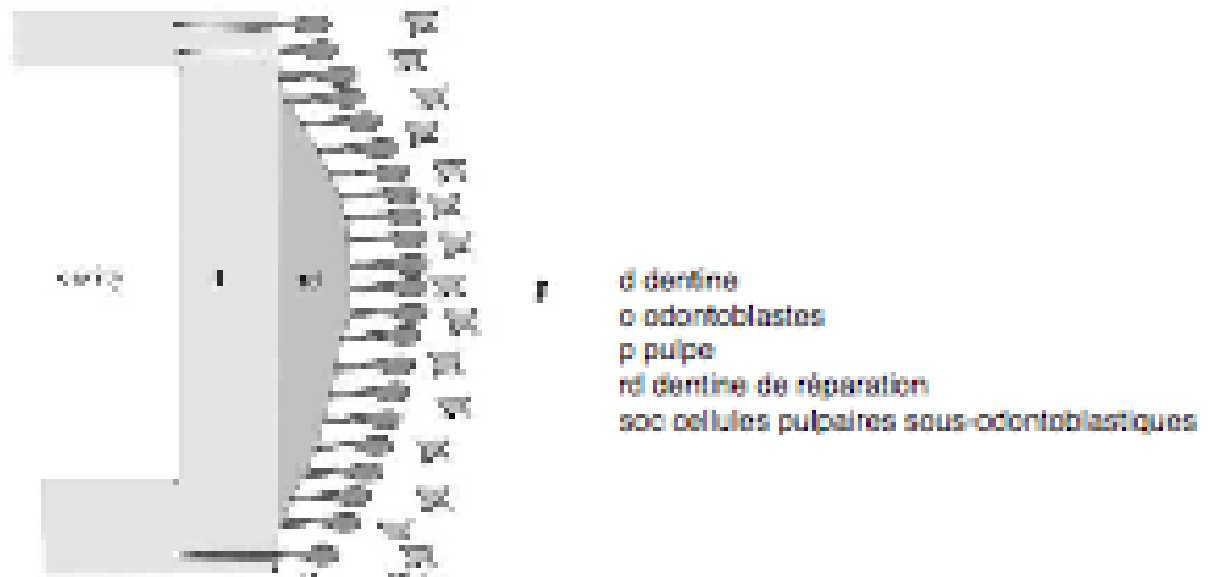
Il y a une activité dentinaire qui est physiologique [93]: les odontoblastes (post- mitotiques), localisés à la périphérie de la pulpe mature peuvent être réactivés pour produire de la dentine réactionnelle en réponse à des stimulations mécaniques ou chimiques (caries lente...).

La dentine réparatrice (Figure 10) est sécrétée par des odontoblastes secondaires différenciés depuis des cellulaires souches pulpaire, en réponse à des stimuli plus intenses (caries rapide)[105]. Il y a deux hypothèses sur l'origine de ces odontoblastes [81]:

- les odontoblastes de remplacement proviennent des cellules filles issues de la dernière division des pré-odontoblastes. Ces cellules, présentent dans la couche sous-odontoblastique de Höhl, seraient prédéterminées. Lors d'expositions à des influences inductrices, elles pourraient subir une différenciation odontoblastique après migration en direction de la dentine,
- les odontoblastes de remplacement proviennent des fibroblastes pulpaire, de cellules mésenchymateuses indifférenciées, ou encore de péricytes qui entourent les vaisseaux périphériques pulpaire. Ainsi, ces cellules migreraient en direction de la dentine atteinte avant de se différencier en odontoblastes.

Figure 10 : Dentinogenèse réparatrice [93].

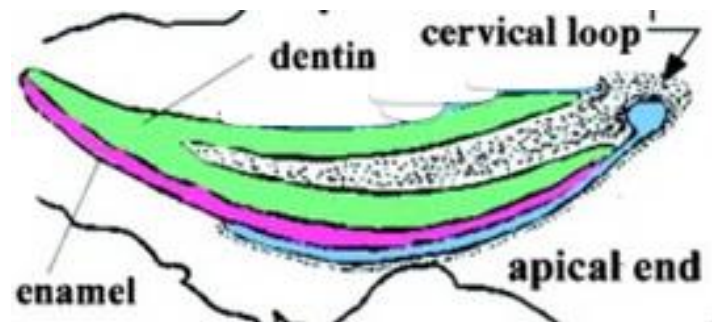
3.2. Au niveau amélaire : cas des rongeurs



L'incisive de la souris est connue depuis longtemps pour avoir des caractéristiques particulières. En effet, la croissance des incisives est continue, et son émail est déposé de façon asymétrique. Seule la face vestibulaire est recouverte d'émail, et la face linguale est recouverte de dentine et de ciment. Selon Harada H et coll., les cellules souches épithéliales seraient situées dans la «boucle apicale vestibulaire» («cervical loop»)(Figure 11) [39], et prêtes à se différencier en fonction de l'environnement de la dent. Cette boucle serait de taille plus importante par rapport à la boucle apicale linguale, en raison d'exigences fonctionnelles différentes.

Figure 11 : Coupe sagittale de l'incisive de souris [39].

En vert: la dentine. En violet : l'émail. En bleu : la boucle apicale vestibulaire (cervicale loop) contient les cellules souches épithéliales qui vont synthétiser de l'émail (bandelette bleue sur l'émail)



Des découvertes récentes [34] sur l'amélogénèse ont permis d'identifier le gène qui contrôle la production finale de l'émail dentaire. Il s'agit du facteur de transcription Ctip2, déjà connu pour avoir plusieurs fonctions dans la réponse immunitaire, le développement de la peau et du système nerveux. Mais c'est également et surtout le premier facteur de transcription qui contrôle la formation et la maturation des améloblastes. En effet, il est fortement exprimé dans les composants ectodermiques de la dent en développement, y compris l'épithélium de l'émail interne et externe, le réticulum étoilé, le stratum intermedium, et la lignée cellulaire des adamantoblastes.

En conclusion, Ctip2 apparaît comme un régulateur du sort des cellules épithéliales et de la différenciation au cours de la morphogenèse des dents. Cela représente une avancée significative ouvrant la porte à de nouvelles perspectives thérapeutiques dans les années futures: réparation de l'émail abîmé, concepts de prévention de la carie, restauration, ou encore dans la production de dent de remplacement.

PARTIE 3 :

RECONSTRUIRE UN ORGANE

DENTAIRE PAR INGENIERIE

TISSULAIRE

1. L'INGENIERIE TISSULAIRE

Pour substituer, maintenir, ou améliorer la fonction d'un tissu ou d'un organe déficient, l'ingénierie tissulaire fait partie des domaines les plus prometteurs de la médecine régénérative. L'objectif est de mettre au point de nouvelles approches utilisant des cellules vivantes et/ou des biomatériaux (naturels ou synthétiques) afin de reconstruire ou réparer un tissu ou un organe qui sera par la suite implanté et fonctionnel in vivo. Aussi, de nouvelles stratégies thérapeutiques sont actuellement

proposées et expérimentées dans le but de régénérer le muscle, le cartilage, la peau, l'os... et très récemment la dent.

Reconstruire complètement une dent est un véritable challenge de la médecine régénérative [103]. Pour cela, plusieurs approches ont été développées dans des laboratoires du monde entier. Certains laboratoires utilisent des matrices en trois dimensions préformées («scaffolds») pour guider la croissance et la morphogenèse du futur organe dentaire [131], tandis que d'autres laboratoires utilisent des techniques biomimétiques afin de pouvoir reproduire les étapes de la croissance de l'organe dentaire [45].

1.1. Définitions

L'ingénierie tissulaire est un des domaines de la biotechnologie comprenant l'ensemble des méthodes et techniques s'inspirant de l'ingénierie et des sciences de la vie, dont l'objectif est de reconstruire, régénérer un nouveau tissu ou organe, destiné à remplacer, maintenir ou améliorer la fonction de tissus ou d'organes déficients [2, 78]. C'est en 1993 que Langer R. et Vacanti J.P. ont introduit le terme d'ingénierie tissulaire pour la première fois [55]. Actuellement, ce concept fait partie intégrante de l'arsenal thérapeutique au sein de la médecine régénérative.

L'ingénierie tissulaire peut être schématisée comme une combinaison de trois facteurs : des cellules, des biomatériaux et des facteurs biologiques (Figure 12). L'idée principale est d'utiliser les biotechnologies afin de régénérer un organe ou tissu tout en se rapprochant le plus possible des mécanismes de développement physiologiques [33].

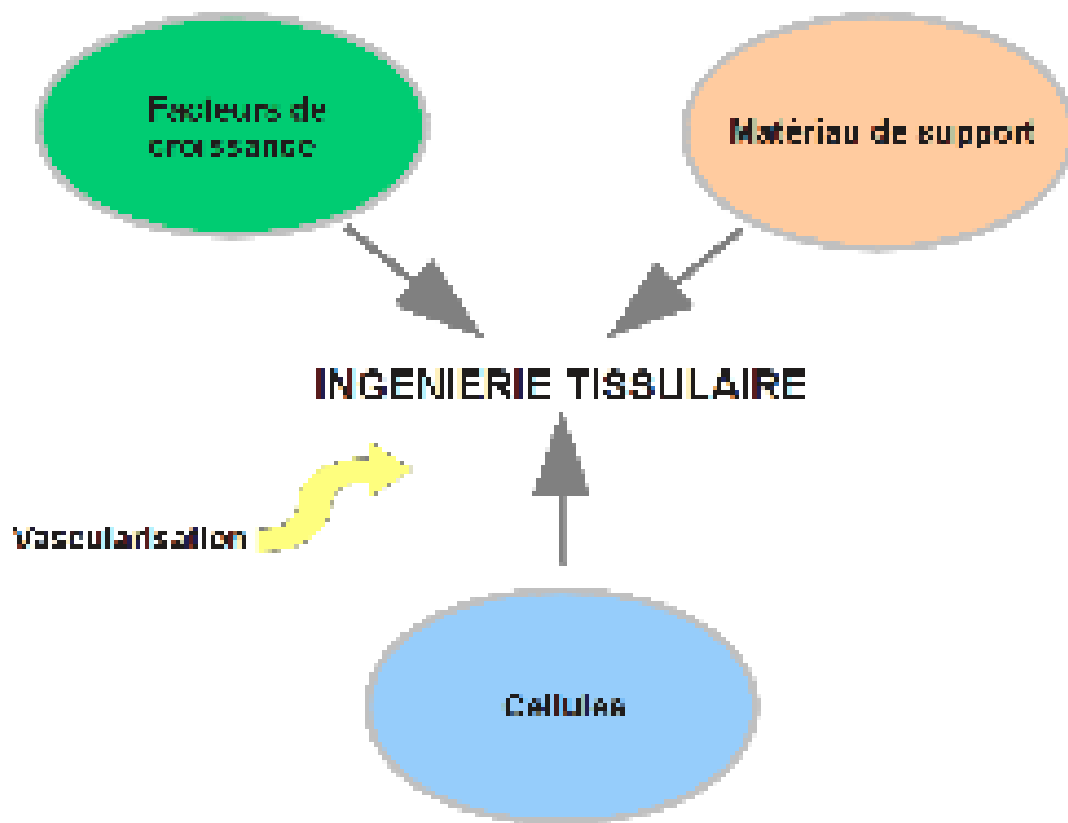


Figure 12 : Schématisation simplifiée de l'ingénierie tissulaire [33].

En odontologie, il existe plusieurs champs d'application de l'ingénierie tissulaire. Un des objectifs serait de pouvoir régénérer des dents complètes en partant de cellules souches [6]. Cependant, l'application clinique est pour l'instant très limitée, mais cette approche s'inscrit parfaitement dans les objectifs essentiels de la médecine et de la chirurgie dentaire :

- maintenir les organes dentaires naturels,
- développer des dispositifs de substitution qui soient parfaitement fonctionnels, tout en se rapprochant le plus possible de l'état naturel.

Depuis quelques années, de grandes avancées ont été réalisées dans ce domaine. Des expériences réalisées chez le porc et le rat montrent que des structures similaires à la dent (formation de dentine et d'émail) sont formées à partir de cellules de germes de dents placées sur des supports spécifiques biodégradables, mais sans réussir à obtenir une morphologie coronaire correcte ni un développement radiculaire [23, 131]. Des recherches chez la souris ont pu aboutir à un développement de structures dentaires *in vitro* en réassociant des cellules de la moelle osseuse avec de l'épithélium dentaire : ces réassociations ont ensuite été implantées chez la souris, ce qui a abouti à la formation d'ébauches dentaires structurées [82]. Par la suite, d'autres études ont montré

la régénération d'un organe dentaire complet fonctionnel chez les souris, à partir de cultures de cellules souches dissociées et recombinaées, prélevées dans les germes dentaires de ces mêmes souris [45].

1.2. Les bases d'expérimentation

1.2.1. Les concepts

Il existe différentes concepts d'expérimentation en ingénierie tissulaire, qui peuvent être utilisés individuellement ou en combinaison [96]:

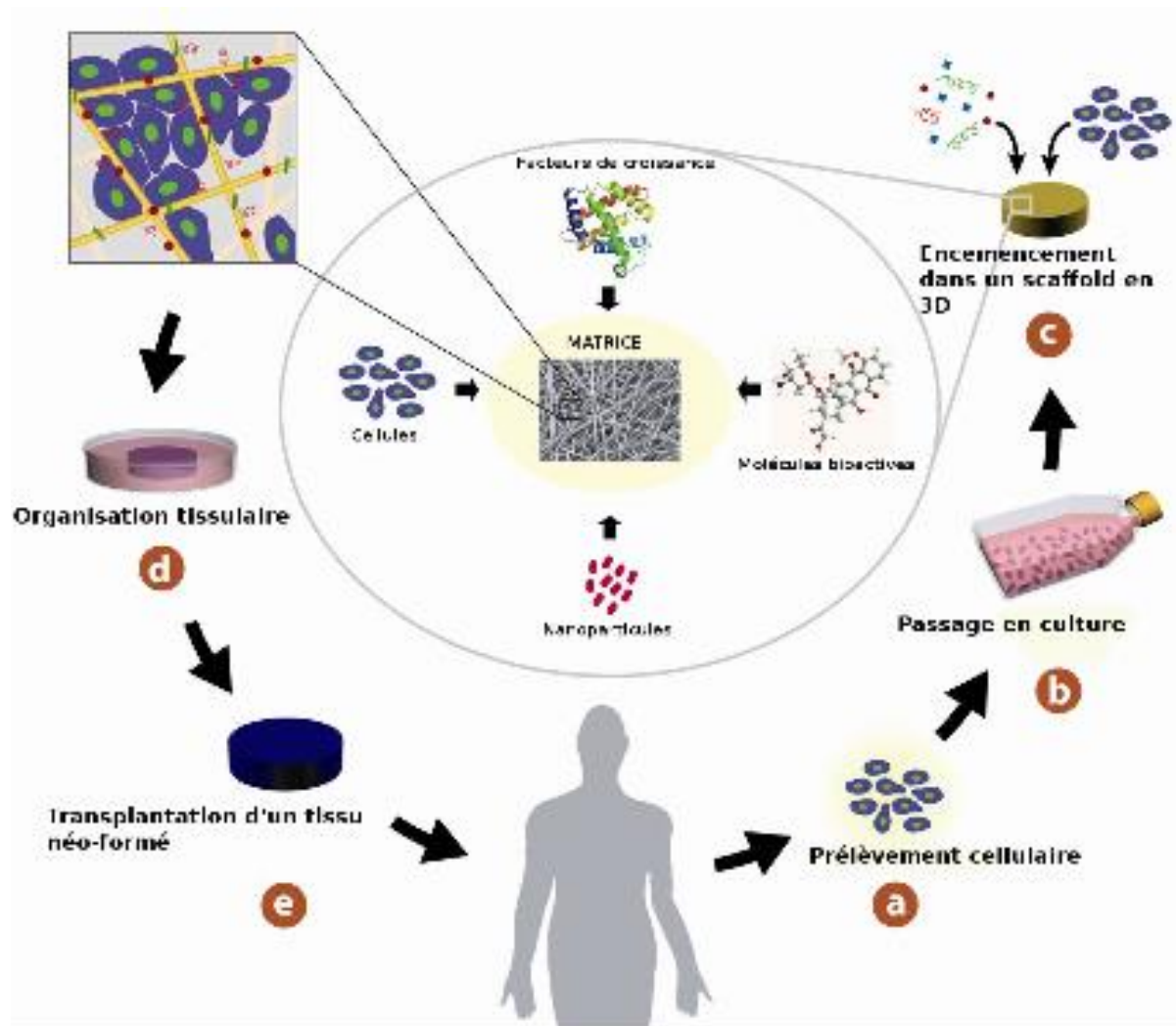
- approche conductive : le biomatériau a un rôle passif pour permettre la régénération d'un tissu existant (exemple de la membrane utilisée en R.O.G (régénération tissulaire guidée)),

- approche inductive : des cellules compétentes à proximité d'un défaut tissulaire sont recrutées et activées, grâce à des signaux spécifiques (facteurs de croissance, molécules bioactives...),

- transplantation cellulaire : des cellules compétentes prélevées chez l'animal et mises en culture, puisensemencées sur un support spécifique, sont réimplantées par la suite.

C'est l'utilisation et la combinaison de ces trois concepts d'ingénierie tissulaire qui permettront d'obtenir une régénération tissulaire optimale (Figure 13).

Figure 13 : Stratégie actuelle en ingénierie tissulaire [26].



Les tissus sont composés de plusieurs variétés cellulaires, organisées de façon bien précise, avec les composants de la matrice extra-cellulaire [48]. Cette organisation cellulaire est régulée et contrôlée par des facteurs génétiques et épi-génétiques [77]. Les interactions et les cycles cellulaires, les composants matriciels, les signaux moléculaires et les facteurs de croissance forment un environnement qui évolue en permanence [48]. Ainsi, il est impératif de tenir compte de tous ces facteurs pour élaborer une stratégie optimale en ingénierie tissulaire.

1.2.2. Les composantes nécessaires

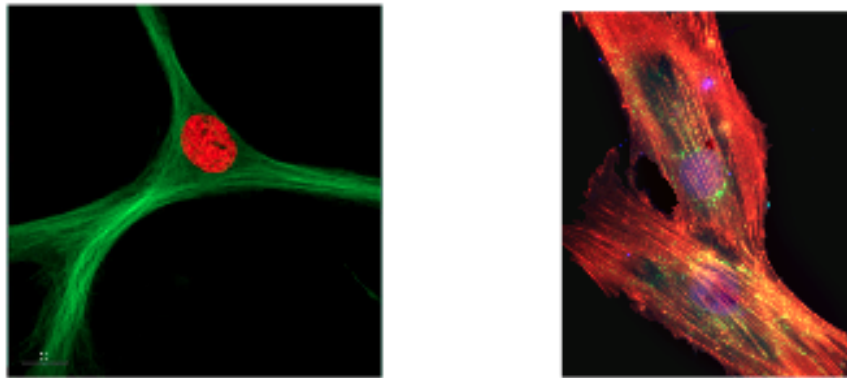
Comme nous avons vu précédemment, trois éléments sont indispensables en ingénierie tissulaire dentaire :

❖2.2.1. Des cellules

Les cellules mésenchymateuses (Figure 14) et épithéliales (que nous avons vu en 2^{ème} partie) sont des cellules parfaites pour l'ingénierie tissulaire grâce à leurs différentes propriétés biologiques.

Figure 14 : Cellules souches mésenchymateuses humaines en microscopie à fluorescence [43].

Dans le but de mettre au point des protocoles utilisables en clinique, une source de cellules souches doit présenter plusieurs caractéristiques pour être utilisée [43]:



- possibilité d'utilisation en auto ou allogreffe,
- cryoconservation,
- activité angiogénique (pour permettre les mitoses),
- relation connue entre cellules souches et agents infectieux,
- utilisation en respectant la législation.

Les cellules souches sont ensuite collectées par :

- aspiration (exemple des cellules de la moelle osseuse),
- prélèvement des fluides (sang),
- prélèvement tissulaire (tissu adipeux, dentaire etc).

Ensuite, c'est l'étape de la digestion mécanique ou enzymatique des prélèvements, pour pouvoir dissocier la matrice extra-cellulaire des cellules qui serontensemencées dans un milieu de culture.

En ingénierie tissulaire dentaire, la collecte des cellules souches utiles se fait essentiellement par prélèvement tissulaire.

1.1.1.1.2.2.2. Des facteurs de croissance

Les facteurs de croissance et les signaux moléculaires stimulent la prolifération et différenciation cellulaires [49]. Dans les conditions physiologiques les facteurs de croissance jouent un rôle majeur dans le recrutement des cellules indifférenciées ainsi que dans la stimulation de la synthèse des protéines matricielles. En partant de ce fait, les scientifiques ont imaginé leur implication en ingénierie tissulaire [91].

Nous pouvons notamment citer :

- les Transforming Growth Factors Beta (TGF- β),
- les Bone Morphogenic Proteins (BMP),
- les Fibroblast Growth Factors (FGF),
- les Insulin-like Growth Factors (IGF),
- les Platelet Derived Growth Factors (PDGF).

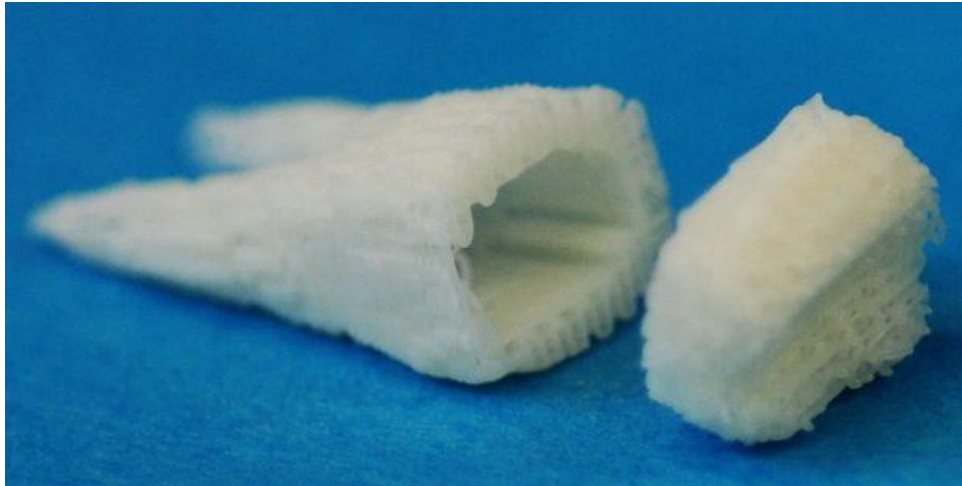
Pour choisir un facteur croissance approprié à une utilisation donnée, il est nécessaire d'étudier au préalable la dose nécessaire, le mode d'administration et le système de libération. En effet, les facteurs de croissance étant rapidement éliminés par l'organisme, ils nécessitent la mise en œuvre d'un système de délivrance qui permettrait de potentialiser leur activité biologique de façon locale, contrôlée et durable au niveau du site [92]. Aussi, il est important de tenir compte des aspects réglementaires, qui limitent l'utilisation des facteurs de croissance chez l'homme. Les protocoles se doivent de justifier pleinement leur utilisation.

1.1.2.3. Des biomatériaux de support

Le mécanisme de régénération, comme celui du développement physiologique est régulé par la matrice extra-cellulaire [18]. Un biomatériau de soutien et de structure (« échafaudage » ou matrice « scaffold ») (Figure 15), permet de guider les cellules.

Figure 15 : Exemple « d'échafaudage » en 3 dimensions d'une molaire [24].

Il existe différents biomatériaux de soutien, pouvant être d'origine naturelle ou synthétique. Ils forment un réseau tri-dimensionnel ressemblant à une matrice extracellulaire artificielle. Ces matrices facilitent la transplantation et la différenciation cellulaire, et jouent le rôle de réservoir de nutriments, d'oxygène et de facteurs de croissance [38].



En ingénierie tissulaire dentaire, on peut citer :

- les éponges collagéniques [32],
- l'alginate [52],
- le HA/TCP (l'hydroxyapatite et le phosphate tricalcique) [106],
- le phosphate de calcium [110],
- les polymères synthétiques [24].

Les critères à prendre en compte lors du choix d'un matériau sont [24, 94] :

- la biocompatibilité : inerte, ne doit pas être ni carcinogène ni immunogène,
- la porosité : une partie interne compatible avec l'attachement, la colonisation et la conductivité cellulaire
- la capacité de transport des molécules sans les dénaturer,
- la structure permettant une nouvelle vascularisation,

Il est très difficile de réunir toutes ces caractéristiques en un unique matériau universel. En plus, beaucoup de ces supports sont très instables in vivo [94].

Les biomatériaux d'origine naturelle comme les collagènes, l'élastine, la fibrine ainsi que l'alginate possèdent une structure d'une grande résistance, sont biocompatibles avec les cellules et les tissus,

sont biodégradables, mais sont susceptibles de présenter un risque de transmission d'organismes pathogènes ou de provoquer une réponse immunitaire de l'hôte [94].

Les polymères synthétiques offrent d'excellentes propriétés chimiques et mécaniques, et permettent un bon contrôle du poids moléculaire, de la configuration des chaînes ou de la présence d'un groupe moléculaire fonctionnel, mais ils peuvent entraîner une réaction inflammatoire importante due à leur résorption [94].

Les hydrogels, dont les connaissances se précisent de jour en jour, semblent avoir des propriétés intéressantes, telles qu'une grande biocompatibilité, une hydrophilie ainsi que des caractéristiques mécaniques proches des tissus conjonctifs [8, 29].

Les biomatériaux de support jouent aussi un rôle dans la création de liens inter-cellulaires, dans la configuration spatiale tissulaire, et dans la détermination des caractéristiques morphologiques [76]. Certains biomatériaux peuvent avoir un rôle actif en modifiant le micro-environnement ou les caractéristiques cellulaires grâce à des molécules bioactives [92]. Ces molécules peuvent être intégrées dans les scaffolds pendant ou après leur fabrication [124].

1.1.1.2.3. Les principales voies de recherche en odontologie

En 2008, Yen et Sharpe [127] ont décrit dans le modèle animal, les deux voies actuellement suivies pour construire une dent. Dans les deux cas, le point de départ nécessite l'obtention de cellules souches dentaires par dissociation enzymatique de germes dentaires au stade embryonnaire ou post-natal.

1.2.3.1. Régénération à partir d'un modèle matriciel

Les cellules dissociées à partir de germes dentaires, sontensemencées sur une matrice (scaffold), qui a la forme d'une dent.

Figure 16 : Les cellules souches issues de germes dentaires sontensemencées sur un support. L'ensemble est ensuite implanté dans le site d'extraction d'une molaire [127].

Deux modèles de supports servent de référence [25] :

- Le premier est un polymère biodégradable PGA ou PGLA (acide poly-glycolique ou acide poly-L-glycolique) qui peut être recouvert de collagène.
- Le deuxième modèle de support contient des fibres de soie. Il est biocompatible,



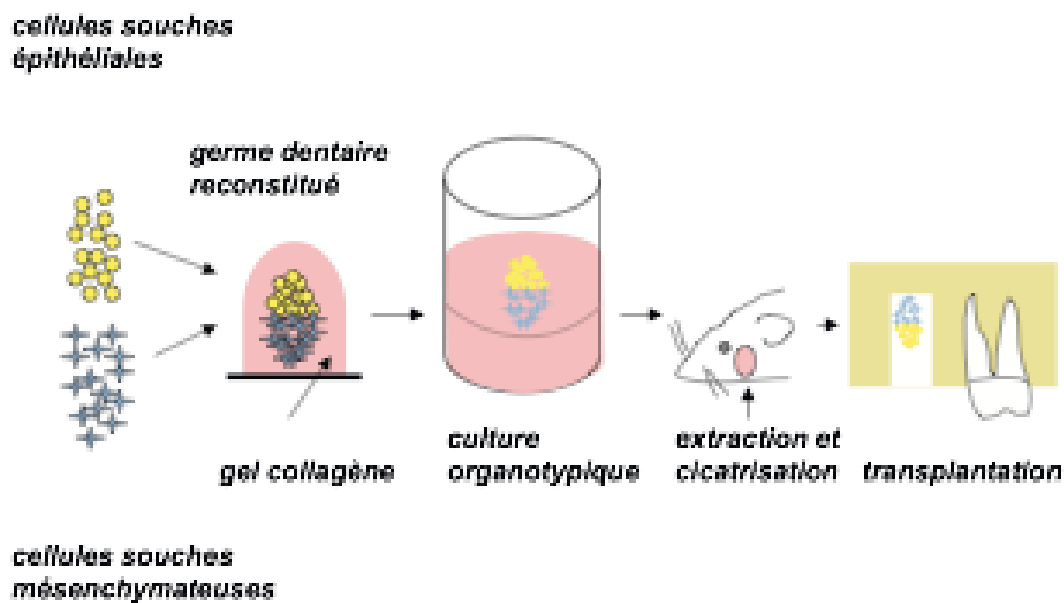
biodégradable, ne provoque pas de réaction immunitaire, et peut être lié aux cellules grâce à un peptide de jonction (RGD, pour arginine-glycine-acide aspartique).

Lorsque l'un de ces deux types de support ensemencé de cellules sera implanté dans la mâchoire d'un rat, cela donnera naissance, entre 10 et 25 semaines, à une structure constituée de tissus dentaires bien répartis, avec la présence d'améloblastes et la formation d'une pulpe dentaire. Mais cette structure dentaire n'a pas la forme d'une dent, elle ne dépasse pas la taille du support (2 mm) et l'émail formé est immature. En conclusion, l'intérêt des matrices est donc limité pour reconstruire une dent complète.

1.2.3.2. Régénération à partir de cultures organotypiques de cellules de germes dentaires

Cette méthode, que l'on va approfondir plus tard, mime les étapes du développement embryologique [127]. Les cellules souches épithéliales et mésenchymateuses obtenues à partir de germes dentaires embryonnaires sont injectées séparément dans un support collagénique, et cultivées in vitro pour former un organe dentaire. Après une semaine de culture, cet organe donne naissance à de multiples germes qui sont isolés et transplantés dans un site osseux édenté [45, 127].

Figure 17 : Méthode mise en oeuvre par l'équipe d'Ikeda pour obtenir une dent fonctionnelle [45].



Au bout de 50 jours environ, les auteurs obtiennent une dent de petite taille, mais avec l'ensemble des tissus dentaires y compris le parodonte. La dent est fonctionnelle, en occlusion, parfaitement vascularisée et innervée.

1.3. Les problématiques en ingénierie tissulaire dentaire

3.1. La morphologie de l'organe dentaire reconstruit

La morphologie de la dent obtenue doit pouvoir être déterminée. Des expériences pour obtenir une morphologie coronaire ont été menées, en se basant sur les mécanismes physiologiques :

Lors de l'odontogénèse, au stade de la transition bourgeon-capuchon se forme le nœud de l'émail primaire (NEP) [90]. Cette structure histologique temporaire, est considérée comme un centre de signalisation [46, 119]. Elle est composée de cellules qui ont cessé de proliférer et de cellules apoptotiques. Sa fonction est liée aux interactions épithélio-mésenchymateuses; le NEP a des propriétés différentes dans les incisives et les molaires. Dans les deux cas, il est responsable de la morphogénèse, par le contrôle du patron cuspidien. Dans le cas de l'incisive, le NEP disparaît par une restructuration histologique. Dans les dents pluricuspidées, le NEP va disparaître par apoptose peu de temps après son apparition, pour former le nœud de l'émail secondaire (NES). Les NES sont localisés dans les zones de formation des cuspidés [58, 79]. Pour savoir si les propriétés du NEP, spécifiques d'une catégorie de dent, sont déterminées par le mésenchyme, des expériences de réassociations hétérotopiques ont été réalisées [74].

Des cellules mésenchymateuses dérivées de la moelle osseuse, réassociées à un épithélium dentaire permettent l'obtention de dents avec la différenciation d'odontoblastes et d'améloblastes fonctionnels [42, 82]. Néanmoins la morphologie de la couronne obtenue n'est pas satisfaisante alors qu'elle est à l'origine de la la fonctionnalité dentaire. Des expériences ont démontré à l'époque que c'est le mésenchyme qui contrôle la morphogénèse dentaire [50]. De nos jours, il a été démontré que les caractéristiques cellulaires du NEP varient en fonction du type dentaire [14, 47]. Au stade du capuchon, les cellules internes du NEP des germes de molaire sont éliminées par apoptose, alors que cela n'a pas lieu pour les germes d'incisive.

Des expériences de réassociations entre les tissus dentaires des germes d'incisives et de molaires au 14^{ème} jour embryologique (E14) ont été réalisées. Des types de réassociations : entre le mésenchyme de molaire (MesenM) et l'épithélium d'incisive (EpitI), et également entre mésenchyme d'incisive (MesenI) et épithélium de molaire (EpitM). Ces réassociations ont été placées dans un milieu de culture pendant 3 jours pour observer le NEP, et de 6 à 8 jours pour observer la morphologie finale des couronnes [74].

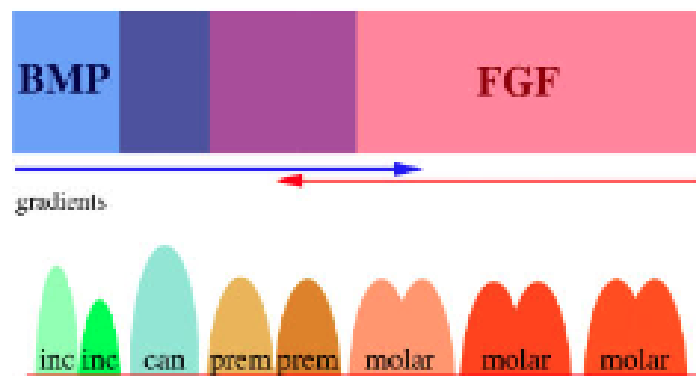
Par ces expériences de dissociations-réassociations entre l'épithélium et le mésenchyme d'incisive et molaire au stade capuchon, en ayant l'apoptose du NEP comme marqueur fonctionnel, il a été observé que dans les réassociations MesenM/EpitI cultivées pendant 3 jours, l'apoptose a été détectée dans le NEP alors qu'au début de la culture, il n'y avait pas d'apoptose dans l'épithélium des incisives. Des noeuds de l'émail primaire étaient aussi présents dans les réassociations MesenI/EpitM cultivées pendant 3 jours, mais sans activité apoptotique. Les résultats indiquent que le mésenchyme de molaire est inducteur d'apoptoses dans le NEP de l'épithélium incisive et à

l'inverse, que le mésenchyme d'incisive est inhibiteur d'apoptose dans le NEP de l'épithélium molaire. Après 6 à 8 jours de culture in vitro, les réassociations MesenM/EpitI ont formé des couronnes pluricuspidées de type molaire, et les réassociations MesenI/EpitM ont formé des dents de type incisive [74].

Une autre étude, dirigée par Mitsiadis & Smith [69], montre l'importance des facteurs de croissance dans la morphogenèse dentaire. Ainsi, il existerait un gradient de facteurs BMPs et FGFs (Figure 18) selon l'axe antéro-postérieur, qui contribuerait à la formation des incisives, canines, prémolaires et molaires. Le gradient de facteurs BMP concernerait la formation des dents antérieures (incisives), et le gradient FGF, les dents postérieures. L'expression des gènes homéotiques (Msx, Pitx..) au niveau des cellules des crêtes neurales contribue fortement à ces mécanismes.

Figure 18 : Gradient de molécules signal en fonction de l'axe antéro-postérieur [69].

Résultat : l'ectomésenchyme est inducteur des caractéristiques du noeud de l'émail primaire. C'est pour cela qu'il a un rôle dans l'acquisition de la morphologie coronaire [50, 74].



3.2. La formation du desmodonte

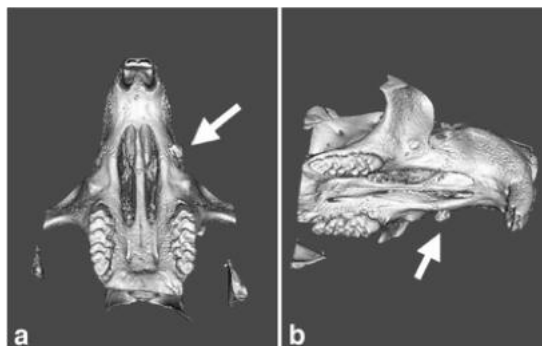
Pour obtenir un organe dentaire complet et fonctionnel en ingénierie tissulaire, la présence d'un ligament alvéolo-dentaire est nécessaire. Sans ligament, la racine de la dent régénérée serait apparentée à un implant dentaire, et serait donc inerte d'un point de vue fonctionnel.

A l'heure actuelle, il n'y pas beaucoup d'études à haut niveau de preuves sur les mécanismes de formation du desmodonte concomitante à régénération d'un organe dentaire par des cellules souches, bien que les auteurs démontrent fréquemment l'apparition de ligament alvéolo-dentaire et de ciment dans les résultats de leurs travaux.

Nous savons que chez l'homme les cellules souches issues du ligament alvéolo-dentaire (PDLSC), contenues dans une matrice extracellulaire adaptée, et induites par de la dentine radiculaire néoformée [20], sont capables de se différencier en structures parodontales et permettent la formation de tissu de minéralisation comparable au ciment, et de tissu osseux [98].

3.3. L'éruption

La problématique de l'éruption après transplantation est toujours en cours d'étude. Pour que la dent biologiquement créée soit fonctionnelle après implantation, elle doit être capable de croître et s'intégrer parfaitement à son environnement dans l'os alvéolaire. Dans le modèle animal, les germes d'embryons dentaires implantés peuvent se développer de façon tout à fait physiologique [82]. Récemment, d'autres études, appuyées par la radiographie en 3 dimensions montrent que les dents néoformées ont une morphologie quasi-parfaite, que le processus d'éruption est tout à fait



correct, et que les racines formées ont une forme normale et sont fonctionnelles. (Figure 19) [121].

Figure 19 : Germe d'incisive 20 jours après transplantation chez la souris : la dent a fait son éruption [121].

3.4. La vascularisation de l'implant biologique

Lors du développement embryonnaire, le système vasculaire a un rôle très important. En effet, il permet la croissance des tissus et des organes. Les vaisseaux sanguins ont pour fonction d'apporter des nutriments (dont l'oxygène) et de permettre les échanges métaboliques nécessaires pour l'organogenèse [113]. La formation des vaisseaux sanguins nécessite la participation de plusieurs

facteurs : des protéines vasculaires (angiogénine, l'angiotropine...), le VPF (facteur qui augmente la perméabilité vasculaire), des facteurs de croissance (FGF, VEGF...) ainsi que d'autres molécules telles que les BMP dont le champ d'action est plus étendu [12].

Le système vasculaire est absolument indispensable lors de l'organogenèse, car il permet les cytodifférenciations les activités mitotiques. Il faut ainsi en tenir compte pour élaborer une stratégie de régénération en ingénierie tissulaire dentaire. La vascularisation a été expérimentée dans trois situations distinctes chez la souris : lors du développement d'une dent ex vivo, in vitro, et lors du développement d'une dent suite à des réassociations cultivées in vitro, après implantation chez la souris adulte en sous cutané et dans les mâchoires [73] :

- ex vivo : les vaisseaux sanguins s'installent progressivement dans les différents compartiments de la dent, dès le stade du capuchon. Au stade de la cloche, les vaisseaux sanguins s'introduisent dans l'organe de l'émail à travers l'EDE.
- in vitro : les structures vasculaires sont indispensables pour avoir un développement coronaire à partir des réassociations entre les cellules épithéliales et ectomésenchymateuses.
- après implantation : se forme un système vasculaire d'abord autour des transplants, puis dans la pulpe dentaire, ainsi que dans l'organe de l'émail. Cependant, la vitesse de la revascularisation des molaires «normales» est plus rapide que dans les dents formées par réassociation. Des études ont montré que les protocoles de traitement mécanique, et enzymatique employés dans les techniques de dissociation/réassociation seraient à l'origine de ces différences de cinétique.

Ces résultats indiquent qu'il est donc possible de restaurer la vascularisation dans les réassociations cellulaires, après implantation chez l'animal [73]. Le système vasculaire permet un développement optimal des réassociations cellulaires, en permettant la croissance des dents formées.

1.1.1.3.5. L'innervation de l'implant biologique

L'innervation est importante afin que les dents soient physiologiquement fonctionnelles, mais ne serait pas nécessaire lors des premiers stades du développement dentaire [50, 60, 61]. Lors de l'odontogenèse, les fibres nerveuses se dirigent vers la pulpe dentaire, dans la région sous-odontoblastique, où elles forment un réseau dense. Elles ont une fonction principalement sensorielle [40]. Plus tard, ces fibres sont au contact des odontoblastes, ce qui permet à ces derniers de répondre à des stimuli externes (mécaniques, thermiques...) [63].

Ces travaux restent une constatation d'une innervation effective de l'organe dentaire néoformé. Mais il n'y a pas, pour le moment, d'étude qui a démontré les mécanismes (cellulaires, moléculaires, histologiques) concrets permettant l'innervation d'une dent créée par ingénierie tissulaire dentaire [86].

1.3.6. La collecte de cellules compétentes

Des recherches sont en cours sur les iPSCs. Ce sont des cellules souches pluripotentes induites. Elles sont générées par reprogrammation de cellules somatiques humaines par la transduction de 4 facteurs de transcription (Oct3/4, Klf4, c-Myc, Sox2) [109]. Ces cellules possèdent les mêmes propriétés que des cellules embryonnaires (structure, expression génique, capacité de différenciation).

L'application des iPSC en ingénierie tissulaire dentaire est très récente, et pour le moment, les travaux menés n'ont mis en évidence que des formations de structures ressemblant à un organe dentaire (tooth-like), sans réelle organisation [9].

Cependant, la procédure de reprogrammation peut provoquer des anomalies génétiques éventuelles (risques d'altération génétique et de cancérogénicité par répression de suppresseurs de tumeur et activation de voies de signalisation oncogènes). Elles ne sont donc pas autant utilisées que les cellules embryonnaires.

Comme nous avons pu voir, les alternatives cellulaires (BMSC, iPSC) représentent une source intéressante et prometteuse dans la régénération dentaire, mais toutes leurs potentialités n'ont pas encore été élucidées. Les cellules souches de référence restent pour le moment les cellules mésenchymateuses et épithéliales prélevées à un stade précoce chez l'animal.

2. POINT SUR LES PRINCIPALES EXPERIMENTATIONS

Actuellement, les chercheurs du monde entier se penchent sur la recherche en ingénierie tissulaire dentaire. Voici les principales études servant de références scientifiques :

- en 2006, l'équipe de W. Sonoyama a pu créer, à partir de cellules souches humaines, une «dent hybride» fonctionnelle chez le porc, constituée d'une racine biologique d'incisive similaire à un implant dentaire, et d'une couronne artificielle en céramique [106].

- en 2009, grâce à la culture cellulaire organotypique, l'équipe d'E. Ikeda a réussi à recréer un germe de dent biologique, qui, une fois transplanté chez la souris, a donné une dent parfaitement fonctionnelle [45].

- en 2011, l'équipe de Masamitsu Oshima a relevé le défi de recréer in vitro une «unité dentaire fonctionnelle», c'est à dire une dent mature comprenant un ligament alvéolo-dentaire, ainsi

que de l'os alvéolaire, et de la réimplanter dans un site osseux de souris. Le résultat fut un succès [86].

Nous allons détailler ces trois études, qui constituent un modèle de recherche pour le monde entier.

2.1. La dent hybride [106]

Dans cette étude, le but est de reconstruire une racine dentaire par l'injection de cellules souches dentaires dans un scaffold (matrice en trois dimensions) qui sera implanté dans la mâchoire d'un animal (technique que nous avons détaillé précédemment) (cf Figure 16 page 53).

Il s'agit d'une dent doublement hybride car d'une part il s'agit de la combinaison de cellules souches humaines implantées dans une alvéole dentaire de porc, et car le résultat sera la formation d'une racine biologique sur laquelle sera fixée une couronne artificielle.

Pour cela, les auteurs de cette expérience ont d'abord prélevé des cellules souches de la papille apicale dentaire (SCAP) et des cellules souches du ligament dentaire (PDLSC) humaines provenant de dents de sagesse extraites chez de jeunes adultes. Les cellules de la SCAP ont été injectées dans une matrice constituée d'hydroxyapatite/TCP (HA/TCP) préfigurant la forme d'une racine d'incisive mandibulaire (Figure 20A). Les PDLSC sont disposées dans un gel qui va recouvrir la partie externe de la matrice (Figure 20B). L'ensemble est ensuite introduit dans une mandibule de porc, à la place d'une incisive mandibulaire extraite au préalable. Après une période de cicatrisation de trois mois (Figures 20 C à E), le site est découvert, et une couronne en céramique est scellée sur la racine artificielle (Figure 20 G à H). Après quelques mois, des analyses radiologiques et histologiques confirment la présence d'une structure minéralisée. Il s'agit bien d'une véritable racine dentaire, composée de dentine et de ciment. Les analyses (Figure 20 K à M) confirment la présence d'un ligament parodontal en périphérie. Puis des tests de résistance mécanique à la compression ont été effectués et comparés entre une racine naturelle de porc et la racine biologique recrée. Les résultats indiquent que la racine créée par ingénierie tissulaire possède une résistance à la compression plus faible qu'une racine porcine naturelle, mais de valeur correcte tout de même (Figure 20N).

Figure 20 : La « dent hybride » [106].

A : Incisive inférieure porcine extraite et le « scaffold » de HA/TCP en forme de racine, chargé en cellules SCAPs.

B : Implantation dans l'alvéole vide de la racine artificielle HA/SCAP recouverte de gel contenant des cellules PDLSCs.

C,D : Forage à l'intérieur de la racine et mise en place d'un matériau pour la fixation future de la couronne en céramique.

E : Suture hermétique et mise en nourrice pendant 3 mois.

F : Réouverture du site.

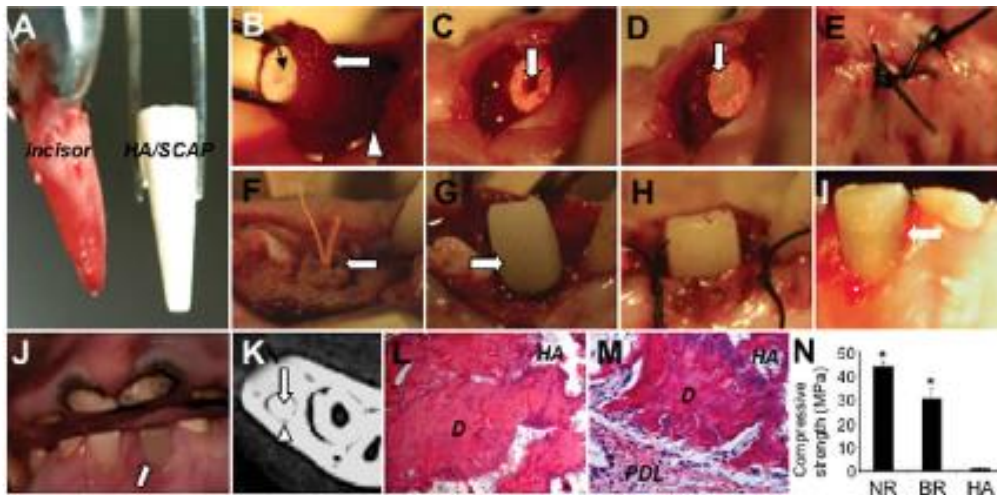
G, H : Scellement d'une couronne céramique sur la racine artificielle.

I, J : A J+4 semaines, la couronne reste fonctionnelle et en place.

K : A J+3 mois, le scanner montre au niveau de l'implant une formation de tissu dur et un espace autour.

L, M : Coupe histologique : on observe une formation dentinaire à l'intérieur de l'implant (D=dentine) et un ligament dentaire (PDL) à l'extérieur de l'implant.

N : Mesure de la résistance à la compression : la nouvelle racine (BR) montre une meilleure réponse aux forces que le « scaffold » au début de l'expérience (HA), mais possède toujours une plus faible résistance que la racine porcine naturelle (NR).



A Ce fut l'un des premiers cas de régénération dentaire in vivo à partir de cellules souches. En 2006, les chercheurs n'étaient pas encore capables de créer une dent complète, avec une structure coronaire amélaire. Il faut attendre 2009 et les travaux d'E. Ikeda et son équipe.

2.2. La reconstruction de l'organe dentaire [45]

Dans cette étude, il s'agit de reconstruire un organe dentaire selon la méthode de la culture organotypique que nous avons détaillé précédemment (cf Figure 17 page 54).

Des germes dentaires ont été prélevés chez des souris à l'état embryonnaire au stade du bourgeon. Après dissociation (Figure 21A) des cellules épithéliales et mésenchymateuses du germe, une culture cellulaire a ensuite été réalisée (Figure 21B), afin de reconstituer un germe de haute densité, inclus dans une matrice collagénique. Après une semaine de culture (Figure 21C et 22), le germe sera transplanté dans l'os alvéolaire d'une souris de 5 semaines, dans le site où la 1ère molaire maxillaire a été préalablement extraite (avec une période de cicatrisation du site osseux de 3 semaines) (Figure 21 D et E).

La bonne orientation du germe dans l'alvéole osseuse est importante, et est validée par le marquage de la partie haute de l'épithélium dentaire du germe par un colorant adapté, tel que le bleu de méthylène.

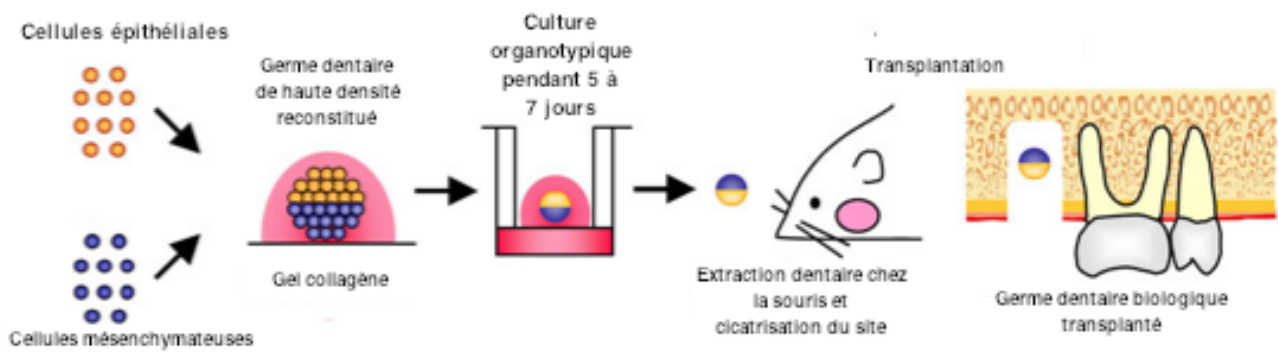


Figure 21 : Schématisation de la culture cellulaire et de la transplantation, modifié d'après Ikeda E. et al [45].



Figure 22 : Image à contraste de phase montrant le germe dentaire après 5 jours de culture [45].



Figure 23 : Photographie intra-orale de la dent : à gauche; avant l'éruption, au centre durant le processus d'éruption; à droite la dent est sur arcade [45].

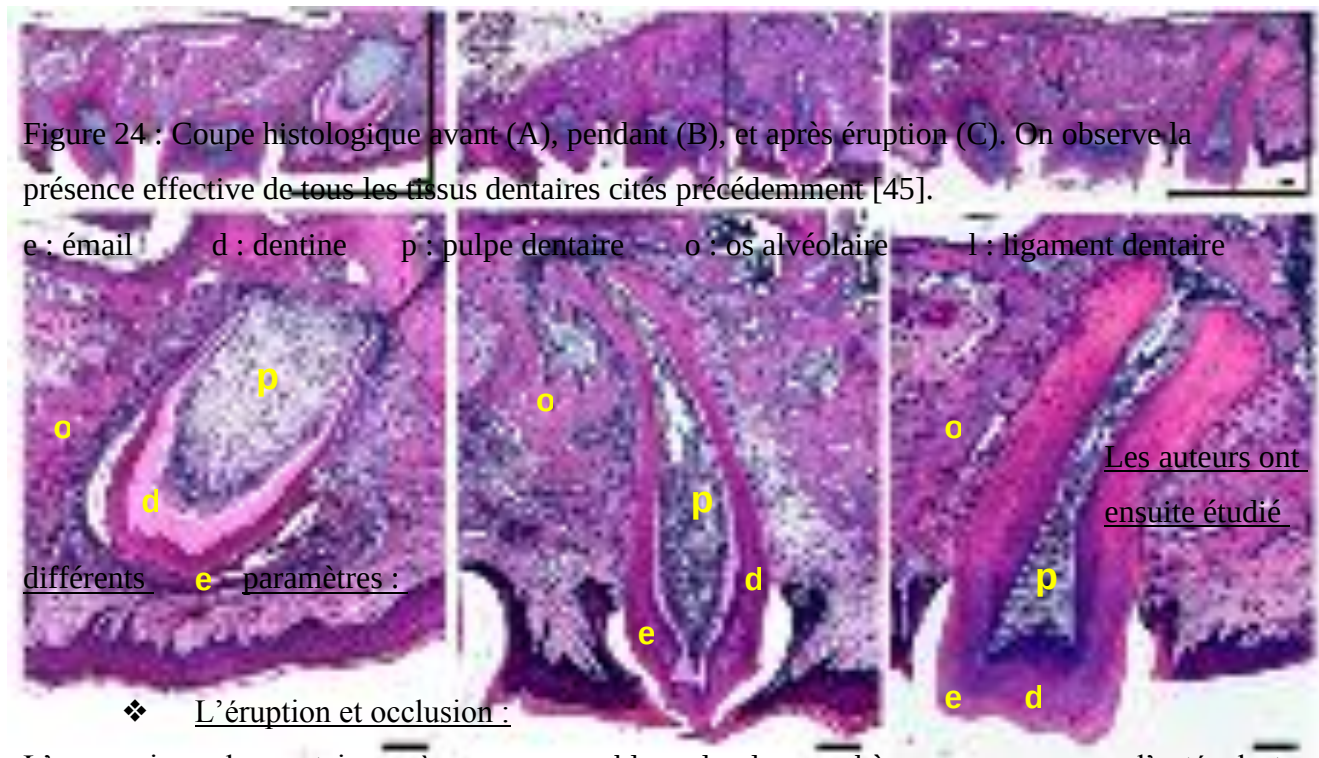
Une dent transplantée atteint le plan d'occlusion en 50 jours environ (Figure 23). Les auteurs indiquent que certains germes ne sont pas arrivés jusqu'à ce stade, probablement à cause de l'orientation du transplant dans l'alvéole, ou d'erreurs de manipulation.

Après éruption, la dent possède une structure comprenant de l'émail, améloblastes, dentine, odontoblastes, une pulpe dentaire. Au niveau parodontal, on retrouve de l'os alvéolaire dont le volume augmente, un ligament alvéolo-dentaire, et du ciment cellulaire dont la qualité serait proche de celui d'une molaire naturelle d'une souris (Figure 24).

A

B

C



L'expression de certains gènes responsables de la synthèse d'ostéoclastes durant l'éruption est quantifiée : CSF-1 (facteur stimulant de colonies) et Pthr1 (récepteur de l'hormone parathyroïdienne). Cette activité a été analysée au niveau de la frontière entre le follicule dentaire et le tissu osseux environnant, et ensuite durant l'éruption de la dent. Les observations indiquent que l'éruption de la dent biologique a fidèlement reproduit les mécanismes moléculaires intrinsèques à une éruption de dent «normale» (Figure 25).

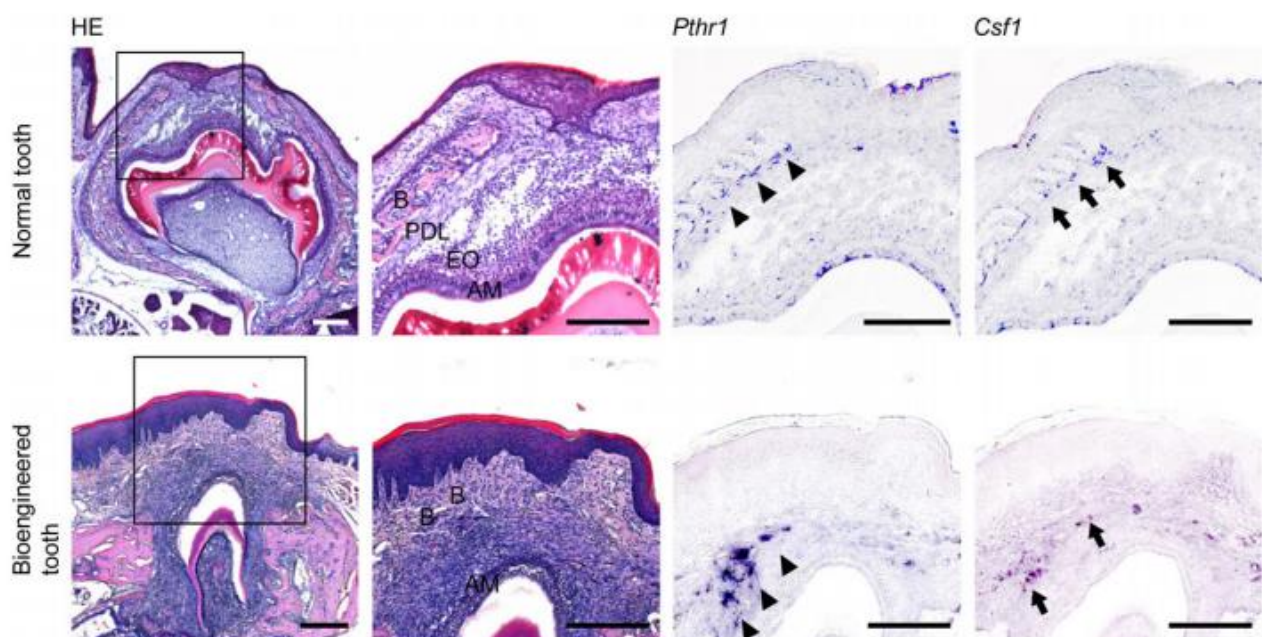


Figure 25 : Coupe histologique colorée par hématoxyline-éosine montrant l'expression de Pthr1 et Csf1 durant le processus d'éruption de la dent normale et biologique. Les flèches à droite confirment la présence respective de Pthr1 et Csf1 dans les deux structures dentaires [45].

❖ Le pouvoir de mastication :

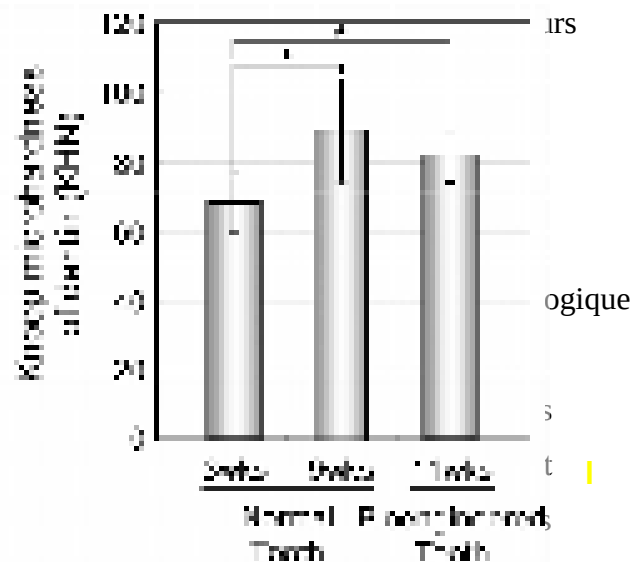
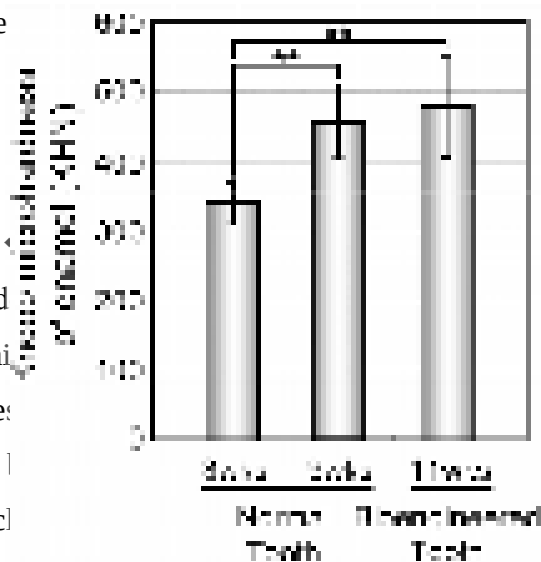
Un test de dureté (Knoop KHN) similaire à celui utilisé en ingénierie des biomatériaux a été effectué pour mesurer le pouvoir masticatoire de la dent, paramètre essentiel de sa fonctionnalité. Il prend en compte la valeur de la dureté amélaire et dentinaire de la dent biologique, et de la dent normale. Les valeurs enregistrées (Figure 26) sont respectivement pour l'émail, et la dentine :

- 447 KHN, et 88 KHN pour la dent biologique
- 461 KHN et 81 KHN pour la dent normale

On en conclut que les valeurs de dureté sont à peu près similaires dans les deux cas.

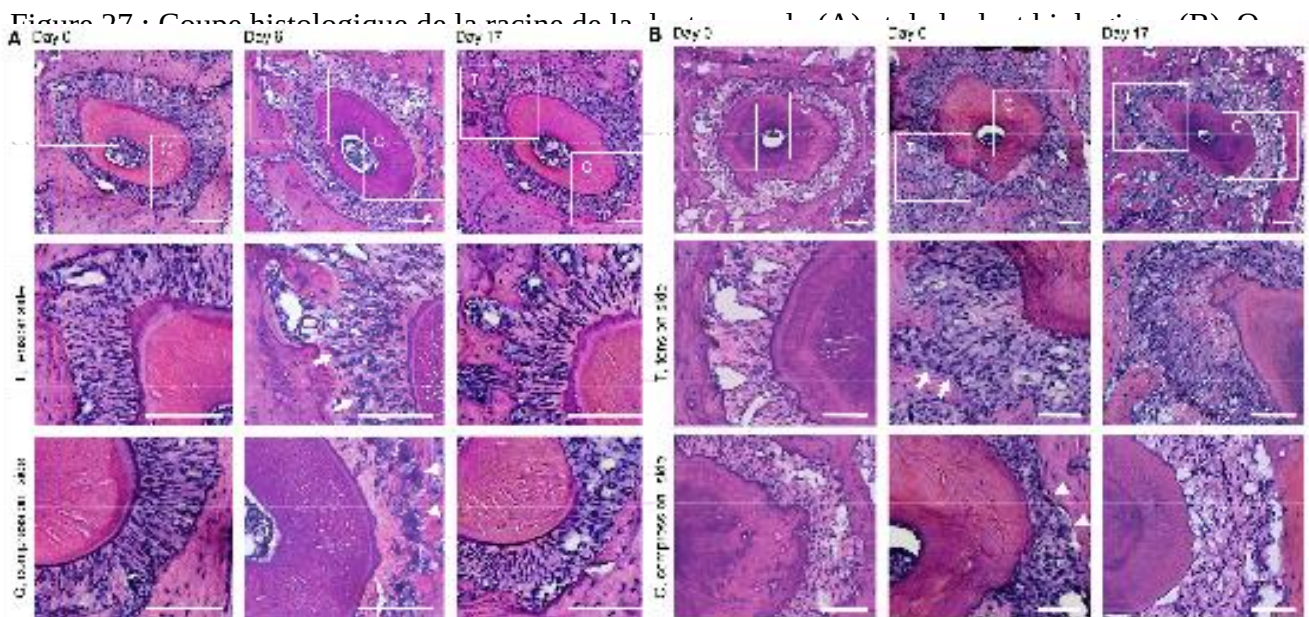
Figure
[45].

L'étud
similai
Des te
dents |
ostéocl



deux structures, on retrouve les mêmes changements histologiques en réponse au stress imposé, preuve de l'adaptation ligamentaire (Figure 27).

Ceci permet de conclure que le ligament dentaire crée est tout à fait fonctionnel, et bien intégré dans son environnement parodontal.



- des anticorps anti-neurofilaments (NF)-immunoréactifs sont détectés dans la pulpe et le ligament dentaire,
- le neuropeptide Y (NPY), retrouvé dans le nerf sympathique et parasympathique, est détecté dans la pulpe et les neurones du ligament dentaire,
- le peptide relié au gène calcitonine (CGRP) impliqué dans la douleur dentaire est également détecté dans la pulpe et le ligament dentaire.

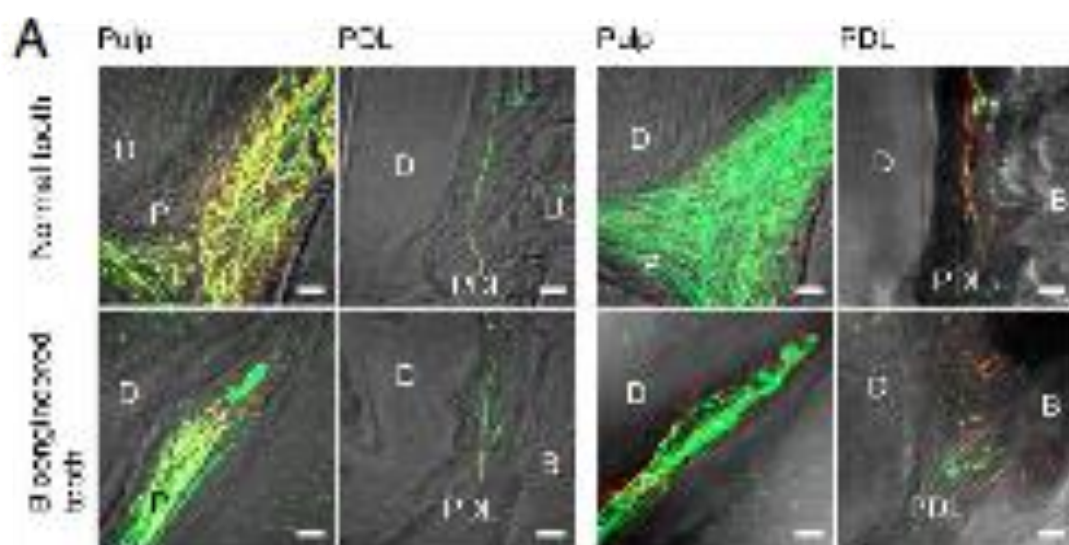


Figure 28 : Fibres nerveuse de la pulpe et du ligament dentaire (PDL) dans la dent normale et biologique mises en évidence par immunohistochimie [45].

Colonnes de gauche : neurofilaments (vert), et neuropeptide Y (rouge)

Colonnes de droite : combinaison de neurofilaments et CGRP (rouge).

Des stimulations nerveuses ont été appliquées sur l'organe dentaire biologique (stimulation pulpaire, mouvements orthodontiques exagérés) et ont mis en évidence une augmentation significative du taux de galanine chez la souris porteuse de la dentbiologique, reflet d'une véritable réponse aux stimuli douloureux.

2.3. La reconstruction de «l'unité dentaire fonctionnelle» [86]

Cette étude, réalisée par une grande partie des auteurs de l'expérience décrite précédemment (cf paragraphe 2.2), est une évolution de cette dernière. En effet, les auteurs ont franchi un nouveau cap en ingénierie tissulaire dentaire en implantant un organe dentaire complet (une dent de structure correcte, avec son ligament, et entourée d'os alvéolaire) dans une mâchoire de souris. Le résultat fut aussi un succès.

Figure 29 : Schématisation de la culture cellulaire et de la transplantation, modifié d'après Oshima et al. [86].

Les chercheurs ont d'abord prélevé des germes dentaires de molaires de souris au stade de la cloche à J+14,5 (Figure 29A). Après dissociation de l'épithélium et du mésenchyme, une culture cellulaire est réalisée (Figure 29B) pour reconstituer un germe dentaire de haute densité dans un support collagénique (Figure 29C). Après une culture cellulaire de 5 à 7 jours (Figure 29D), le germe est

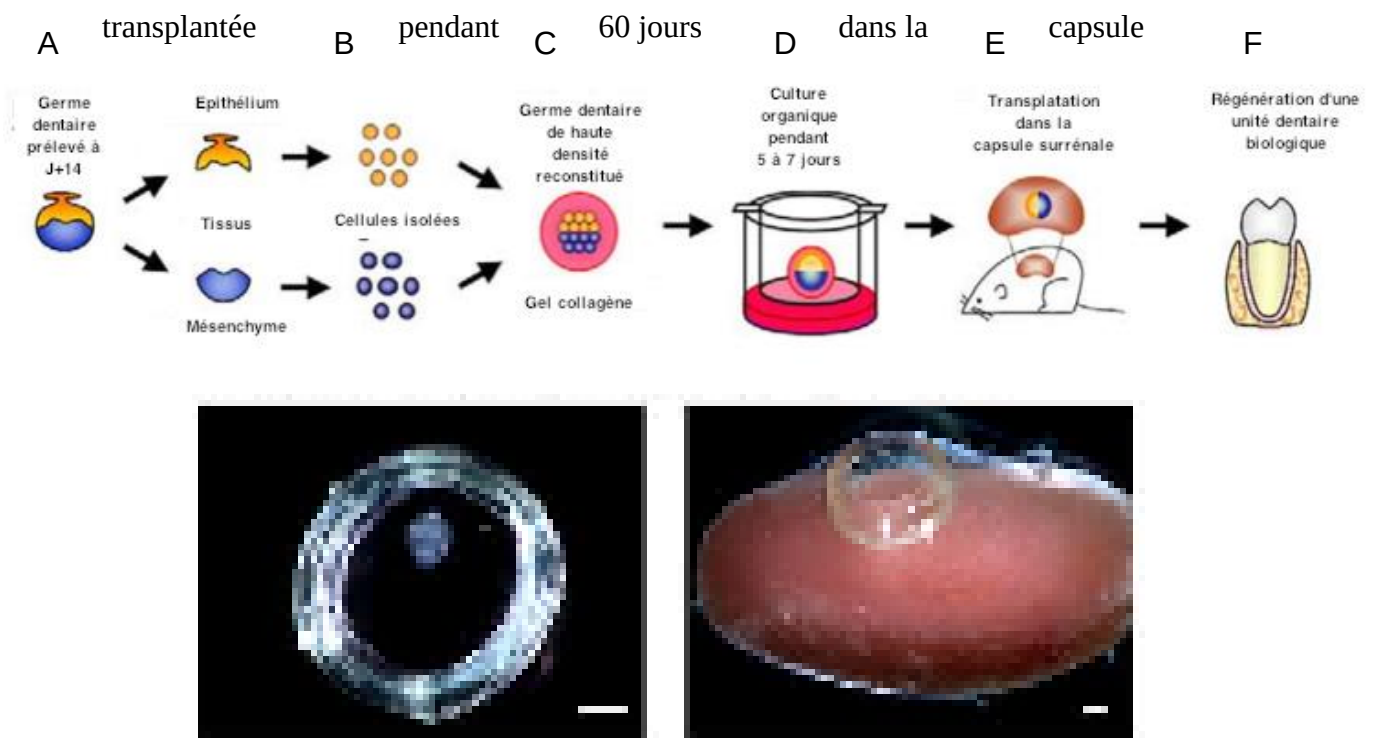


Figure 30 : Germe dentaire entouré par un guide plastique (à gauche), et l'ensemble est transplanté dans la capsule surrénale de la souris (à droite) [86].

Dans la capsule, le germe dentaire a ensuite formé des structures minéralisées (émail, dentine), des ébauches de racines, ainsi que du tissu parodontal, selon un processus de croissance normal (Figures 31 et 32).

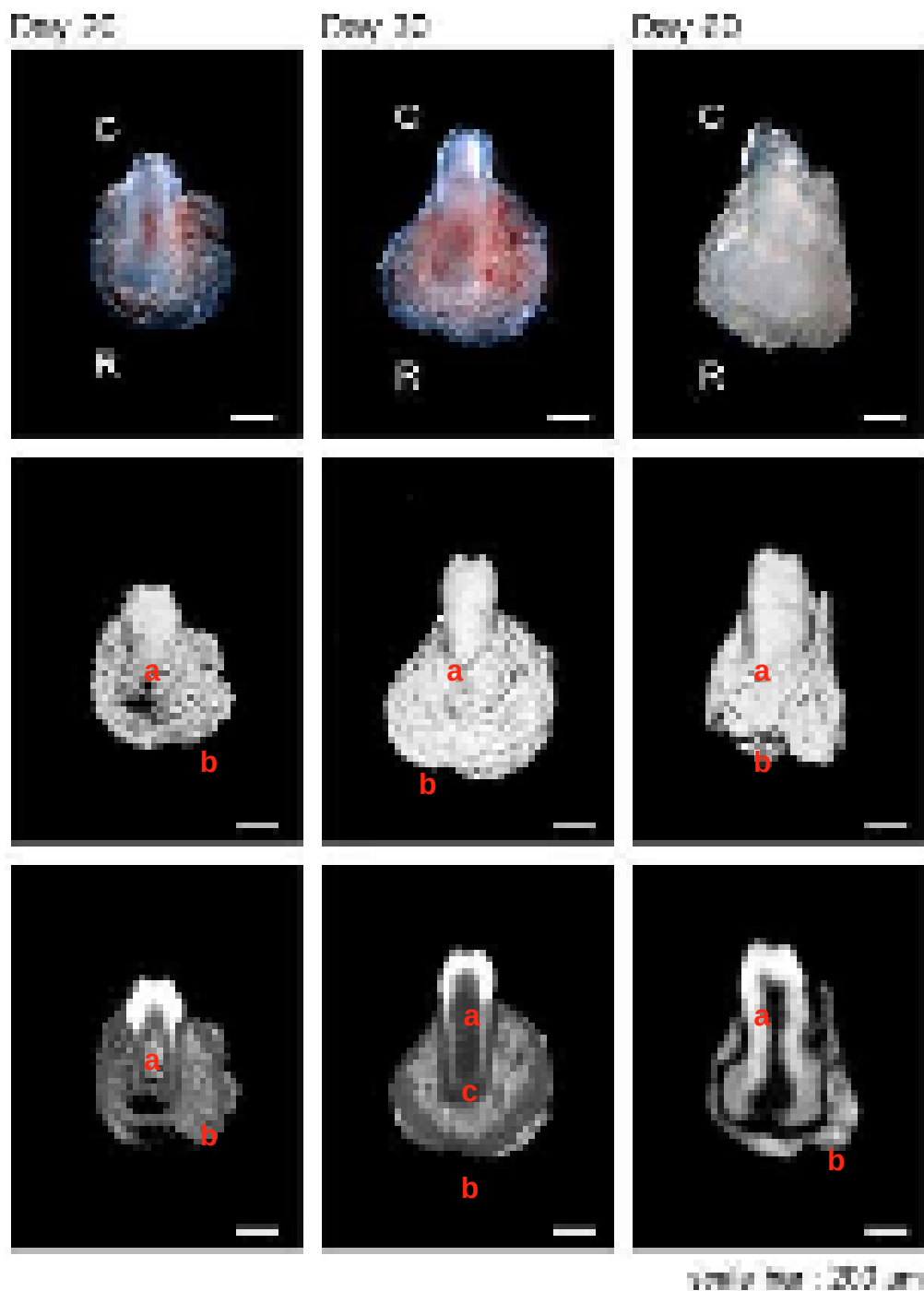


Figure 31 : Coupes radiologiques en 3 dimensions montrant la croissance de l'organe dentaire dans la capsule surrénale à J+20, J+30, J+60 [86].

- C : partie coronaire R : partie radiculaire
a : évolution des structures dentaires minéralisées (émail, dentine)
b : croissance de l'os alvéolaire
c : pulpe dentaire

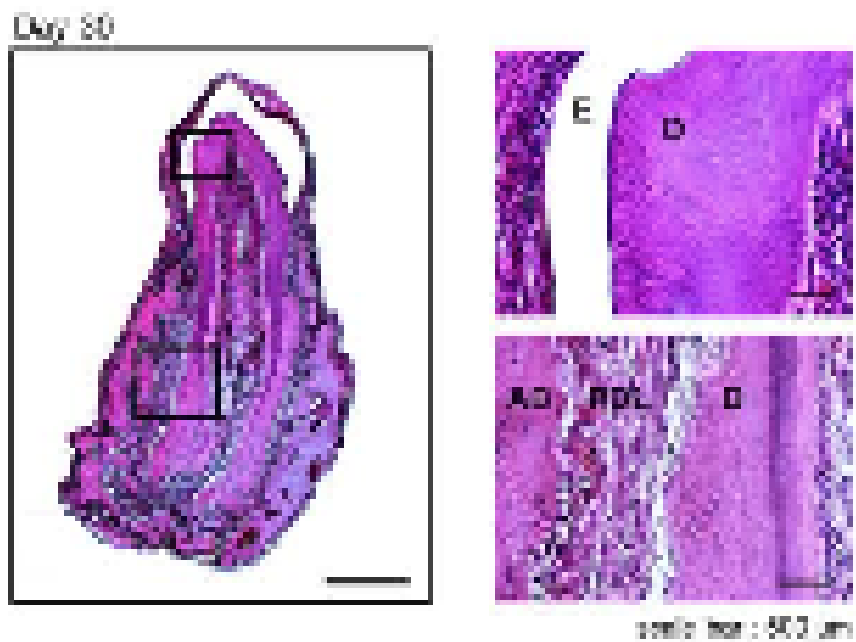


Figure 32 : Coupe histologique de l'organe dentaire formé dans la capsule surrénale à J+30 [86].

E : émail D : dentine P : pulpe dentaire AB : os alvéolaire PDL : ligament dentaire

L'unité dentaire formée a été ensuite implantée dans l'os alvéolaire de la souris, dans un site aménagé au préalable par forage osseux (Figures 33, 34 et 35).

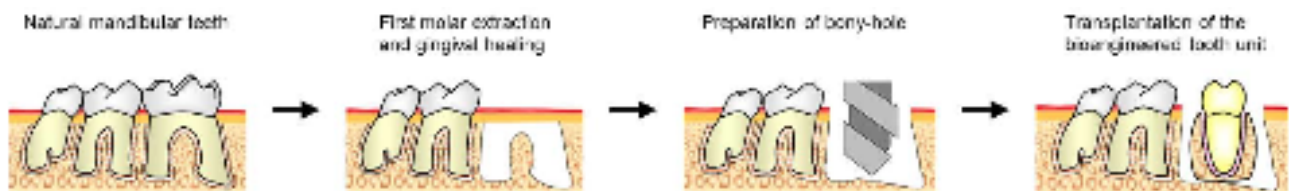


Figure 33 : Aménagement de l'os alvéolaire de la souris destiné à recevoir le transplant.

De gauche à droite : extraction d'une molaire, cicatrisation du site, aménagement du site par forage, transplantation de la dent biologique [86].

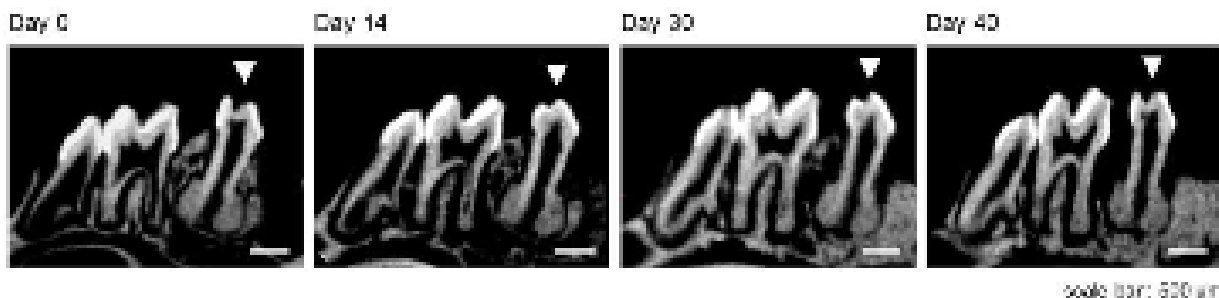


Figure 34 : Transplantation de l'unité dentaire dans l'os alvéolaire à J-0, et remodelage alvéolaire jusqu'à J+40 [86].

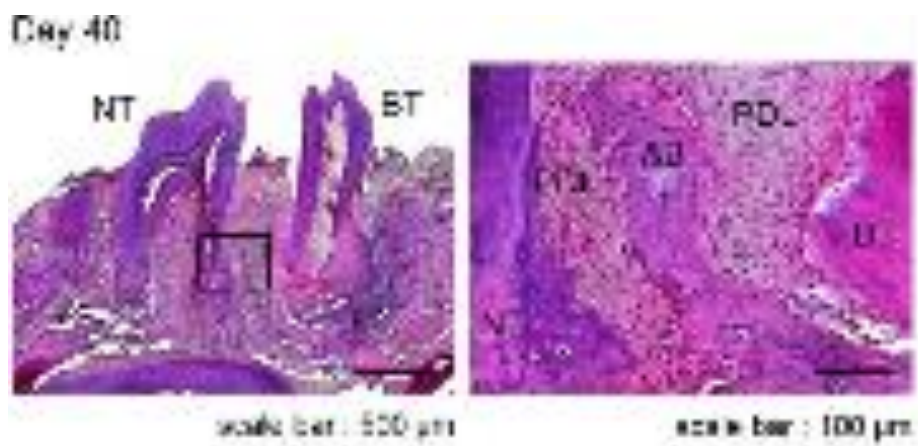


Figure 35 : Coupe histologique montrant l'intégration du transplant 40 jours après implantation dans l'os alvéolaire de la souris [86].

NT : dent naturelle

BT : dent biologique

Dans cette coupe histologique, nous pouvons constater que les tissus parodontaux de la dent naturelle et de la dent biologique sont similaires.

Les paramètres étudiés sont les mêmes que ceux de l'étude précédente (cf paragraphe 2.2) :

❖ Le pouvoir de mastication :

Les valeurs de dureté (Knoop) de l'émail et dentine de la dent naturelle et de la dent biologique implantée sont presque similaires (Figure 36).

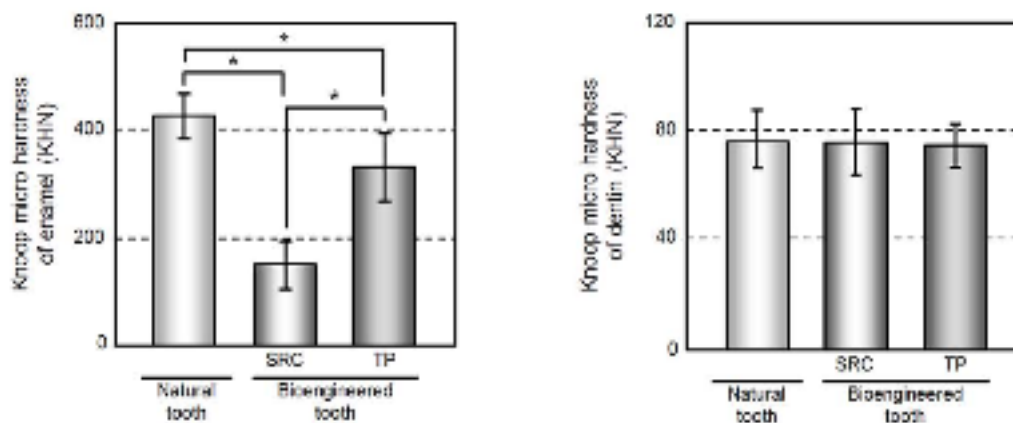


Figure 36 : Tests de dureté (Knoop) de l'émail (gauche) et de la dentine (droite) entre la dent naturelle et la dent biologique. (comparaison aussi de la dureté de l'unité dentaire fonctionnelle lorsque celle-ci était implantée dans la capsule surrénale SRC) [86].

❖ L'éruption et occlusion :

L'éruption s'est faite en majeure partie dans la capsule surrénale de la souris. La taille de la dent produite a été contrôlée par le guide ^Eplastique entourant la dent, imposant une longueur de la dent dans les trois dimensions de l'espace ^Dsimilaire à une dent naturelle de souris (dimensions calculées par des valeurs statistiques moyennes).

En revanche, l'occlusion est un paramètre qui n'a pas pu être complètement respecté. L'engrènement avec la dent antagoniste n'est pas précis. Cela vient du fait que la dent a eu une croissance dans un environnement distinct des dents adjacentes et antagonistes du transplant (Figure 37).

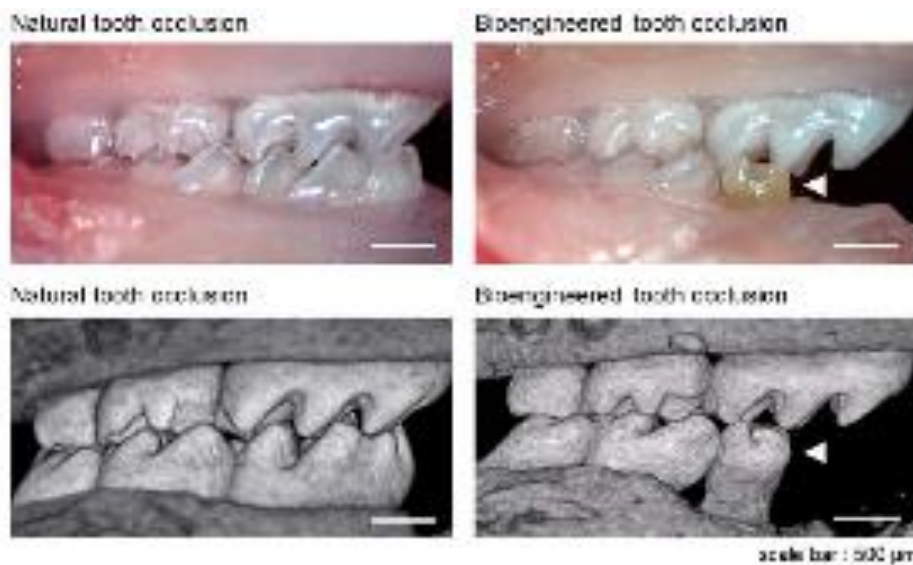


Figure 37 : Rapports occlusaux entre les dents naturelles (à gauche) et entre la dent biologique et son antagoniste (à droite) [86].

Nous pouvons voir que la hauteur de la dent biologique semble satisfaisante, mais que l'occlusion n'est pas physiologique.

❖ La réponse au stress mécanique et aux stimulations nerveuses :

Les résultats obtenus après réponse au stress mécanique (forces de traction et tension) et stimulations nerveuses pulpaire et parodontales sont strictement les mêmes que ceux obtenus dans l'étude précédente (cf paragraphe 2.2). Ceci démontre la parfaite intégration de l'unité dentaire dans son environnement parodontal, et de la parfaite fonctionnalité de celui-ci.

3. LIMITES DE RECHERCHE ET PERSPECTIVES EN INGENIERIE TISSULAIRE DENTAIRE

3.1. Limites actuelles

En l'état actuel des connaissances, l'ingénierie tissulaire est capable de reproduire l'intégralité des tissus dentaires (émail, dentine et parodonte). La structuration de ces tissus en une véritable dent fonctionnelle semble également à portée de main à condition de résoudre les problèmes de forme, de taille et de teinte de la dent.

Il reste également à déterminer la meilleure source de cellules souches. L'utilisation de cellules souches d'origine dentaire impliquant le prélèvement d'une dent saine est difficilement transposable à l'homme. L'utilisation de cellules souches mésenchymateuses obtenues à partir de dents de lait exfoliées ou de dents de sagesse cryoconservées, la transformation de kératinocytes en améloblastes, l'utilisation de cellule souches d'origine non dentaire (cellules souches pluripotentes induites, cellules souches dérivées de la moelle osseuse) sont en cours d'évaluation [123].

Des incertitudes persistent concernant l'immunogénicité des cellules souches et leur potentiel de transformation tumorale potentielle [86].

La durée de formation in vivo de la racine après implantation et les coûts de ces techniques sont également des facteurs limitants qu'il faudra évaluer.

Enfin, le développement à grande échelle de ces techniques nécessitera la création d'infrastructures rodées et compétentes (banques de cellules souches et laboratoires de culture) qui n'existent pas à l'heure actuelle. Seule la levée de tous ces verrous permettra d'aborder des expérimentations en toute sécurité chez l'homme...

3.2. Perspectives

❖ Selon une enquête parue en 2009 par la «Nova Southeastern University» (NSU) à Miami, Floride, 96% des chirurgiens-dentistes américains qui ont participé au questionnaire pensent que le domaine de la régénération par les cellules souches va bouleverser et dominer le futur de la dentisterie. Sur ces 96%, 50% pensent que ces nouvelles technologies seront applicables dans la prochaine décennie [41].

D'après les chiffres des «National Institutes of Health» (institutions gouvernementales des États-Unis qui s'occupent de la recherche biomédicale), le budget américain sur la recherche des cellules souches a augmenté de plus 30%, passant de 1 milliard de dollars à plus de 1,3 milliards de dollars. (La NSU elle-même a reçu 1,7 millions de dollars pour continuer les recherches sur l'ingénierie tissulaire dentaire).

A cela s'ajoute une recrudescence mondiale récente de banques de cellules souches dentaires, telles que BioEden, StemSave, and Store-A-Tooth, qui permettent de cryoconserver pendant 20 ans les dents déciduales et dents de sagesse pour environ 2,500 \$ l'unité.

Nous pouvons donc constater qu'il existe un réel engouement pour la dentisterie régénérative, car outre le fait que cela représentera un marché juteux pour les laboratoires et banques de cellules, c'est toute la dentisterie mondiale qui fera un bond en avant d'un point de vue thérapeutique. Elle représentera surtout une révolution pour nos patients.

En 2010, Garcia-Godoy et Murray [30] ont montré dans une étude comparative comment aborder un problème dentaire avec les moyens actuels, et comment la future dentisterie pourra l'appréhender (Tableau).

Problème dentaire	Thérapeutique restauratrice actuelle	Thérapeutique de régénération
Erosion, abfraction, pertes amélares et dentinaires	Comblent la perte amélo-dentinaire avec des matériaux d'obturation (résines...)	Stimuler la formation d'émail et de dentine avec des facteurs de croissance
Pulpites, hypersensibilités, nécroses pulpaire	Thérapeutiques endodontiques	Régénération du tissu pulpaire par des cellules souches
Caries précoces superficielles	Scellement de sillons / puits	Facteurs de croissance pour reminéraliser l'émail
Dents partiellement cariées	Curetage lésion carieuse et application de matériaux d'obturation (résines...)	Transplantation partielle de nouveaux tissus dentaires
Dents très cariées, fracturées, ou extraites	Implantologie / Prothèse	Régénération d'un organe dentaire complet et transplantation

Tableau 1 : Point de vue du potentiel thérapeutique actuel et de la thérapie régénérative, face à un problème dentaire, modifié d'après Garcia-Godoy et Murray [30].

❖ Les études les plus récentes sont désormais portées sur l'utilisation de cellules humaines combinées à des cellules animales : Volponi et Sharpe ont en effet pu obtenir un germe dentaire à partir de cellules épithéliales gingivales humaines associées à des cellules mésenchymateuses de souris [120]. Le tissu dentaire résultant est correctement formé, et non-tératologique, mais la dent n'est pas complètement achevée. Cela reste néanmoins très prometteur pour les futures études à venir...

CONCLUSION

Les perspectives de la dentisterie régénérative sont bien réelles. Nous avons pu voir, au travers de ce travail, que les résultats sont prometteurs, car la plupart des paramètres de l'organe dentaire obtenu chez l'animal sont respectés. Chez l'homme, il faudra néanmoins pouvoir résoudre les problèmes de morphologie coronaire, de teinte, d'occlusion, et de recrutement cellulaire.

Il faudra aussi rétablir un cadre de légitimité de la médecine régénérative d'un point de vue éthique, afin qu'il y ait une plus grande communauté scientifique et intellectuelle travaillant sur les cellules souches. Cela éviterait certaines dérives, et grandes questions morales, dont nous sommes actuellement imprégnés.

De nombreuses équipes de recherche s'intéressent à ce sujet, augmentant sérieusement les chances de voir un jour de nouvelles thérapeutiques dans notre profession. Il s'agira, lorsqu'elles seront abouties, d'une des plus grandes avancées dans notre métier, à la fois pour nous, praticiens, car une nouvelle forme de médecine s'offrira à nous, et pour les patients, qui pourront bénéficier de leurs propres «substituts dentaires».

Mais pour cela, nous devons nous armer de patience. Il reste beaucoup d'études à réaliser, et notamment chez l'Homme. Lorsque des expériences seront menées sur l'être humain, cela marquera à nouveau un tournant dans la recherche en ingénierie tissulaire dentaire...

INDEX DES FIGURES ET TABLEAUX :

Figure 1 : Les principales étapes de l'odontogenèse [83].

Figure 2 : Ebauche d'une dent déciduale avec sa dent permanente (www.embryology.ch).

Figure 3 : La rhizagénèse [83].

Figure 4 : Gradient de molécules signal en fonction de l'axe antéro-postérieur [69].

Figure 5 : La crête neurale odontogène [89].

Figure 6 : Expression complémentaire des gènes Pitx-2 et Barx-1 au niveau de la molaire (stade de la cloche) [1].

Figure 7 : Les différentes sources de cellules souches dentaires mésenchymateuses, modifié d'après Egusa H. [27].

Figure 8 : Formation du complexe pulpo-dentinaire par les DPSCs transplantées chez la souris [4].

Figure 9 : Coupe histologique du follicule dentaire [11].

Figure 10 : Dentinogénèse au cours du développement et dentinogénèse réparatrice : événements moléculaires comparables [80].

Figure 11 : Coupe sagittale de l'incisive de souris [39].

Figure 12 : Schématisation simplifiée de l'ingénierie tissulaire [33].

Figure 13 : Stratégie actuelle en ingénierie tissulaire [26].

Figure 14 : Cellules souches mésenchymateuses humaines en microscopie à fluorescence [43].

Figure 15 : Exemple «d'échafaudage» en 3 dimensions d'une molaire [24].

Figure 16 : Les cellules souches issues de germe dentaire sontensemencées sur un support. L'ensemble est ensuite implanté dans le site d'extraction d'une molaire [127].

Figure 17 : Méthode mise en oeuvre par l'équipe d'Ikeda pour obtenir une dent fonctionnelle [45].

Figure 18 : Gradient de molécules signal en fonction de l'axe antéro-postérieur [69].

Figure 19 : Germe d'incisive 20 jours après transplantation chez la souris : la dent a fait son éruption [121].

Figure 20 : La « dent hybride » [106].

Figure 21 : Schématisation de la culture cellulaire et de la transplantation [45].

Figure 22 : Image à contraste de phase montrant le germe dentaire après 5 jours de culture [45].

Figure 23 : Photographie intra-orale de la dent : à gauche; avant l'éruption, au centre durant le processus d'éruption; à droite la dent est sur arcade [45].

Figure 24 : Coupe histologique avant (A), pendant (B), et après éruption (C). On observe la présence effective de tous les tissus dentaires cités précédemment [45].

Figure 25 : Coupe histologique colorée par hématoxyline-éosine montrant l'expression de Pthr1 et Csf1 durant le processus d'éruption de la dent normale et biologique. [45].

Figure 26 : Résultats du test de dureté sur les dents biologique et normale : similitude de valeurs [45].

Figure 27 : Coupe histologique de la racine de la dent normale et de la dent biologique .[45].

Figure 28 : Fibres nerveuse de la pulpe et du ligament dentaire (PDL) dans la dent normale et biologique mises en évidence par immunohistochimie [45].

Figure 29 : Schématisation de la culture cellulaire et de la transplantation, modifié d'après Oshima et al. [86].

Figure 30: Germe dentaire entouré par un guide plastique (à gauche), et l'ensemble est transplanté dans la capsule surrénale de la souris (à droite) [86].

Figure 31 : Coupes radiologiques en 3 dimensions montrant la croissance de l'organe dentaire dans la capsule surrénale à J+20, J+30, J+60 [86].

Figure 32 : Coupe histologique de l'organe dentaire formé dans la capsule surrénale à J+30 [86].

Figure 33 : Aménagement du l'os alvéolaire de la souris destiné à recevoir le transplant [86].

Figure 34 : Transplantation de l'unité dentaire dans l'os alvéolaire à J-0, et remodelage alvéolaire jusqu'à J+40 [86].

Figure 35 : Coupe histologique montrant l'intégration du transplant 40 jours après implantation dans l'os alvéolaire de la souris [86].

Figure 36 : Tests de dureté (Knoop) de l'émail (gauche) et de la dentine (droite) entre la dent naturelle et la dent biologique [86].

Figure 37 : Rapports occlusaux entre les dents naturelles (à gauche) et entre la dent biologique et son antagoniste (à droite) [86].

Tableau 1 : Comparatif entre le potentiel thérapeutique traditionnel et la thérapie régénérative, face à un problème dentaire [30]

Bibliographie

1.AMENDT B.

The Role of PITX2 in Tooth Development.

The Molecular Mechanisms of Axenfeld-Rieger Syndrome.

Springer USA; 2005: 81-92.

2.ATALA A.

Engineering organs.

Curr Opin Biotechnol 2009;20(5):575-592.

3.BARRANDON Y, GREEN H.

Three Clonal Types of Keratinocyte with Different Capacities for Multiplication.

Proceed National Acad of Sci 1987;84(8):2302-2306.

4.BATOULI S, MIURA M, BRAHIM J et coll.

Comparison of stem-cell-mediated osteogenesis and dentinogenesis.

J Dent Res 2003;82(12):976-981.

5.BECKER A, RUBART M, FIELD L. et coll.

Inducing Embryonic Stem Cells to Become Cardiomyocytes.

Regenerating the Heart. Edited, Humana Press; 2011: 7-24.

6.BLUTEAU G, LUDER HU, DE BARI C et coll.

Stem cells for tooth engineering.

Eur Cell Mater 2008;16:1-9.

7.BOSSHARDT DD et SELVIG KA.

Dental cementum: the dynamic tissue covering of the root.

Periodontol 2000 1997;13:41-75.

8.BUCHTOVA N, RETHORE G, BOYER C et coll.

Nanocomposite hydrogels for cartilage tissue engineering: mesoporous silica nanofibers interlinked with siloxane derived polysaccharide.

J Mater Sci Mater Med 2013;24(8):1875-1884.

9.BYERS MR et NARHI MV.

Dental injury models: experimental tools for understanding neuroinflammatory interactions and polymodal nociceptor functions.

Crit Rev Oral Biol Med 1999;10(1):4-39.

10.BYERS MR, SUZUKI H et MAEDA T.

Dental neuroplasticity, neuro-pulpal interactions, and nerve regeneration.

Microsc Res Tech 2003;60(5):503-515.

11.CAI J, ZHANG Y, LIU P et coll.

Generation of tooth-like structures from integration-free human urine induced pluripotent stem cells.

Cell Regeneration 2013;2(1):6.

12.CAM Y, NEUMANN MR et RUCH JV.

Immunolocalization of transforming growth factor β 1 and epidermal growth factor receptor epitopes in mouse incisors and molars with a demonstration of in vitro production of transforming activity.

Arch Oral Biol 1990;35(10):813-822.

13.CATE ART.

The role of epithelium in the development, structure and function of the tissues of tooth support.

Oral Diseases 1996;2(1):55-62.

14.CEBE-SUAREZ S, ZEHNDER-FJALLMAN A et BALLMER-HOFER K.

The role of VEGF receptors in angiogenesis; complex partnerships.

Cell Mol Life Sci 2006;63(5):601-615.

15.CHEN Y, BEI M, WOO I et coll.

Msx1 controls inductive signaling in mammalian tooth morphogenesis.

Development 1996;122(10):3035-3044.

16.COIN R, LESOT H, VONESCH JL et coll.

Aspects of cell proliferation kinetics of the inner dental epithelium during mouse molar and incisor morphogenesis: a reappraisal of the role of the enamel knot area.

Int J Dev Biol 1999;43(3):261-267.

17.CORDEIRO MM, DONG Z, KANEKO T et coll.

Dental pulp tissue engineering with stem cells from exfoliated deciduous teeth.

J Endod 2008;34(8):962-969.

- 18.COURA GS, GARCEZ RC, DE AGUIAR CB et coll.
Human periodontal ligament: a niche of neural crest stem cells.
J Periodont Res 2008;43(5):531-536.
- 19.CRANE JF, TRAINOR PA.
Neural crest stem and progenitor cells.
Ann Rev Cell Dev Biol 2006;22:267-286.
- 20.DALEY WP, PETERS SB, LARSEN M.
Extracellular matrix dynamics in development and regenerative medicine.
J Cell Sci 2008;121(Pt 3):255-264.
- 21.DANI C.
[Stem cells from human adipose tissue: a new tool for pharmacological studies and for clinical applications].
J Soc Biol 2006;200(1):45-50.
- 22.DIEKWISCH TG.
The developmental biology of cementum.
Int J Dev Biol 2001;45(5-6):695-706.
- 23.DOLLE P, PRICE M et DUBOULE D.
Expression of the murine Dlx-1 homeobox gene during facial, ocular and limb development.
Differentiation 1992;49(2):93-99.
- 24.DONOVAN PJ, GEARHART J.
The end of the beginning for pluripotent stem cells.
Nature 2001;414(6859):92-97.
- 25.DUAILIBI MT, DUAILIBI SE, YOUNG CS et coll.
Bioengineered teeth from cultured rat tooth bud cells.
J Dent Res 2004;83(7):523-528.
- 26.DUAILIBI SE, DUAILIBI MT, VACANTI JP et coll.
Prospects for tooth regeneration.
Periodontol 2000 2006;41:177-187.
- 27.DUAILIBI SE, DUAILIBI MT, ZHANG W et coll.
Bioengineered dental tissues grown in the rat jaw.

- J Dent Res 2008;87(8):745-750.
- 28.DUCY P, ZHANG R, GEOFFROY V et coll.
Osf2/Cbfa1: a transcriptional activator of osteoblast differentiation.
Cell 1997;89(5):747-754.
- 29.DVIR T, TIMKO BP, KOHANE DS et coll.
Nanotechnological strategies for engineering complex tissues.
Nat Nanotechnol 2011;6(1):13-22.
- 30.EGUSA H, SONOYAMA W, NISHIMURA M et coll.
Stem cells in dentistry--part I: stem cell sources.
J Prosthodont Res 2012;56(3):151-165.
- 31.FRANCIS-WEST P, LADHER R, BARLOW A et coll.
Signalling interactions during facial development.
Mech Dev 1998;75(1-2):3-28.
- 32.GALLER KM, D'SOUZA RN.
Tissue engineering approaches for regenerative dentistry.
Regen Med 2011;6(1):111-124.
- 33.GARCIA-GODOY F, MURRAY P.
Regenerative dentistry: translating advancements in basic science research to the dental practice.
J Tenn Dent Assoc 2010;90(4):12-18; quiz 18-19.
- 34.GAULT P, BLACK A, ROMETTE JL et coll.
Tissue-engineered ligament: implant constructs for tooth replacement.
J Clin Periodontol 2010;37(8):750-758.
- 35.GEBHARDT M, MURRAY PE, NAMEROW KN et coll.
Cell survival within pulp and periodontal constructs.
J Endod 2009;35(1):63-66.
- 36.GJOREVSKI N, NELSON CM.
Bidirectional extracellular matrix signaling during tissue morphogenesis.
Cytokine Growth Factor Rev 2009;20(5-6):459-465.
- 37.GOLONZHKA O, METZGER D, BORNERT J-M et coll.

Ctip2/Bcl11b controls ameloblast formation during mammalian odontogenesis.
 Proceed Nat Acad Sci 2009;106(11):4278-4283.

38.GOVINDASAMY V, RONALD VS, TOTTEY S et coll.
 Micromanipulation of culture niche permits long-term expansion of dental pulp stem cells--an economic and commercial angle.
 In Vitro Cell Dev Biol Anim 2010;46(9):764-773.

39.GRANTHOS S, BRAHIM J, LI W et coll.
 Stem cell properties of human dental pulp stem cells.
 J Dent Res 2002;81(8):531-535.

40.GRANTHOS S, MANKANI M, BRAHIM J et coll.
 Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo.
 Proc Natl Acad Sci U S A 2000;97(25):13625-13630.

41.GROVE JE, BRUSCIA E et KRAUSE DS.
 Plasticity of bone marrow-derived stem cells.
 Stem Cells 2004;22(4):487-500.

42.GUILAK F, COHEN DM, ESTES BT et coll.
 Control of stem cell fate by physical interactions with the extracellular matrix.
 Cell Stem Cell 2009;5(1):17-26.

43.HARADA H, KETTUNEN P, JUNG HS et coll.
 Localization of putative stem cells in dental epithelium and their association with Notch and FGF signaling.
 J Cell Biol 1999;147(1):105-120.

44.HIGUCHI K, SANTIWONG P, TAMAKI H et coll.
 Development and terminal differentiation of pulp and periodontal nerve elements in subcutaneous transplants of molar tooth germs and incisors of the rat.
 Eur J Oral Sci 2008;116(4):324-333.

45.HILDEBRAND C, FRIED K, TUISKU F et coll.
 Teeth and tooth nerves.
 Prog Neurobiol 1995;45(3):165-222.

46.HILL D.
 Toothless no more - Researchers using stem cells to grow new teeth.

<http://singularityhub.com/2012/05/10/toothless-no-more-researchers-using-stem-cells-to-grow-new-teeth/>

47.HU B, NADIRI A, BOPP-KUCHLER S et coll.

Dental epithelial histo-morphogenesis in the mouse: positional information versus cell history.

Arch Oral Biol 2005;50(2):131-136.

48.HU B, UNDA F, BOPP-KUCHLER S et coll.

Bone marrow cells can give rise to ameloblast-like cells.

J Dent Res 2006;85(5):416-421.

49.HUANG GT-J, GRONTHOS S et SHI S.

Mesenchymal Stem Cells Derived from Dental Tissues vs. Those from Other Sources: Their Biology and Role in Regenerative Medicine.

J Dent Res 2009;88(9):792-806.

50.HUANG XF, CHAI Y.

TGF-ss signalling and tooth development.

Chin J Dent Res 2010;13(1):7-15.

51.IKEDA E, MORITA R, NAKAO K et coll.

Fully functional bioengineered tooth replacement as an organ replacement therapy.

Proc Natl Acad Sci U S A 2009;106(32):13475-13480.

52.JERNVALL J, KETTUNEN P, KARAVANOVA I et coll.

Evidence for the role of the enamel knot as a control center in mammalian tooth cusp formation: non-dividing cells express growth stimulating Fgf-4 gene.

Int J Dev Biol 1994;38(3):463-469.

53.KIEFFER-COMBEAU S, MEYER JM et LESOT H.

Cell-matrix interactions and cell-cell junctions during epithelial histo-morphogenesis in the developing mouse incisor.

Int J Dev Biol 2001;45(5-6):733-742.

54.KIROUAC DC, MADLAMBAYAN GJ, YU M et coll.

Cell-cell interaction networks regulate blood stem and progenitor cell fate.

Mol Syst Biol 2009;5:293.

55.KOLF CM, CHO E et TUAN RS.

Mesenchymal stromal cells. Biology of adult mesenchymal stem cells: regulation of niche, self-renewal and differentiation.

Arthritis Res Ther 2007;9(1):204.

56.KOLLAR EJ, BAIRD GR.

Tissue interactions in embryonic mouse tooth germs: II. The inductive role of the dental papilla.

J Embryol Expe Morphol 1970;24(1):173-186.

57.KOYAMA N, OKUBO Y, NAKAO K et coll.

Evaluation of pluripotency in human dental pulp cells.

J Oral Maxillofac Surg 2009;67(3):501-506.

58.KUMABE S, NAKATSUKA M, KIM GS et coll.

Human dental pulp cell culture and cell transplantation with an alginate scaffold.

Okajimas Folia Anat Jpn 2006;82(4):147-155.

59.KURATANI S, MATSUO I et AIZAWA S.

Developmental patterning and evolution of the mammalian viscerocranium: genetic insights into comparative morphology.

Dev Dyn 1997;209(2):139-155.

60.LAMONERIE T, TREMBLAY JJ, LANCTOT C et coll.

Ptx1, a bicoid-related homeo box transcription factor involved in transcription of the pro-opiomelanocortin gene.

Genes Dev 1996;10(10):1284-1295.

61.LANGER R, VACANTI JP.

Tissue engineering.

Science 1993;260(5110):920-926.

62.LE DOUARIN N: Cellules souches et thérapie cellulaire. In: La lettre de l'Académie des sciences.

Paris; 2002: 4-5.

63.LINDE A:

Odontogenesis and craniofacial development.

Anders International Conference on Tooth Morphogenesis.

Copenhagen: Munksgaard, 1998.

64.LISI S, PETERKOVA R, PETERKA M et coll.

Tooth morphogenesis and pattern of odontoblast differentiation.

Connect Tissue Res 2003;44 Suppl 1:167-170.

65.LUMSDEN AG.

Spatial organization of the epithelium and the role of neural crest cells in the initiation of the mammalian tooth germ.

Development 1988;103 Suppl:155-169.

66.LUMSDEN AG, BUCHANAN JA.

An experimental study of timing and topography of early tooth development in the mouse embryo with an analysis of the role of innervation.

Arch Oral Biol 1986;31(5):301-311.

67.LUMSDEN AG, DAVIES AM.

Earliest sensory nerve fibres are guided to peripheral targets by attractants other than nerve growth factor.

Nature 1983;306(5945):786-788.

68.MAAS R, BEI M.

The genetic control of early tooth development.

Crit Rev Oral Biol Med 1997;8(1):4-39.

69.MAGLOIRE H, COUBLE ML, THIVICHON-PRINCE B et coll.

Odontoblast: a mechano-sensory cell.

J Exp Zool B Mol Dev Evol 2009;312B(5):416-424.

70.MARIA OM, KHOSRAVI R, MEZEY E et coll.

Cells from bone marrow that evolve into oral tissues and their clinical applications.

Oral Dis 2007;13(1):11-16.

71.MARYNKA-KALMANI K, TREVES S, YAFEE M et coll.

The Lamina Propria of Adult Human Oral Mucosa Harbors a Novel Stem Cell Population.

Stem Cells 2010;28(5):984-995.

72.MCCULLOCH CA.

Progenitor cell populations in the periodontal ligament of mice.

Anat Rec 1985;211(3):258-262.

73.MINA M, KOLLAR E.

The induction of odontogenesis in non-dental mesenchyme combined with early murine mandibular arch epithelium.

Arch Oral Biol 1987;32(2):123 - 127.

74.MITSIADIS T.

Bases moléculaires du développement dentaire.

La dent normale et pathologique.

De Boeck-Université Press:19-38.

75.MITSIADIS TA, SMITH MM.

How do genes make teeth to order through development?

J Exp Zool B Mol Dev Evol 2006;306(3):177-182.

76.MIURA M, GRONTHOS S, ZHAO M et coll.

SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth.

Proc Natl Acad Sci U S A 2003;100(10):5807-5812.

77.MODINO SA, SHARPE PT.

Tissue engineering of teeth using adult stem cells.

Arch Oral Biol 2005;50(2):255-258.

78.MORSCZECK C, MOEHL C, GOTZ W et coll.

In vitro differentiation of human dental follicle cells with dexamethasone and insulin.

Cell Biol Int 2005;29(7):567-575.

79.MURRAY PE, GARCIA-GODOY F.

Stem cell responses in tooth regeneration.

Stem Cells Dev 2004;13(3):255-262.

80.NAIT LECHGUER A, KUCHLER-BOPP S, HU B et coll.

Vascularization of engineered teeth.

J Dent Res 2008;87(12):1138-1143.

81.NAIT LECHGUER A, KUCHLER-BOPP S, LESOT H.

Crown formation during tooth development and tissue engineering.

J Experimental Zoo Part B Mol Dev Evol 2009;312B(5):399-407.

82.NAKAMURA S, YAMADA Y, KATAGIRI W et coll.

Stem cell proliferation pathways comparison between human exfoliated deciduous teeth and dental pulp stem cells by gene expression profile from promising dental pulp.

J Endod 2009;35(11):1536-1542.

83.NAKASHIMA M.

Bone morphogenetic proteins in dentin regeneration for potential use in endodontic therapy.

Cytokine Growth Factor Rev 2005;16(3):369-376.

84.NEWMAN SA, MULLER GB.

Epigenetic mechanisms of character origination.

J Exp Zool 2000;288(4):304-317.

85.NICHOLS JE, CORTIELLA J.

Engineering of a complex organ: progress toward development of a tissue-engineered lung.

Proc Am Thorac Soc 2008;5(6):723-730.

86.OBARA N, LESOT H.

Subcellular localization of beta-catenin and cadherin expression in the cap-stage enamel organ of the mouse molar.

Histochem Cell Biol 2004;121(4):351-358.

87.OGIER J

Principes fondamentaux et approches en ingénierie des tissus dentaires.

UFR Odontologie Strasbourg, 2010

89.OHAZAMA A, MODINO SA, MILETICH I et coll.

Stem-cell-based tissue engineering of murine teeth.

J Dent Res 2004;83(7):518-522.

90.OHSHIMA H.

Overview : Developmental Biology of Hertwig's Epithelial Root Sheath (HERS) and Tooth Root Formation.

J Oral Biosci 2008;50(3):147-153.

91.OHSHIMA H KS, HARADA H.

Use of the term apical bud to refer to the apical end of the continuously growing tooth.

Arch Comp Biol Tooth Enamel 2003;8:45-49.

92.OSBORN JW.

A cladistic interpretation of morphogenesis.

J Biol Buccale 1978;6(4):327-337.

93. OSHIMA M, MIZUNO M, IMAMURA A et coll.

Functional tooth regeneration using a bioengineered tooth unit as a mature organ replacement regenerative therapy.

PLoS One 2011;6(7):e21531.

94. PAPACCIO G, GRAZIANO A, D'AQUINO R et coll.

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):319-325.

95. PETERS H, NEUBUSER A et BALLING R.

Pax genes and organogenesis: Pax9 meets tooth development.

Eur J Oral Sci 1998;106 Suppl 1:38-43.

96. PIETTE E, GOLDBERG M:

La dent normale et pathologique

Bruxelles, De Boeck, 2001: 1-35

97. PISPA J, THESLEFF I.

Mechanisms of ectodermal organogenesis.

Dev Biol 2003;262(2):195-205.

98. PORNTAVEETUS T, OTSUKA-TANAKA Y, BASSON MA et coll.

Expression of fibroblast growth factors (Fgfs) in murine tooth development.

J Anat 2011;218(5):534-543.

99. PUCEAT M.

Embryonic stem cells to study early myocardial development and potential regenerative medicine.

Med Sci (Paris) 2005;21(12):1076-1082.

100. RAMSEIER CA, RASPERINI G, BATIA S et coll.

Advanced reconstructive technologies for periodontal tissue repair.

Periodontol 2000 2012;59(1):185-202.

101. RENARD E

Les cellules souches et la pulpe dentaire.

UFR Odontologie Nantes, 2005.

102.RODRIGUES MT, MARTINS A, DIAS IR et coll.

Synergistic effect of scaffold composition and dynamic culturing environment in multilayered systems for bone tissue engineering.

J Tissue Eng Regen Med 2012;6(10):e24-30.

103.RUCH JV.

Odontoblast commitment and differentiation.

Biochem Cell Biol 1998;76(6):923-938.

104.SCHELLER EL, KREBSBACH PH et KOHN DH.

Tissue engineering: state of the art in oral rehabilitation.

J Oral Rehabil 2009;36(5):368-389.

105.SCHMITT R, LESOT H, VONESCH JL et coll.

Mouse odontogenesis in vitro: the cap-stage mesenchyme controls individual molar crown morphogenesis.

Int J Dev Biol 1999;43(3):255-260.

106.SEO BM, MIURA M, GRONTHOS S et coll.

Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament.

Lancet 2004;364(9429):149-155.

107.SHARPE PT.

Homeobox genes and orofacial development.

Connect Tissue Res 1995;32(1-4):17-25.

108.SHI S, BARTOLD PM, MIURA M et coll.

The efficacy of mesenchymal stem cells to regenerate and repair dental structures.

Orthod Craniofac Res 2005;8(3):191-199.

109.SLOAN AJ, BAKER SM, SUGARS RV et coll.

TGF- β /Extracellular Matrix Interactions in Dentin Matrix: A Role in Regulating Sequestration and Protection of Bioactivity.

CalcifTissue Int 2009;85(1):66-74.

110.SLOAN AJ, SMITH AJ.

Stem cells and the dental pulp: potential roles in dentine regeneration and repair.

Oral Dis 2007;13(2):151-157.

111.SMITH AJ.

Tooth Tissue Engineering and Regeneration—a Translational Vision!

J Dent Res 2004;83(7):517.

112.SMITH AJ, CASSIDY N, PERRY H et coll.

Reactionary dentinogenesis.

Int J Dev Biol 1995;39(1):273-280.

113.SMITH AJ, LESOT H.

Induction and regulation of crown dentinogenesis: embryonic events as a template for dental tissue repair?

Crit Rev Oral Biol Med 2001;12(5):425-437.

114.SONoyAMA W, LIU Y, FANG D et coll.

Mesenchymal stem cell-mediated functional tooth regeneration in swine.

PLoS One 2006;1:e79.

115.STOCK DW, WEISS KM et ZHAO Z.

Patterning of the mammalian dentition in development and evolution.

Bioessays 1997;19(6):481-490.

116.SVEEN OB, HAWES RR.

Differentiation of new odontoblasts and dentine bridge formation in rat molar teeth after tooth grinding.

Arch Oral Biol 1968;13(12):1399-1409.

117.TAKAHASHI K, OKITA K, NAKAGAWA M et coll.

Induction of pluripotent stem cells from fibroblast cultures.

Nat Protoc 2007;2(12):3081-3089.

118.TAKEDA T, TEZUKA Y, HORIUCHI M et coll.

Characterization of dental pulp stem cells of human tooth germs.

J Dent Res 2008;87(7):676-681.

119.TENORIO D, HUGHES FJ.

An immunohistochemical investigation of the expression of parathyroid hormone receptors in rat cementoblasts.

Arch Oral Biol 1996;41(3):299-305.

120. THESLEFF I FAU - PARTANEN AM, PARTANEN AM FAU - VAINIO S, VAINIO S.
Epithelial-mesenchymal interactions in tooth morphogenesis: the roles of extracellular matrix, growth factors, and cell surface receptors.
J Craniofac Gen Dev Biol 1991(0270-4145 (Print)):229-237.
121. THISSE C, ZON LI.
Organogenesis--heart and blood formation from the zebrafish point of view.
Science 2002;295(5554):457-462.
122. THOMAS BL, TUCKER AS, QUI M et coll.
Role of Dlx-1 and Dlx-2 genes in patterning of the murine dentition.
Development 1997;124(23):4811-4818.
123. TISSIER-SETA JP, MUCCHIELLI ML, MARK M et coll.
Barx1, a new mouse homeodomain transcription factor expressed in cranio-facial ectomesenchyme and the stomach.
Mech Dev 1995;51(1):3-15.
124. TRUBIANI O, ORSINI G, ZINI N et coll.
Regenerative potential of human periodontal ligament derived stem cells on three-dimensional biomaterials: a morphological report.
J Biomed Mater Res A 2008;87(4):986-993.
125. UNIVERSITÉ
Gene expression in tooth
<http://bite-it.helsinki.fi/>
126. UNIVERSITÉS DE FRIBOURG LAUSANNE BS
Embryology.ch
<http://www.embryology.ch/francais/sdigestive/gesicht05.html>
127. VAAHTOKARI A, ABERG T et THESLEFF I.
Apoptosis in the developing tooth: association with an embryonic signaling center and suppression by EGF and FGF-4.
Development 1996;122(1):121-129.
128. VOLPONI AA, KAWASAKI M et SHARPE PT.
Adult human gingival epithelial cells as a source for whole-tooth bioengineering.

J Dent Res 2013;92(4):329-334.

129.VOLPONI AA, PANG Y et SHARPE PT.

Stem cell-based biological tooth repair and regeneration.

Trends Cell Biol 2010;20(12):715-722.

130.WANG Y, LI L, ZHENG Y et coll.

BMP Activity Is Required for Tooth Development from the Lamina to Bud Stage.

J Dent Res 2012;91(7):690-695.

131.WEN Y, WANG F, ZHANG W et coll.

Application of induced pluripotent stem cells in generation of a tissue-engineered tooth-like structure.

Tissue Eng Part A 2012;18(15-16):1677 - 1685.

132.WHANG K, TSAI DC, NAM EK et coll.

Ectopic bone formation via rhBMP-2 delivery from porous bioabsorbable polymer scaffolds.

J Biomed Mater Res 1998;42(4):491-499.

133.YAGYUU T, IKEDA E, OHGUSHI H et coll.

Hard tissue-forming potential of stem/progenitor cells in human dental follicle and dental papilla.

Arch Oral Biol 2010;55(1):68-76.

134.YAO S, PAN F, PRPIC V et coll.

Differentiation of stem cells in the dental follicle.

J Dent Res 2008;87(8):767-771.

135.YEN AH, SHARPE P.

Stem cells and tooth tissue engineering.

Cell Tissue Res 2008;331(1):359-372.

136.YEN AH, YELICK PC.

Dental tissue regeneration - a mini-review.

Gerontology 2011;57(1):85-94.

137.YOKOI T, SAITO M, KIYONO T et coll.

Establishment of immortalized dental follicle cells for generating periodontal ligament in vivo.

Cell Tissue Res 2007;327(2):301-311.

138.YOSHIBA K, YOSHIBA N, ABERDAM D et coll.

Expression and localization of laminin-5 subunits during mouse tooth development.

Dev Dynamics 1998;211(2):164-176.

139.YOUNG CS, TERADA S, VACANTI JP et coll.

Tissue engineering of complex tooth structures on biodegradable polymer scaffolds.

J Dent Res 2002;81(10):695-700.

140.ZHANG Q, SHI S, LIU Y et coll.

Mesenchymal stem cells derived from human gingiva are capable of immunomodulatory functions and ameliorate inflammation-related tissue destruction in experimental colitis.

J Immunol 2009;183(12):7787-7798.

SARI (Malik). - La reconstruction de l'organe dentaire par ingénierie tissulaire : nouvelle perspective thérapeutique ?- 102 f. ; 37 ill. ; 1 tabl. ; 140 ref. ; 30cm (Thèse : Chir. Dent. ; Nantes ; 2014)

RESUME :

De nos jours, il existe trois moyens de remplacer une dent manquante : la prothèse dentaire conventionnelle, la prothèse implantaire, et l'auto-transplantation. L'émergence de l'ingénierie tissulaire, domaine de la médecine régénérative, a permis l'ouverture d'une nouvelle voie dans la thérapeutique de remplacement d'un organe dentaire. En effet, grâce à la connaissance approfondie des étapes du développement dentaire, et aux progrès réalisés en ingénierie tissulaire dentaire, il est actuellement possible de régénérer un organe dentaire complet et fonctionnel dans le modèle animal. Pour transposer cela un jour à l'Homme, il faudra que tous les paramètres soient parfaitement connus et mis au point, ce qui constituera une des plus grandes avancées dans notre profession.

RUBRIQUE DE CLASSEMENT : Biologie

MOTS CLES MESH :

Ingénierie tissulaire - Tissue engineering

Cellules souches - Stem Cells

Développement dentaire - Tooth development

JURY :

Président :	Madame le Professeur Brigitte ALLIOT-LICHT
<u>Directeur de thèse :</u>	Madame le Docteur Serena LOPEZ-CAZAUX
Assesseur :	Monsieur le Professeur Pierre WEISS
Assesseur :	Monsieur le Docteur Zahi BADRAN

ADRESSE DE L'AUTEUR

4 rue de coulmiers - 44000 Nantes

alstrek37@gmail.com