

Année : 2021

N° 3770

LA RÉGÉNÉRATION PULPAIRE CHEZ L'HOMME : LES AVANCÉES CLINIQUES

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE
DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE

*Présentée
et soutenue publiquement par*

**COCHARD Nicolas
(Né le 10/03/1996)**

Le 2 décembre 2021 devant le jury ci-dessous

Présidente : Madame le Professeur Brigitte ALLIOT-LICHT

Assesseur : Monsieur le Docteur Tony PRUD'HOMME

Assesseur : Monsieur le Docteur Samuel SERISIER

Directrice de thèse : Madame le Docteur Emmanuelle RENARD

UNIVERSITE DE NANTES	
<u>Président</u> Pr BERNAULT Carine	 UNIVERSITE DE NANTES
FACULTE DE CHIRURGIE DENTAIRE	
<u>Doyen</u> Pr SOUEIDAN Assem <u>Assesseurs</u> Dr GAUDIN Alexis Pr LE GUEHENNEC Laurent Pr LESCLOUS Philippe	 Faculté de Chirurgie Dentaire NANTES

PROFESSEURS DES UNIVERSITES PRATICIENS HOSPITALIERS DES C.S.E.R.D.	
Mme ALLIOT-LICHT Brigitte M. AMOURIQ Yves Mme CHAUX Anne-Gaëlle M. LABOUX Olivier	Mme LOPEZ Serena Mme PEREZ Fabienne M. WEISS Pierre
PROFESSEURS DES UNIVERSITES	
M. BOULER Jean-Michel	
MAITRE DE CONFERENCES DES UNIVERSITES	
Mme VINATIER Claire	
PROFESSEURS EMERITES	
M. GIUMELLI Bernard	M. JEAN Alain
ENSEIGNANTS ASSOCIES	
M. GUIHARD Pierre (Professeur Associé)	M. BANDIAKY Octave (Assistant Associé)
Mme LOLAH Aoula (Assistant Associé)	
MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES PRATICIENS HOSPITALIERS DES C.S.E.R.D.	ASSISTANTS HOSPITALIERS UNIVERSITAIRES DES C.S.E.R.D.
M. AMADOR DEL VALLE Gilles Mme ARMENGOL Valérie Mme BLERY Pauline M. BODIC François Mme CLOITRE Alexandra Mme DAJEAN-TRUTAUD Sylvie M. DENIS Frédéric Mme ENKEL Bénédicte M. HOORNAERT Alain Mme HOUCHMAND-CUNY Madline Mme JORDANA Fabienne M. LE BARS Pierre M. NIVET Marc-Henri M. PRUD'HOMME Tony Mme RENARD Emmanuelle M. RENAUDIN Stéphane M. STRUILLLOU Xavier M. VERNER Christian	M. ALLIOT Charles Mme ARRONDEAU Mathilde Mme CLOUET Roselyne M. EVRARD Lucas M. GUIAS Charles M. GUILLEMIN Maxime Mme HASCOET Emilie Mme HEMMING Cécile M. HIBON Charles M. KERIBIN Pierre Mme OYALLON Mathilde Mme QUINSAT Victoire Eugenie M. REMAUD Matthieu M. RETHORE Gildas M. SERISIER Samuel Mme TISSERAND Lise
PRATICIENS HOSPITALIERS	
Mme DUPAS Cécile	Mme HYON Isabelle

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

REMERCIEMENTS

ALLIOT-LICHT Brigitte

Professeur des Universités - Praticien Hospitalier des Centres de Soins d'Enseignement et de Recherche Dentaires

Docteur de l'Université de Nantes

Habilitée à Diriger les Recherches

Département de Sciences Biologiques

- NANTES -

« Merci de m'avoir fait l'honneur de présider le jury de cette thèse.

Merci pour votre enseignement ainsi que de votre écoute depuis ma PACES en 2015.

Merci pour vos conseils avisés, vos disponibilités et votre réactivité lors de l'élaboration de cette thèse.

Veillez trouver ici l'expression de ma gratitude et de mon profond respect. »

RENARD Emmanuelle

Maître de Conférences des Universités - Praticien Hospitalier des Centres de Soins
d'Enseignement et de Recherche Dentaires
Docteur de l'Université de Nantes
Ancien Interne des Hôpitaux de Nantes
Département de Sciences Biologiques

- NANTES -

« Merci de m'avoir fait l'honneur de prendre la direction de cette thèse.

*Merci pour votre intéressement, vos conseils avisés, vos disponibilités, votre
réactivité et votre patience tout au long de cette thèse.*

*Merci pour votre enseignement pendant vos vacations cliniques où j'ai pu vous
assister.*

*Veillez trouver ici l'expression de ma gratitude, de mon estime et de ma
profonde reconnaissance. »*

PRUD'HOMME Tony

Maître de Conférences des Universités

Docteur de l'Université de Nantes

Praticien Hospitalier des Centres de Soins d'Enseignement et de Recherche

Dentaires Département d'Odontologie Pédiatrique

- NANTES -

« Merci de m'avoir fait l'honneur de participer à ce jury de thèse.

*Merci pour votre sympathie, votre enseignement et vos conseils pendant ces
années d'étude.*

Veillez trouver ici l'expression de ma sincère reconnaissance. »

SERISIER Samuel

Assistant Hospitalier Universitaire des Centres de Soins d'Enseignement et de Recherche
Dentaires
Département de Sciences Biologiques

- NANTES -

*« Merci de m'avoir fait l'honneur de participer à ce jury de thèse. Veuillez
trouver ici l'expression de ma gratitude et de mon respect. »*

SOMMAIRE

I. INTRODUCTION	9
II - LES CELLULES SOUCHES DE L'INGENIERIE TISSULAIRE PULPAIRE	14
2.1 : Les cellules souches des dents lactéales (SHEDs)	14
2.2 : Les « Mobilized dental pulp stem cells » (MDPSCs).....	16
2.3 : Les conditions GMP.....	19
2.3.1 : Importance du choix du sérum de culture :	21
2.3.2 : Importance de la concentration d'oxygène dans le milieu de culture :	22
2.3.3 : Notion de « banking » des cellules souches utilisées en ingénierie pulpaire :	23
III. FACTEUR DE CROISSANCE	23
3.1 : Le G-CSF :	25
IV. LE SCAFFOLD :	26
V. DÉSINFECTION DU CANAL DENTAIRE :	28
5.1 : L'instrumentation :	28
5.2 : La désinfection :	29
5.2.1 : Les solutions d'irrigation :	29
5.2.3 : Les produits d'interséance :	32
VI- L'INGÉNIERIE TISSULAIRE PULPAIRE CHEZ L'HOMME :	34
6.1. Protocole de l'essai clinique de régénération pulpaire de Nakashima et al. (2017) :	34
6.2. Protocole de l'essai clinique de régénération pulpaire de Xuan et al. (2018) :	37
6.3 : Méthodes d'évaluation de la régénération pulpaire :	40
6.4 : Résultats de la transplantation de MDSPC chez l'homme :	42
6.5 : Résultats de la transplantation de SHEDs chez l'homme :	45
VII. PERSPECTIVES :	49
VIII. CONCLUSION :	52
BIBLIOGRAPHIE :	53
INDEX DES ILLUSTRATIONS :	62
INDEX DES TABLEAUX :	64

I. INTRODUCTION

La dent est un organe complexe composé de plusieurs strates de tissus : la pulpe, la dentine, l'émail (au niveau de la couronne) et le cément (le long de la racine). La pulpe représente le cœur de la dent. Le maintien de la fonction pulpaire est indispensable pour l'homéostasie dentaire. En effet, sans elle, la dent se déshydrate, elle perd ses capacités de défense, la production de dentine secondaire est stoppée et les sensations thermiques, mécaniques et nociceptives diminuent. Les dents dont la pulpe dentaire est nécrosée ont tendance à être plus fragiles et susceptibles à la fracture en cas de traumatisme. (1)

La pulpe physiologique est un tissu conjonctif lâche, vascularisé et innervé, qui se localise dans la chambre pulpaire et dans les canaux radiculaires d'une dent. Elle est entourée par la dentine. L'espace pulpaire est spécifique de la forme de la dent. Par exemple dans le cas d'une molaire, en regard des cuspidés, des excroissances sont présentes et appelées cornes pulpaires. L'espace pulpaire se termine par le foramen apical au niveau de l'apex radiculaire. Ce foramen apical constitue la principale communication entre le tissu pulpaire et les tissus péri-apicaux. (2)

On distingue 4 zones histologiques dans la pulpe : (3), (Figure 1)

- La couche odontoblastique en périphérie
- La zone acellulaire de Weil sous-jacente aux odontoblastes
- Une zone riche en cellules
- Une zone centrale où les cellules majoritaires sont les fibroblastes

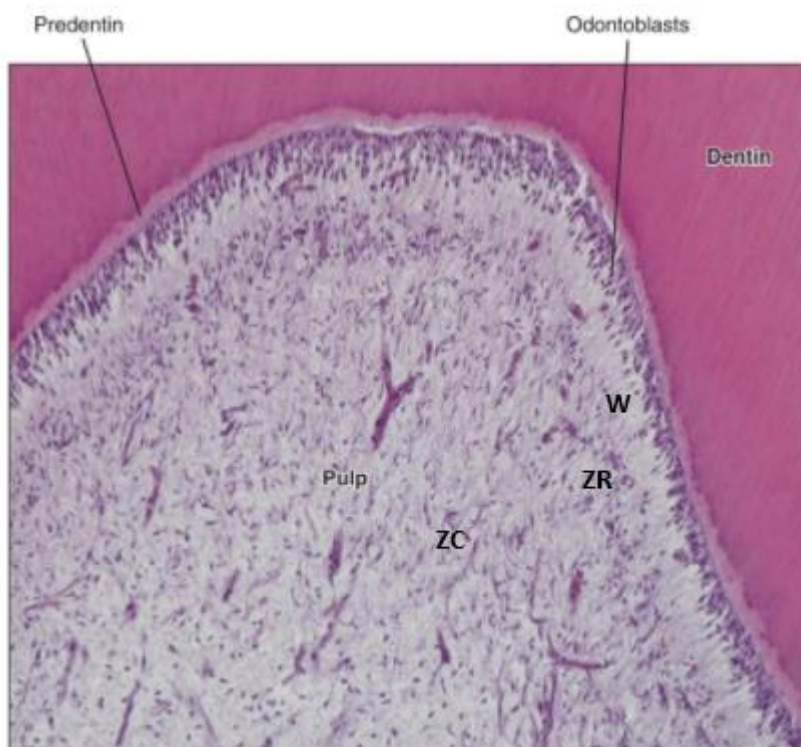


Figure 1: Coupe histologique du complexe dentino-pulpaire. (W) zone acellulaire de Weil, (ZR) zone riche en cellules, (ZC) zone centrale. (3)

La pulpe a de multiples fonctions qui sont assurées par les cellules et les structures qui la composent.

- Elle a une fonction d'élaboration de la dentine et de cicatrisation grâce aux odontoblastes. Ces cellules sont réparties de manière à former une palissade le long de la paroi dentinaire en périphérie de la pulpe. Ces cellules ont pour rôle la formation de la dentine primaire jusqu'à la fin de la formation des racines (apexogenèse) puis de la dentine secondaire tout au long de la vie. L'odontoblaste est une cellule bien différenciée, post-mitotique, donc incapable de se diviser. Elle est composée d'un corps cellulaire polarisé et un prolongement odontoblastique inséré dans les tubuli dentinaires. (2) En cas d'agression bactérienne / iatrogène / traumatique modérée, les odontoblastes synthétisent la dentine tertiaire dite réactionnelle, mais lorsque l'agression est plus importante les odontoblastes meurent et les cellules de Höhl, des cellules souche pulpaire ou des cellules pulpaire indifférenciées peuvent se différencier en odontoblastes-like, cellules capables de synthétiser de la dentine réparatrice pour protéger la pulpe résiduelle de l'agression. Ces dentines tertiaires sont histologiquement différentes de la dentine primaire ou secondaire. Elle peut avoir des inclusions cellulaires et n'est pas organisée en tubuli dentinaires.
- La pulpe dentaire a une fonction sensitive par sa composante nerveuse. L'innervation de la dent est double : sensitive et neurovégétative. Elle pénètre la dent par le foramen apical et suit le trajet des vaisseaux sanguins. Elle se termine en d'innombrables fibres nerveuses amyéliniques dans la zone acellulaire de Weil constituant le plexus sous odontoblastique ou plexus de Rashkow. (2) Les fibres nerveuses pulpaire jouent un rôle clé dans la régulation du débit sanguin et elles contribuent à l'apparition de la douleur (fibres nociceptives), l'angiogenèse et à l'extravasation des cellules immunitaires. (4) Certaines fibres pénètrent dans les tubuli dentinaires et sont en contact étroit avec les prolongements odontoblastiques.
- La pulpe permet l'hydratation de la dentine via les vaisseaux sanguins. (4) C'est un tissu richement vascularisé, environ 15 % du volume pulpaire est occupé par les vaisseaux sanguins. Ses vaisseaux pénètrent dans la pulpe par le foramen apical. Le réseau vasculaire se ramifie en capillaires de type fenêtré à proximité des odontoblastes ce qui permet une meilleure diffusion des nutriments et l'arrivée des cellules immunitaires au plus près de l'infection. Le retour veineux se fait également par le foramen apical. Les vaisseaux sanguins sont constitués de cellules endothéliales qui délimitent la lumière du vaisseau, de péricytes qui ont certaines capacités similaires aux cellules souches et de cellules musculaires lisses qui gèrent la vasomotricité. (2) La pulpe dentaire contient aussi un riche réseau lymphatique qui se draine au niveau des ganglions lymphatiques sous mandibulaires, parotidiens, submandibulaires, géniaux et submentaux. La vascularisation pulpaire a donc un rôle nutritif, d'apport d'oxygène, d'élimination des déchets métaboliques et d'hydratation de la dentine.
- La pulpe a aussi les moyens de se défendre contre les agressions grâce à l'émail et la dentine qui constitue une barrière physique mais également grâce aux odontoblastes et les cellules immunitaires qui la compose. D'après Durand et al. en 2006 (5), les odontoblastes permettraient le recrutement des cellules dendritiques en sécrétant des cytokines. Les cellules dendritiques vont projeter leurs prolongements cytoplasmiques, appelés dendrites entre les odontoblastes et vers le centre de la pulpe où elles seront en relation étroite avec le système vasculo-nerveux. Elles participent à l'immuno-surveillance de la pulpe car ce sont des cellules présentatrices d'antigènes. Les macrophages sont des cellules phagocytaires et présentatrices d'antigènes. Elles

assurent l'immuno-surveillance de la pulpe et éliminent les cellules mortes dans une pulpe saine et les bactéries dans une pulpe inflammatoire (réponse immunitaire innée). Les cellules dendritiques et les macrophages constituent environ 8% de la population totale des cellules pulpaire. Des lymphocytes T sont également présents au sein de la pulpe. Ils reconnaissent les antigènes qui leur sont présentés et vont déclencher la réponse immunitaire adaptative (aussi appelée acquise ou spécifique). (3)

- La matrice extra-cellulaire (MEC) de la pulpe est constitué principalement de collagène synthétisé par les fibroblastes et de substance fondamentale. Les MEC sert de support aux cellules et agit comme un milieu de transport des nutriments, des métabolites et des débris cellulaires entre les cellules et le système vasculaire. (3) Les fibres de collagènes ont un rôle structural et celles présentes dans la pulpe sont surtout le collagène de type I et III. La substance fondamentale est composée de glycosaminoglycanes, de glycoprotéines (comme la fibronectine), de l'élastine, de métallo-protéases matricielles (MMP) et d'eau. (6)

Ces fonctions permettent d'avoir une réponse adaptée face aux agressions que subit la dent tout au long de sa vie, elles doivent être idéalement toutes rétablies au cours de la régénération pulpaire. Les thérapeutiques de régénération pulpaire vont intervenir dans les contextes suivants : lors d'une pulpite irréversible ou d'une nécrose pulpaire par conséquent lorsque toute ou une partie de la pulpe est condamnée. Elles vont avoir pour objectif de créer un nouveau tissu vivant dans la cavité pulpaire avec les caractéristiques les plus proches possibles du tissu pulpaire d'origine.

Au cours des deux dernières décennies, l'ingénierie tissulaire a fait un énorme bon en avant. Le début des années 2000 a été marqué par une augmentation des recherches et des connaissances sur les cellules souches qui vont poser les bases de l'ingénierie tissulaire. En effet, l'ingénierie tissulaire repose sur 3 grands éléments clé : les cellules souches, les facteurs de croissance et un échafaudage (= scaffold, terme que nous utiliserons dans cette thèse car c'est un anglicisme communément utilisé en langue française). (7)

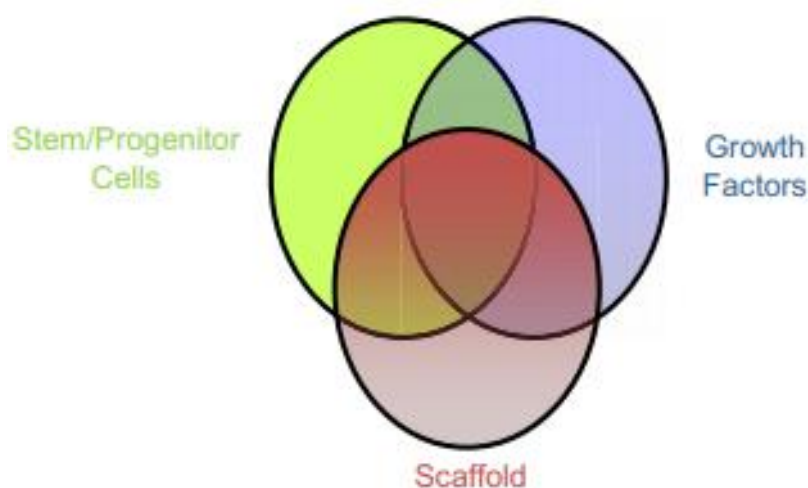


Figure 2 : Les trois composants principaux de l'ingénierie tissulaire. (7)

La régénération pulpaire (ou ingénierie tissulaire pulpaire) est donc la transplantation de cellules souches exogènes dans le système de canalaire de l'hôte pour permettre la régénération d'un tissu pulpaire fonctionnel. Les cellules transplantées sont soit collectées à partir de l'hôte (transplantation autologue), soit à partir d'un individu de la même espèce (transplantation allogénique). L'objectif est donc de régénérer une pulpe dans tout l'espace du canal radiculaire ainsi que dans la chambre pulpaire. (8) Aujourd'hui, deux équipes de chercheurs sont arrivés au stade d'essais cliniques chez l'homme.

- Nakashima et al. 2017 ont transplanté chez 5 patients (entre 20 et 55 ans) des « Mobilized Dental Pulp Stem Cells » (MDPSCs) autologues encapsulées dans un scaffold à base d'atélocollagène enrichi avec le facteur de croissance G-CSF après avoir au préalable dépulpées les dents qui étaient soit en pulpite irréversible soit en nécrose pulpaire avec une parodontite apicale. (9)
- Xuan et al. 2018, décrivent une étude débutée en juin 2013 concernant la transplantation autologue de cellules souches pulpaires prélevées sur des dents lactéales (SHEDs), dans des incisives permanentes immatures chez 30 patients âgés de 7 à 12 ans. (10)

Cette thèse s'intéressera uniquement aux travaux de ces deux équipes et ne développera que les cellules et matériaux transplantés dans ces études cliniques ainsi qu'au protocole clinique utilisé. La *figure 3* résume la chronologie des étapes qui ont été nécessaires à l'équipe de Nakashima pour permettre le passage de l'expérimentation animale à l'étude chez l'homme, étapes qui ne seront pas détaillées dans cette thèse.

2000	-Gronthos et Al. : Premier article parlant des DPSCs. (20)
2003	-Mise en place des principes d'ingénierie tissulaire pour une utilisation dentaire : (97), (98), (99), (4), (53), (100) Nakashima étudie plusieurs idées d'application : - « Stem cells therapy » - « Gene therapy » : - « In Vivo Gene therapy » - « Ex Vivo Gene therapy »
2005	-Nakashima recherche l'utilité des facteurs de croissance de la famille des BMP (« Bone Morphogenetic Proteins ») sur la différenciation odontoblastique des cellules souches pulpaire pour une utilisation endodontique. (101)
2006	-Iohara et Al. : Premier article sur les cellules souches « side population ». (102)
2008	-Optimisation de la sous-population de cellules souches SP : cellules SP CD 31-/ CD 146-. (24)
2009	-Transplantation de cellules SP CD 31-/ CD 146- dans une dent de chien. (103) -Populations cellulaires avec du potentiel pour la régénération pulpaire : les cellules SP CD 31-/ CD 146- et les cellules CD 105+. (30)
2011	-Transplantation de cellules souches CD 105+ avec du SDF-1 chez le chien. (25)
2012	-Comparaison entre les cellules SP de la pulpe, du tissu adipeux et de la moelle osseuse pour la régénération pulpaire. (26), (33)
2013	-Murakami et Al. : Premier article sur l'isolation de MDPSC grâce au G-CSF. (27) -Transplantation de MDPSC dans une dent de chien. (28)
2014	-Influence du vieillissement sur la performance de DPSC et MDPSC. (87), (88) -Initiation d'un essai clinique de transplantation de MDPSC pour la régénération pulpaire. (29) -Comparaison entre les MDPSC, MBMSC et MADSC. (86) -L'effet trophique des cellules souches pulpaire sur leur milieu conditionné. (86) -Optimisation de la différenciation odontoblastique des DPSC par des forces mécaniques. (104)
2016	-Optimisation du traitement endodontique : utilisation d'EDTA. (46) -Optimisation du milieu de culture de DPSC : pH et milieu hypoxique. (105), (40) -Recherche d'une méthode objective et non invasive pour évaluer la régénération pulpaire : IRM. (77), (80)
2017	-Nakashima et Al. : Etude clinique pilote chez l'Homme pour la régénération total de la pulpe ; transplantation de MDSPC + G-CSF + atélocollagène. (9), (31)
2018	-Transplantation allogénique de MDPSC chez le chien. (12)
2020	-Optimisation du traitement endodontique : utilisation de trypsine. (32) -Optimisation du traitement endodontique : utilisation de nanobulle pour délivrer les agents anti-microbiens. (59)
2021	-Zayed et Al. : Premier article pour comparer les hpDPSCs au MDPSCs pour un traitement de régénération pulpaire. (96)

Figure 3: Chronologie des recherches à l'origine de l'essai clinique de Nakashima et son équipe.

II - LES CELLULES SOUCHES DE L'INGENIERIE

TISSULAIRE PULPAIRE

Le premier élément de l'ingénierie tissulaire est de disposer d'une source de cellules capables de se différencier dans le phénotype tissulaire souhaité. Les cellules souches habituellement utilisées pour la régénération pulpaire sont les cellules souches de la pulpe adulte (DPSC) et ses sous-populations, les cellules de la papille apicale (SCAP), les cellules des dents lactéales exfoliées (SHED). Ce sont des cellules souches mésenchymateuses (CSM). Elles partagent les fonctions principales des cellules souches c'est-à-dire auto-renouvellement et la capacité à se différencier dans plusieurs lignées cellulaires. Elles expriment un profil antigénique et l'expression génique commune aux CSMs permettant de les identifier. Hormis les SCAPs qui sont localisées au niveau de la papille apicale, les DPSCs et SHEDs sont retrouvées dans les régions périvasculaires de la pulpe. (11) Les CSMs ont une faible immunogénicité et des propriétés immunomodulatrices et immunosuppressives. Ces propriétés viennent du fait qu'elles expriment peu de complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe II. C'est un avantage, car lors d'une transplantation (surtout allogénique) d'une greffe composée de CSMs, la réponse du receveur sera moins forte et le risque de rejet du greffon plus faible. Il est possible de s'affranchir plus facilement de la difficulté à trouver un donneur compatible comme pour la greffe d'un organe. (12)

2.1 : Les cellules souches des dents lactéales (SHEDs)

Les SHEDs sont les cellules souches de la pulpe des dents lactéales. En 2018, Xuan et al. (10) publient un article scientifique où ils ont réalisé une transplantation de SHEDs dans des incisives permanentes en nécrose pulpaire suite à un traumatisme. Elles sont obtenues pour la première fois Miura et al. en 2003 (13). Elles ont été isolées des pulpes de dents temporaires par digestion enzymatique. La pulpe a été placée dans une solution de 3mg/ml de collagénase de type I et de 4mg/ml de dispase pendant 1 heure à 37° C. Ils ont obtenu des suspensions unicellulaires qu'ils ont ensemencées dans un milieu de culture « alpha modification eagle's medium » (α -MEM) avec 20% du sérum de vœux/bovin fœtal (FSB), 100 μ M d'acide L-ascorbic2-phosphate, 2mM de L-glutamine, 100 unités/ml de pénicilline et 100 μ g/ml de streptomycine à 37° C et dans 5% de CO₂.

Les SHEDs ont de nombreuses caractéristiques et ont un bon potentiel pour la régénération pulpaire :

- Les SHEDs ont les caractéristiques des CSMs avec une capacité élevée de prolifération et d'auto-renouvellement. (14), (15)
- Les SHEDs expriment des marqueurs comme STRO-1, SSEA4, CD 29, CD73, CD 90, CD 146, CD 105, CD166 présent chez les CSMs mais n'expriment pas CD 34 et CD 45. (13), (10), (14), (16), (*Figure 4*) Elles présentent également des marqueurs comme ALP, MEPE, BFGF, Runx2, DSP, ostéocalcine, vimentin et endostatine et des marqueurs neuronaux comme NeuN, Nestin et β III-tubuline. (13), (10), (14), (16)

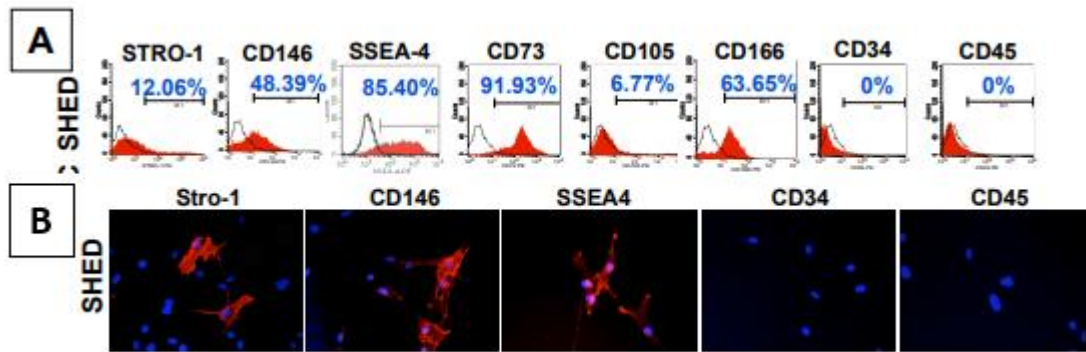


Figure 4: (A) L'analyse par cytométrie de flux de culture SHED au 3^{ème} passage a révélé l'expression de STRO-1 (12,06 %), CD146 (48,39 %), SSEA4 (85,40 %), CD73 (91,93 %), CD105 (6,77 %), CD166 (63,65 %), mais était négatif pour les molécules de surface CD34 et CD45. Ces signaux sont représentés par la zone rouge. Les lignes pleines indiquent des signaux pour les anticorps de contrôle appariés à l'isotype. (B) L'immunofluorescence a confirmé que SHED exprime STRO-1, CD146 et SSEA4 ainsi que négatif pour CD34 et CD45. La fluorescence rouge indique l'expression des marqueurs de la surface cellulaire. Les noyaux des cellules bleues ont été colorés par DAPI. (14)

- Les SHEDs ont un potentiel de différenciation ostéo/odontoblastique. (13), (14), (10), (17) Dans des condition de différenciation ostéogénique grâce à du BMP-4, Yamaza et al. en 2010 (14) obtiennent des SHEDs avec un potentiel de différenciation similaire aux cellules souches de la moelle osseuse (BMMSC). (Figure 5) Sakai et al. en 2010 (17) ont montré que les SHEDs sont capables de se différencier en odontoblaste fonctionnel et de produire de la dentine tubulaire *in vivo* dans des souris SCID (souris humanisées). (Figure 6)

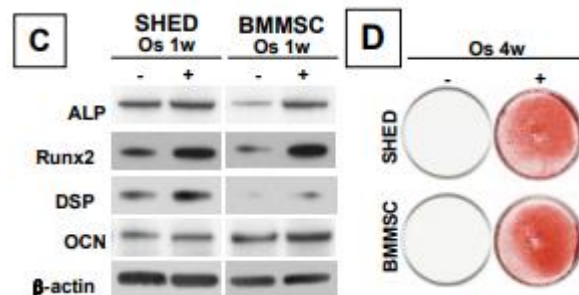


Figure 5: Après une semaine d'induction de culture dans des conditions ostéogéniques, l'activité ALP et le nombre de cellules positives ALP dans SHED et BMMSC étaient significativement plus élevés que ceux des SHED et BMMSC témoins, respectivement, par coloration ALP. La β-actine a été utilisée comme contrôle interne. (C) L'analyse par immunoempreinte a montré que l'induction ostéogénique élève les niveaux d'expression d'ALP, Runx2, DSP et OCN dans SHED et BMMSC. (D) Après quatre semaines d'induction ostéogénique, SHED a montré sa capacité à former des nodules minéralisés comme montré par la coloration au rouge alizarine. (14)

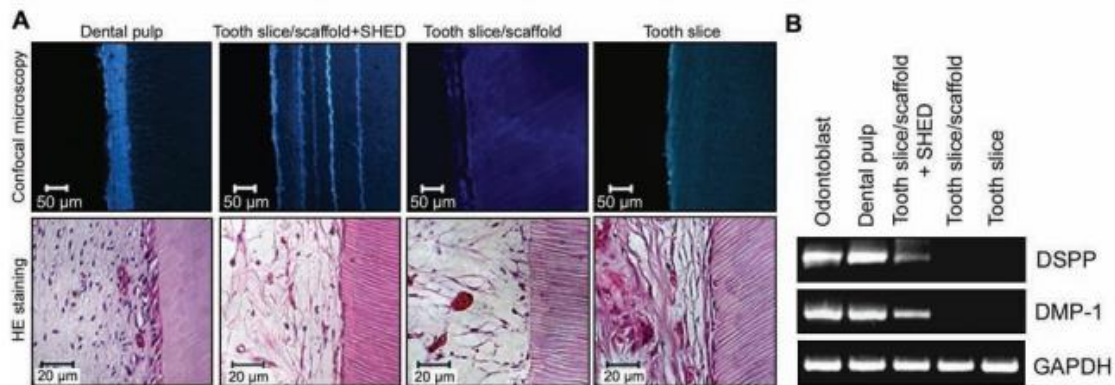


Figure 6: SHED se différencie en odontoblastes fonctionnels qui génèrent une nouvelle dentine tubulaire *in vivo*. (A) Photographies en microscopie confocale (rangée du haut) et coloration à l'hématoxyline et à l'éosine (rangée du bas) réalisées dans des échantillons prélevés sur des souris SCID, 32 jours après l'implantation. (B) Analyse RT-PCR de l'expression de l'ARNm DSPP et DMP-1 sur les tissus récupérés de la chambre pulpaire des tranches de dents des 4 groupes expérimentaux 32 jours après transplantation. Les témoins positifs étaient des odontoblastes récupérés de troisièmes molaires humaines. (17)

- Les SHEDs ont également un potentiel de différenciation neurogène, adipogène et angiogène si elles sont cultivées dans un milieu inducteur adéquat. (13), (14), (16), (17), (15), (18) Sakai et al. en 2010 (17) ont montré que les SHEDs étaient capables de se différencier en cellules endothéliales et de former des vaisseaux sanguins fonctionnels pouvant se lier au système vasculaire de l'hôte.
- Les SHEDs sont prélevées sur un tissu « jetable » et facilement accessible chez les jeunes patients, c'est-à-dire des dents caduques exfoliées. (19), (15)

2.2 : Les « Mobilized dental pulp stem cells » (MDPSCs)

Les cellules souches pulpaires adultes (DPSCs) ont été isolées pour la première fois par Gronthos et al. en 2000. (20) Dans le protocole de régénération pulpaire chez l'Homme de Nakashima et al. en 2017 (9), les DPSCs ont été isolées des pulpes dentaires issues de dents de sagesse par digestion enzymatique. La pulpe est découpée en petits morceaux qui sont placés en présence de 0.04 mg/ml de libérase pendant 30 minutes à 37 °C. Cependant, les méthodes de digestion enzymatique ne permettent pas d'obtenir une population pure de cellules. (21) Nakashima et son équipe ont cherché une procédure d'isolation de sous-population pure de DPSCs. La première qu'ils ont testée était basée sur l'utilisation de SDF-1 (= CXCL12), une chimokine avec des capacités chimiotactiques qui permet d'attirer les cellules exprimant le récepteur CXCR4. (22), (23) Certaines de ces DPSCs, expriment CXCR4. La méthode s'est donc avérée efficace. (24), (25), (26) Cependant, l'isolation de DPSCs sélectionnées par SDF-1 n'est pas approuvée pour une utilisation clinique (norme GMP, voir plus loin). (27) Ainsi, en 2013, Nakashima et ses collaborateurs ont mis au point une alternative avec l'utilisation de G-CSF (facteur de stimulation des colonies de granulocytes) dont l'utilisation répond aux normes pour une utilisation clinique et est validée par la « Food and Drug Administration » pour une utilisation clinique. Cette méthode permet d'isoler les DPSCs en les mobilisant par le G-CSF ce qui permet d'obtenir une sous-population de cellules avec une forte expression de récepteur au G-CSF (G-CSFR) ce sont les « Mobilized Dental Pulp Stem Cells » (MDPSCs). (27), (Figure 7)

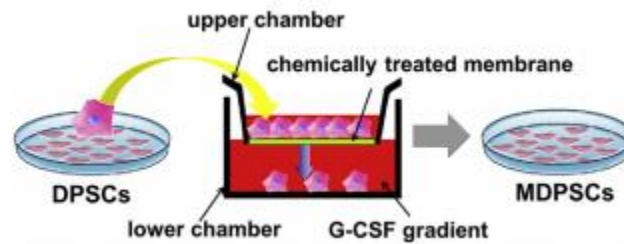


Figure 7: Diagrammes schématiques démontrant la méthode d'isolation des cellules souches mobilisées de la pulpe dentaire (MDPSC) à partir de cellules souches de la pulpe dentaire (DPSC) dérivées de colonies. (29)

Murakami et al. 2013 ont cherché les conditions optimales d'isolation et de culture des MDPSCs en faisant varier trois paramètres : le nombre de cellules, le temps d'incubation et la concentration de G-CSF. Ils ont conclu que le nombre de cellules optimales est de 2×10^4 cells/100 μ l, le temps d'incubation de 48h et la concentration de G-CSF de 100ng/ml. (27) Ces conditions permettent l'expression optimale des facteurs angiogéniques et neurotrophiques, qui leur confère donc un potentiel de régénération plus puissant que pour les cellules précédentes. (28), (27), (29)

Les DPSCs et MDPSCs sont deux excellentes sources de cellules souches pour la régénération pulpaire. Elles ont des propriétés similaires, mais celles des MDPSCs sont meilleures. En effet, les MDPSCs présentent les caractéristiques et capacités suivantes :

- Capacité d'auto-renouvellement et de différenciation multipotente, car ce sont des CSMs. Compte tenu qu'elles sont issues des DPSCs, elles ont deux origines différentes : cellules souches mésenchymateuses et les cellules de la crête neurale embryonnaire. (30) Les MDPSCs sont capables de se différencier vers les lignées : endothéliales (vasculaire), neuronales, adipeuses et ostéo/odontoblastique. Elles ont un taux de prolifération, une durée de vie et une activité de migration élevée. (28), (27), (Figure 8)

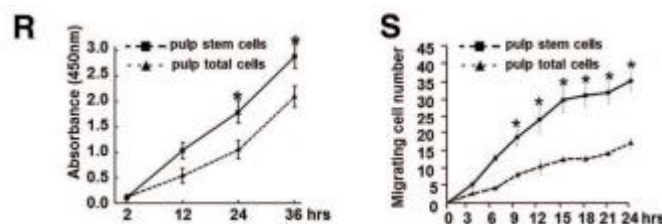


Figure 8: Comparaison entre les cellules souches de la pulpe isolées avec G-CSF et la totalité des cellules de la pulpe. (R) : Activité de prolifération (S) : Activité de migration. Les activités de prolifération et de migration des cellules souches pulpaire de chien avec G-CSF sont supérieures à celles des cellules pulpaires totales. (28)

- Comme les CSMs, elles sont CD29+, CD44+, CD73+, CD90+ et CD 31- mais elles expriment également CD 105, CMH de classe I et le G-CSFR. Elles sont faiblement positives pour CD80, CD86 et CD 146 et sont négatives pour CD40, CD45 et CMH classe II. (28), (31), (27), (29)

- Les MDPSCs expriment aussi des ARNm spécifiques des cellules souches : Oct3/4, Nanog, Sox2, Rex1, GDF3, LIN28, Stat3, Bmi1, CD 117 (= c-kit) et CXCR4. (28), (31), (27), (29)
- Elles produisent des facteurs angiogéniques : GM-CSF, MMP3, VEGF, G-CSF et neurotrophiques : BDNF, GDNF, NGF et NT-3. (28), (27), (Figure 9) Mais aussi des facteurs immunosuppresseurs tels que l'indoleamine-2,3-dioxygénase (IDO). (28)

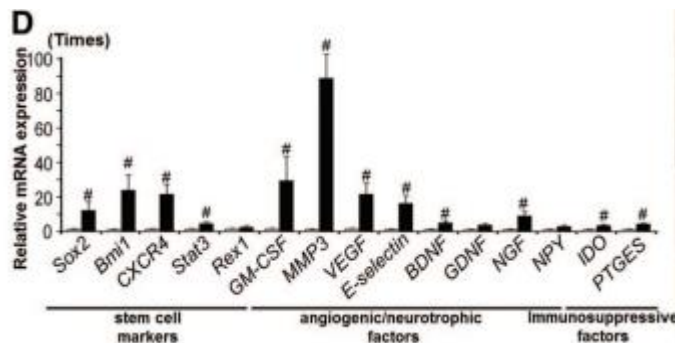


Figure 9: (D) : analyse RT-PCR de l'expression des marqueurs des cellules souches et des facteurs angiogéniques/neurotrophiques dans les cellules souches pulpaire de chien par rapport à celles dans les cellules pulpaire totales. (28)

- Les MDPSCs ont un potentiel pro-angiogénique. Elles sont capables de former des réseaux étendus de cordons et de structures en forme de tube *in vitro* sur du Matrigel. (28), (27), (Figure 10) Après leur transplantation, le flux sanguin et la densité de capillaire vont augmenter dans le tissu. (29)

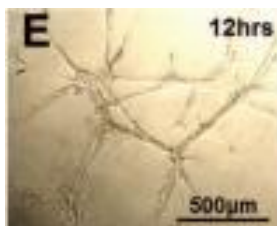


Figure 10: (E) : Potentiel angiogénique des cellules souches pulpaire de chien isolées avec du G-CSF sur du Matrigel. (28)

- Dans des conditions de différenciation neurogénique, après 14 jours les MDPSCs sont capables de former des neurosphères. De plus, l'expression de l'ARNm de marqueurs neuronaux, tels que le neurofilament, neuromoduline et les canaux sodiques voltage-dépendant de type 1 α (Scn1A) est augmentée dans les MDPSCs par rapport aux cellules pulpaire. (28), (27), (Figure 11) Après transplantation de MDPSCs dans le canal radiculaire d'une dent mature chez le chien, l'apparition des fibres nerveuses a été observée dans le tissu régénéré. Ces fibres forment un plexus sous-odontoblastique et se terminent dans la couche odontoblastique. (29)



Figure 11: (G) : Formation de neurosphères à partir des cellules souches pulpaire isolées aux G-CSF de chien sur du Matrigel. (J, K) : Potentiel neurogène 14 jours après induction. (J) : Immunomarquage des neurofilaments. (K) : Comparaison de l'expression d'ARNm de la neuromoduline, de Scn1A et de neurofilament entre les cellules souches pulpaire isolées aux G-CSF et les cellules pulpaire totales de chien. (28)

- Dans des conditions de différenciations ostéogéniques, les MDPSCs expriment le marqueur ostéoblastique (ostéocalcine). (27) Après transplantation de MDPSCs dans le canal radiculaire d'une dent mature chez le chien, l'expression des marqueurs d'identification des odontoblastes comme l'énamélysine (ou MMP20) et la Dspp ont été détectées sur des cellules à proximité de la paroi dentinaire du tissu régénéré. (28), (29), (Figure 12)



Figure 12: (O) : Potentiel odontogène des cellules souches pulpaire de chien (coloration au rouge alizarine). (Q) : Expression de l'énamélysine et de l'ARNm de la Dspp. (28)

Les études ont montré que les MDPSCs produisent de multiples facteurs paracrines angiogéniques / neurotrophiques. (32) En effet, grâce à leur effet trophique, elles vont conditionner le milieu dans lequel elles se trouvent. Ces cellules ont ainsi un impact important sur la prolifération, l'activité migratoire et un effet anti-apoptotique sur les autres cellules du milieu dans lequel elles se trouvent. Ainsi, les MDPSCs ont la capacité d'améliorer le taux de survie des cellules environnantes. (27), (29), (33)

2.3 : Les conditions GMP

Pour être transplantées chez l'homme, la méthode d'isolation des cellules souches, les conditions de culture, les procédures cliniques et les scaffolds utilisés doivent répondre à des normes précises qui sont établies par les « Good Manufacturing Practice » (GMP). Les normes GMPs sont un outil d'assurance qualité qui est utilisé dans les industries pharmaceutiques et alimentaires. Ils ont pour objectif de garantir que les produits sont fabriqués de façon conforme et contrôlés suivant les dernières normes de qualité adaptées à l'usage qui doit en être fait. Ils contribuent ainsi à fournir aux consommateurs et aux patients des produits de qualité constante et de haut niveau de sécurité. Les procédures régénératives en particulier les produits cellulaires répondent au droit pharmaceutique. Depuis 2008, la Commission Européenne a imposé une réglementation sur les Médicaments de Thérapie Innovante qui classe les produits de thérapie génique, de thérapie cellulaire et de génie tissulaire y compris ceux à base de cellules souches, comme produits pharmaceutiques lorsqu'ils ne sont pas destinés à la recherche mais à l'homme. (34)

Ces directives sont accessibles au public : https://ec.europa.eu/health/documents/eudralex/vol-4_en. Les directives GMPs traitent des mesures d'assurance qualité pour tous les aspects du processus de fabrication depuis les bâtiments, les équipements et la formation du personnel, jusqu'aux modes opératoires, au conditionnement et au stockage. En Europe, c'est l'Agence Européenne des Médicaments en concertation avec les autorités compétentes des états membres de l'Union Européenne qui met en place la législation et fournit les directives. Aux Etats-Unis, c'est la Food and Drug Administration qui en a la responsabilité. Sinon, à l'échelle internationale, l'Organisation Mondiale de la Santé fournit les directives GMPs. (34)

Ainsi, les cellules souches doivent être de qualité clinique et leur transplantation chez l'homme doit être sûre et efficace. Pour avoir des cellules souches de qualité clinique, il faut qu'elles répondent aux normes de fabrication et au contrôle de qualité des produits pharmaceutiques. (31), (35), (Figure 13) Ces normes vont permettre de garantir que les réactifs, les milieux et les sérums utilisés pour la culture sont sans danger pour une utilisation chez l'Homme. Elles impliquent aussi un contrôle des installations, le respect de l'environnement et le stockage des cellules souches. L'innocuité, l'efficacité et la reproductibilité des produits cellulaires doivent être prouvées avant une utilisation sur un patient. (31) De plus, les cellules souches peuvent avoir une sénescence précoce et des altérations de l'ADN.

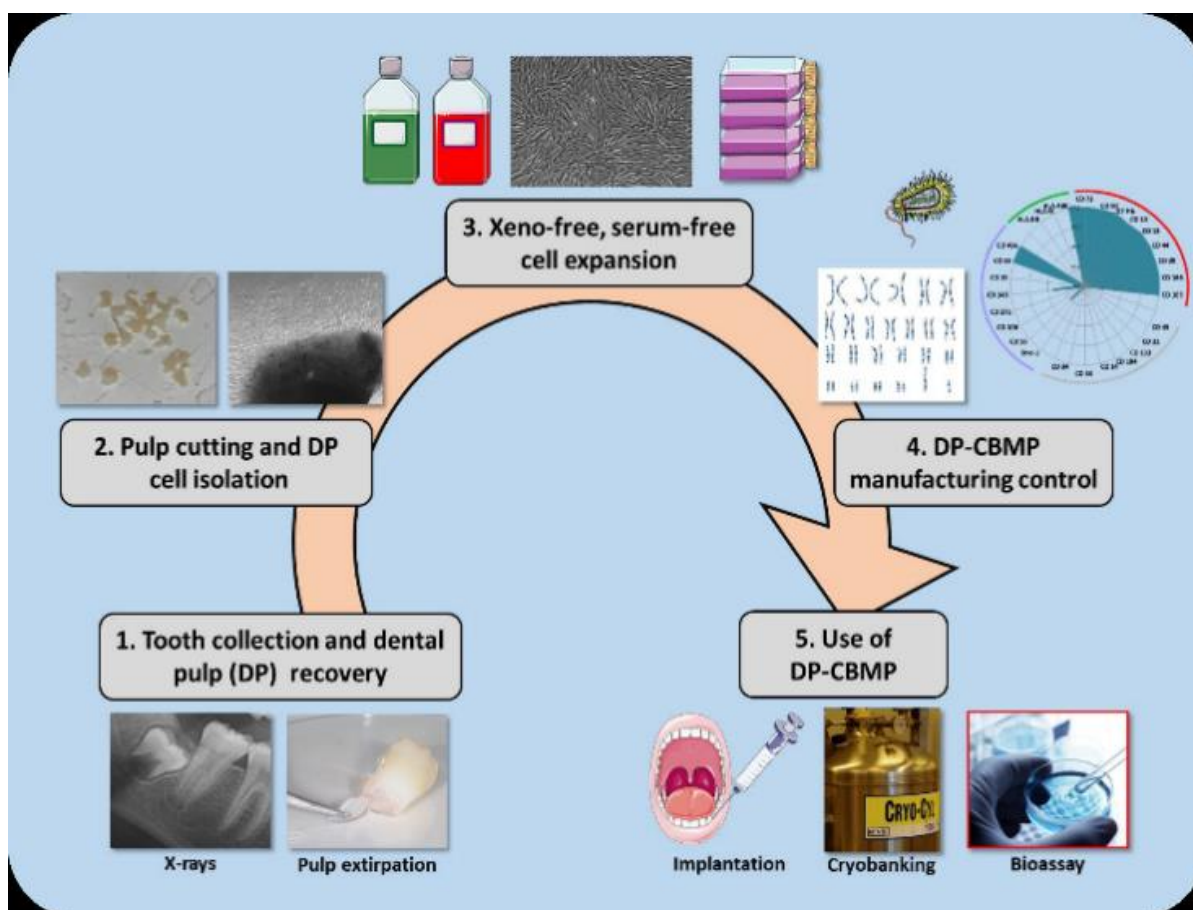


Figure 13: Standardisation du processus de fabrication de cellules DP aux normes GMP. Il nécessite cinq étapes principales : la sélection des dents et la récupération pulpaire (étape 1), l'isolation des cellules DP avec des procédures rapides, sûres et les moins coûteuses possibles (étape 2), l'expansion cellulaire dans des conditions de culture définies « serum-free » ou « xeno-free » (étape 3), surveillance et contrôle de la fabrication de DP-CBMP (étape 4), utilisation de DP-CBMP de qualité clinique, pour implantation immédiate, cryoconservation ou développement d'un essai biologique (étape 5). (35)

La sécurité passe en partie par la stérilité des cellules tout au long du processus. Ils doivent être exempts de champignons, de bactéries aérobies et anaérobies, virus, mycoplasmes et endotoxines. (31), (29) Concernant la sécurité, après culture et cryoconservation, les MDPSCs n'ont montré aucune contamination bactérienne, fongique ou virale et aucune trace de mycoplasmes ou d'endotoxines. La méthode de culture permet ainsi la stérilité du produit cellulaire en vue d'une transplantation. Dans les essais *in vivo*, chez le chien, il n'a été détecté aucun effet secondaire comme une perte de poids. Les analyses chimiques du sang, du sérum

et de l'urine étaient normales 4 semaines après la transplantation. Et l'autopsie des chiens et les examens histologiques n'ont révélé aucune anomalie due à la transplantation dans aucun organe ou tissu. (28) Les DPSCs et leurs sous-populations ont la propriété de pouvoir être cryoconservées (-80 °C) tout en gardant leur intégrité et fonctionnalité. (28), (30)

La sécurité passe également par l'absence d'aberrations chromosomiques et de formation de tératome. À la suite d'une vingtaine de passages en culture, aucune aberration du caryotype et aucun comportement tumoral n'ont été mis en évidence. (28), (27) La stabilité des MDPSCs s'est avérée supérieure à celle des DPSCs car elles expriment moins de marqueurs de sénescence cellulaire ; elles sont moins colorées à la « senescence-associated bêta-galactosidase » (Sa- β -gal). La sénescence génétique est détectée par l'activité de la télomérase qui a pour rôle d'habiller les gènes de télomères à leur extrémité pour conserver leur longueur et leurs informations géniques. Les MDPSCs ont une plus grande activité de télomérase que les DPSCs. (27)

Les études sur l'homme n'ont pas détecté d'associations entre des traitements à base de CSMs et le développement d'une toxicité aiguë, de complications du système organique, d'infection, de décès ou d'apparition de tumeur maligne. Cependant, la transplantation de CSMs s'associe souvent avec une fièvre passagère. La transformation maligne est un risque théorique et les chercheurs n'ont pour le moment jamais trouvé d'association entre les deux. L'administration de CSMs ne semble pas augmenter la sensibilité aux infections. Les effets immunomodulateurs des CSMs sont bénéfiques dans les maladies pro-inflammatoires, mais ces mêmes effets peuvent rendre le patient vulnérable à une infection. Le risque de rejet d'une transplantation de CSMs allogéniques est faible, car elles ont une expression très faible de protéines du CMH et des molécules de co-stimulation des lymphocytes T. (36)

2.3.1 : Importance du choix du sérum de culture :

Lors des cultures de cellules souches *in vitro*, le *Gold Standard* est d'utiliser du sérum de vœux/bovin fœtal (FSB). Cependant, pour une application chez l'homme, il n'est pas question de transplanter des cellules souches humaines qui ont été cultivées dans du sérum animal. Les interactions xénogènes humain/animal ne reflètent pas la réalité clinique et peuvent créer des biais d'interprétation des résultats. (8) De plus, le FBS peut transmettre des maladies xénogènes telle que les prions et virus pathogènes. Ensuite, les CSMs humaines cultivées avec du FBS expriment le xénantigène : l'acide N-glycosylneuraminique, qui pourrait causer un rejet lors de la transplantation. (31) Ainsi, les milieux sans sérum sont des alternatives aux milieux contenant du sérum animal. (31), (37) Cependant, ces-derniers semblent favoriser la sénescence précoce, le raccourcissement des télomères et la perte des récepteurs de chimiokine nécessaires à la migration, à la greffe et au potentiel régénératif à long terme. (31), (36), (37), (38)

Actuellement, le sérum humain, le plasma et/ou les lysats plaquettaires sont des alternatives au FBS dans un protocole d'expansion cellulaire. Le lysat plaquettaire est obtenu à partir de plasma, et est enrichi en facteurs de croissance. Il peut favoriser l'expansion des CSMs, maintenir leur potentiel de multi différenciation et permettre de conserver leur activité immunosuppressive. Le sérum humain autologue a les mêmes propriétés. Les cellules souches cultivées dans du sérum humain autologue ont démontré une expression génique stable et un potentiel de migration et de régénération plus élevé par rapport aux CSMs cultivées dans du FBS. (31), (37), (39)

- Nakashima et al. (2017) ont utilisé du sérum humain autologue pour l'isolation et l'expansion des MDSPCs lors de son essais-clinique chez l'Homme. (9), (31)
- Xuan et al. (2018) ont utilisé du FSB pour l'isolation et la culture des hDPSCs issu de canines lactéales pour leur transplantation chez l'Homme. (10)

2.3.2 : Importance de la concentration d'oxygène dans le milieu de culture :

La concentration en oxygène est un facteur environnemental critique qui affecte les CSMs. Elle joue un rôle essentiel dans le maintien de la plasticité et de la prolifération des cellules souches. La teneur en O₂ du milieu de culture et/ou du tissu transplanté va avoir un rôle important sur le comportement des CSMs. Les CSMs sont généralement cultivées *in vitro* en présence de 5 % de CO₂ et de niveaux de dioxygène d'environ 20 %. Cependant, les micro environnements cellulaires naturels contiennent des tensions d'oxygène beaucoup plus faibles allant de 12 % dans le sang artériel à 1 à 7 % dans divers autres tissus.

Ahmed et Al. en 2016 (40) ont prouvé dans leur expérience que des DPSCs cultivées à 5 % d'O₂ peuvent être prometteuses pour la régénération. En effet, Les cellules cultivées dans des conditions hypoxiques montrent des propriétés supérieures à celles cultivées dans des conditions normoxiques (20 % d'O₂). L'hypoxie a régulé à la hausse l'expression génique des marqueurs de CSM. Par exemple, l'expression de CXCR4 était plus élevée dans les cultures à 5 % et 3 % d'O₂ que dans les cultures à 20 % d'O₂. (Figure 14) Les DPSCs de cultures hypoxiques (à 5 % d'O₂) ont migré à un taux plus élevé que les DPSCs de cultures normoxiques. L'expression du facteur angiogénique (VEGF) et neurotrophiques (BDNF et NGF) étaient plus élevée dans le milieu hypoxique (surtout à 5% d'O₂). (Figure 14) Les propriétés immunosuppressives des DPSCs sont non seulement maintenues à de faibles concentrations d'oxygène, mais sont également améliorées. Cette amélioration fournira des cellules meilleures et plus adaptées à la transplantation allogénique.

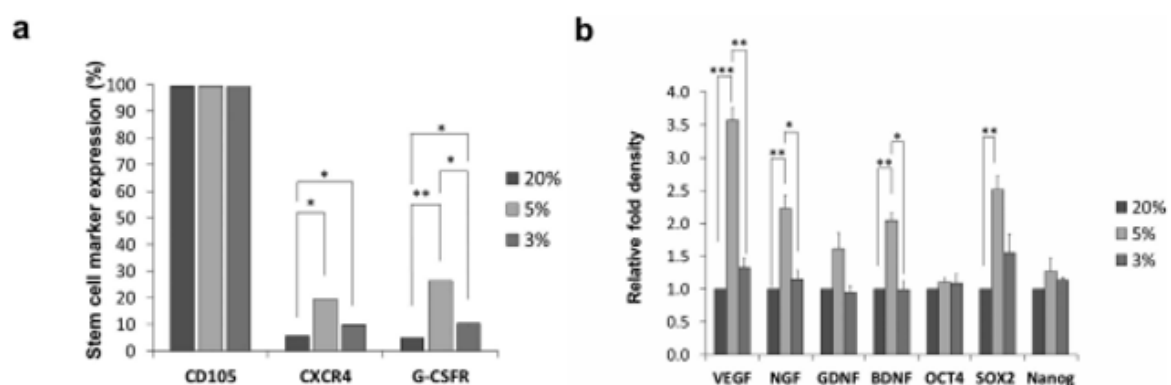


Figure 14: (a) Expression de marqueurs de cellules souches de surface à 20, 5, 3 % d'O₂. (b) RT-PCR quantitative pour les niveaux d'ARNm de marqueurs de pluripotence et de facteurs angiogéniques/neurotrophiques à 20, 5, 3 % d'O₂. (40)

2.3.3 : Notion de « banking » des cellules souches utilisées en ingénierie pulpaire :

Les sources principales de cellules souches dentaires autologues sont les dents de sagesse et les dents temporaires. Elles sont une source de cellules facilement accessibles mais limitées en quantité. Actuellement, les dents de sagesse extraites et les dents temporaires sont jetées. Les conserver dans des banques pour un usage autologue serait une option envisageable. D'autant plus que l'on sait que les cellules souches pulpaire peuvent être cryo-conservées à -80° C tout en conservant leur intégrité et leurs fonctions. (28), (30)

Les DPSCs allogéniques mises en banque seraient très avantageuses pour gagner du temps et réduire les coûts. Un usage allogénique pourrait se développer compte tenu de la faible immunogénicité et des effets immunosuppresseurs des CSMs. (11), (41) Cette faible immunogénicité est due à l'absence d'expression de CMH-II et des molécules co-stimulatrices telles que CD40, CD80 et CD86 sur leur surface cellulaire. Cette propriété permet habituellement de réduire l'inflammation et dans le cadre d'une transplantation allogénique, elle apporterait aussi le moyen d'échapper à la réponse des cellules immunitaires de l'hôte. (12) En effet, les CSMs peuvent interférer avec la réponse immunitaire au moyen d'interactions cellule/cellule et de sécrétion de facteurs solubles tels que le « Transforming Growth Factor-beta » (TGF- β), de « Tumor Necrosis Factor alpha » (TNF α), de nitrique oxyde (NO), d'IDO, d'IL-6 et d'IL-10, de sémaphorine-3A, de galectin-1 et 9 (Gal-1 et Gal-9). (42), (43) Les CSMs possèdent surtout la capacité de générer des cellules T régulatrices qui régulent d'autres cellules immunitaires. (12) Iohara et al. en 2018 ont réalisé la transplantation allogénique de MDPSCs dans des dents dévitalisées chez le chien afin d'en évaluer la sécurité et l'efficacité. Ils n'ont mis en évidence aucune anomalie toxicologique et peu d'infiltrations de cellules inflammatoires. À l'issue de cette étude, les MDPSCs apparaissent être immunologiquement sans danger pour leur utilisation dans des applications allogéniques. (12)

À ce jour, les banques de cellules souches sont rares et quand elles existent, elles conservent les cellules souches utilisées pour les domaines de la médecine régénérative dite prioritaire (le cœur, les poumons, l'hématopoïèse, les maladies cérébro-vasculaires, cardiovasculaires et immunodéficientes). (8)

III. FACTEUR DE CROISSANCE

Les facteurs de croissance ou autres médiateurs tissulaires sont le deuxième élément (facultatif) de l'ingénierie tissulaire. Les facteurs de croissance sont des signaux extracellulaires régissant la morphogenèse des tissus lors des interactions épithélio-conjonctives pendant leur croissance. (4) Les signaux morphogéniques sont à l'origine du micro environnement tridimensionnel et influencent la différenciation des cellules souches de la pulpe dentaire en odontoblastes. (44) Les CSMs produisent des cytokines solubles et facteurs de croissance qui fonctionnent de manière paracrine, contribuant à la réparation et à la régénération tissulaire en favorisant la survie cellulaire, l'angiogenèse et la neurogenèse. (26)

La dentine lors de sa minéralisation emprisonne des molécules bioactives. Ces molécules peuvent être libérées lors de phénomène de déminéralisation. Les molécules ainsi libérées peuvent avoir des effets bénéfiques lors du processus de régénération pulpaire. (45)

Plusieurs produits comme l'acide éthylène diamine tétra acétique (EDTA) (46), la trypsine (32) ou le pH produit par la dégradation de certains scaffolds comme l'acide poly-L-lactique (PLLA) peuvent permettre la libération de ces molécules bioactives. La dentine peut donc libérer des facteurs de croissance, des cytokines et des chimiokines pro et anti-inflammatoires comme le TGF- β , le facteur de croissance analogue à l'insuline-1 et 2 (IGF-1 et -2), le FGF-2, l'adrénomédulline et plusieurs facteurs pro-angiogéniques, tel que PDGF (Platelet Derived Growth Factor) et VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor). (47) La nature bioactive de la matrice extracellulaire de la dentine permet une régulation des activités cellulaires comme l'adhésion cellulaire et la migration. Ces molécules peuvent avoir le potentiel d'exercer un effet direct sur les odontoblastes ou sur le recrutement des cellules pulpaires indifférenciées dans le but de stimuler la réparation ou mieux la régénération. (47) Leur libération constitue une source supplémentaire en molécules bioactives avec celles qui seront incorporées au scaffold et naturellement sécrétées par les cellules souches.

Les cellules souches de la pulpe dentaire (DPSC, MDSPC) sécrètent un cocktail complexe de facteurs de croissance. Les MDSPCs ont néanmoins un produit de sécrétion plus riche que les DPSCs. Leur sécrétome contient les facteurs angiogéniques et neurogéniques suivants : (27), (29), (46)

- GM-CSF : Facteur de stimulation des colonies de granulocytes et de macrophages
- MMP3 : Stromelysin 1/ métalloprotéase matricielle 3
- VEGF : Facteur de croissance de l'endothélium vasculaire
- G-CSF : facteur de stimulation des colonies de granulocytes
- EGF : Facteur de croissance épidermique
- FGF2 : facteur de croissance basique des fibroblastes 2
- HGF : facteur de croissance des hépatocytes
- TGF β : facteur de croissance transformant bêta
- BDNF : facteur neurotrophique dérivé du cerveau
- GDNF : facteur neurotrophe dérivé de la glie
- NGF : Facteur de croissance nerveux
- NT-3 : Neurotrophin-3
- NPY : neuropeptide Y

Certains facteurs de croissance sont primordiaux dans la régénération pulpaire comme le VEGF qui a un rôle important dans l'angiogénèse. Celle-ci n'est pertinente sur le plan fonctionnel que si les vaisseaux sanguins formés peuvent faire des anastomoses avec le système vasculaire de l'hôte et devenir des vaisseaux sanguins fonctionnels (c'est-à-dire porteurs de sang). (48)

Les cellules souches qui sécrètent du VEGF vont induire l'expression de SDF1 dans les fibroblastes périvasculaires. Le SDF1 va permettre de mobiliser les cellules CXCR4+ vers le site périvasculaire pour augmenter la prolifération des cellules endothéliales résidentes. (24) Le VEGF va également activer l'expression de VE-cadhérine grâce à une cascade protéique impliquant l'axe MEK/ERK/ERG observée par Bento et al. en 2013 (49) et Sasaki et Al. en 2020 (48). (*Figure 15*) La VE-cadhérine est une protéine de jonction adhérente de cellule à cellule et est l'un des premiers marqueurs spécifiques exprimés par les cellules endothéliales au cours de la vasculogénèse (formation de capillaire creux) et de la différenciation des cellules souches en cellules endothéliales. Sa fonction est nécessaire pour permettre l'assemblage des cellules endothéliales, leur organisation en réseau vasculaire et anastomotique. (48)

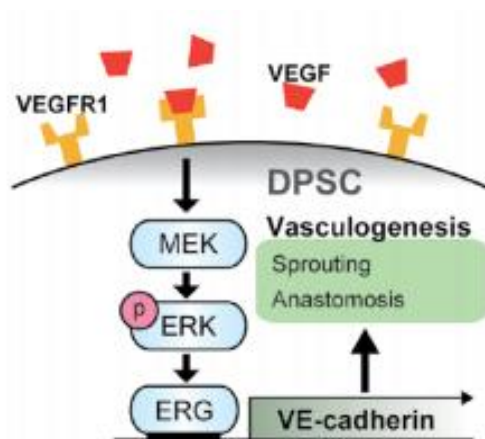


Figure 15: Diagramme schématisant la voie de signalisation déclenchée par le VEGF qui entraîne la signalisation via MEK1 et pERK qui entraîne une activité transcriptionnelle ERG et l'expression de la VE-cadhérine. (48)

Les facteurs de croissance neurogéniques sont aussi très importants lors de la régénération pulpaire notamment pour rétablir la fonction sensitive de la pulpe (nociception, thermique, mécanique). La régénération nerveuse est étroitement liée à la régénération vasculaire puisque les fibres nerveuses empruntent le même trajet que les vaisseaux sanguins. Il n'est donc pas étonnant que certains facteurs de croissance puissent avoir à la fois un effet vasculogénique et neurogénique comme le VEGF ou le G-CSF. (4) Les facteurs de croissance NGF, BDNF et GDNF sont impliqués dans le guidage axonal dans le ganglion trigéminal. Ce ganglion joue un rôle sensitif au niveau du visage et un rôle moteur sur les muscles masséters de la mâchoire. (50) Plusieurs neuropeptides comme la calcitonine (CT), le neuropeptide Y sont aussi impliqués dans la stimulation d'événements régénératifs dentinogéniques. (47)

3.1 : Le G-CSF :

Le facteur de stimulation des colonies de granulocytes (G-CSF) est utilisé pour l'isolation et la mobilisation des MDPSCs par Nakashima pour obtenir des cellules souches de qualité clinique. Ce facteur de croissance est aussi utilisé pour enrichir le scaffold et aura donc un impact lors de la transplantation. (9), (28), (27) L'isolation des MDPSCs avec 100 ng/ml de G-CSF est optimale pour avoir la meilleure expression de facteurs angiogéniques et neurotrophiques (GM-CSF, MMP3, VEGF, BDNF, GDNF, NGF et NT-3) d'après Nakashima. (27) L'utilisation de G-CSF intégré au scaffold lors de la transplantation, a permis une meilleure régénération pulpaire en volume. (28) Ce facteur de croissance a de nombreuses propriétés sur les cellules souches et leur environnement. En effet, Le G-CSF permet d'améliorer les activités migratoires, anti-apoptotiques et immunosuppressives (diminution du nombre de cellules CD68⁺ et CMHII⁺ après la transplantation de cellules souches pulpaires avec du G-CSF) des MDPSCs. (28) Lee et al. en 2005 (51) ont montré que le G-CSF favorise la migration des cellules endothéliales et la formation de structure en forme de tube *in vitro*. Il a donc des propriétés angiogéniques intéressantes. Les effets directs du G-CSF et les effets synergiques qui naissent de la combinaison du G-CSF et des facteurs trophiques libérés par les cellules souches vont favoriser la régénération pulpaire par la migration des cellules souches présentant le récepteur au G-CSF c'est-à-dire les cellules G-CSFR⁺. Ces cellules G-CSFR⁺ peuvent être présentes dans les tissus environnants tels que le ligament parodontal, la moelle osseuse et les vaisseaux sanguins. (28), (29) (Figure 16)

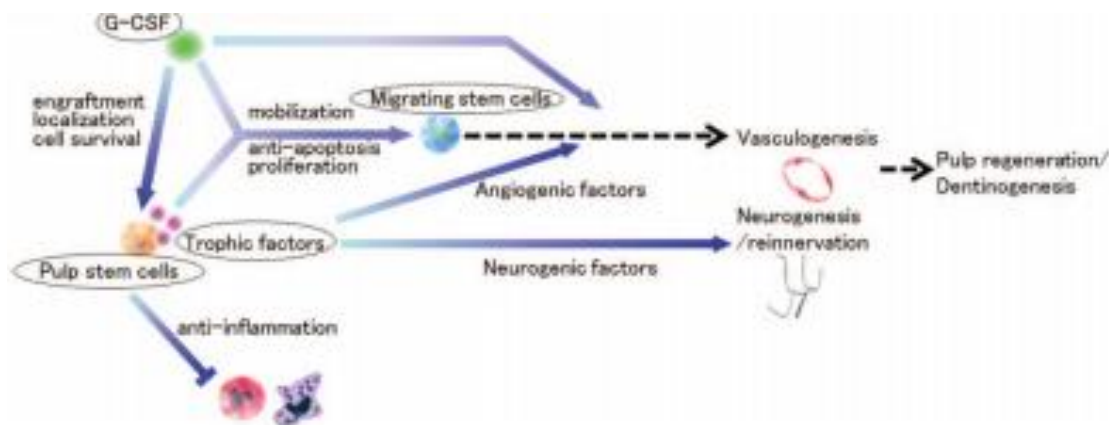


Figure 16: Diagrammes schématiques démontrant le mécanisme de régénération pulpaire après transplantation de cellules souches pulpaire avec G-CSF. (28)

IV. LE SCAFFOLD :

La création d'un scaffold est l'élaboration d'une structure tri-dimensionnelle pour la conception d'un micro-environnement physico-chimique, biologique, dégradé mimant le plus possible la matrice extra-cellulaire naturelle du tissu à régénérer. Pour leur application dans le domaine de l'ingénierie tissulaire endodontique, les scaffolds doivent répondre à un cahier des charges précis : (4), (52)

- Biocompatible et non toxique.
- Biodégradable et de préférence de manière synchrone à la régénération tissulaire.
- De mise en place adaptée à l'anatomie endodontique : un scaffold injectable est un avantage pour pouvoir épouser au mieux la forme du système canalaire.
- Structure permettant l'encapsulation et l'adhésion de cellules pour leur développement et leur différenciation.
- Réservoir pour la libération des facteurs de croissance.
- Efficacité pour le transport des nutriments, de l'oxygène et des déchets.
- Structure permettant l'organisation tri-dimensionnelle du tissu régénéré.

Il n'y a pour le moment pas de scaffold idéal qui réponde à toutes ces conditions. Cependant, les chercheurs tentent de concevoir leur scaffold répondant au mieux à ces critères.

Les polymères naturels tels que le collagène offrent une bonne cyto/biocompatibilité et bio-activité. (4) Le collagène est une des molécules les plus abondantes de la matrice extra-cellulaire dans le corps humain. C'est un composant majeur de la pulpe dentaire humaine. C'est donc une molécule de choix pour servir de support aux cellules souches et aux facteurs de croissance. (4), (53) C'est un support cellulaire capable de soutenir la survie des DPSCs et leur croissance. Il pourrait être injecté dans l'espace canalaire pour régénérer la pulpe sous forme d'hydrogels. (41), (15), (18), (54) L'utilisation de collagène humain recombiné est plus sûre que le collagène animal à cause des interactions inter espèces. Cependant, une matrice en collagène a tendance à se contracter lors de la transplantation de cellules pulpaire, ce qui peut

affecter la régénération tissulaire de la pulpe. Les expériences de Huang et al. en 2010 ont montré que lorsque les cellules pulpaire ont été introduites dans du gel de collagène et placées dans l'espace canalaire, la contraction a interféré dans la régénération de la pulpe. (41), (54) Ce phénomène de contraction est dépendant de la température. La contraction ne se produit pas brusquement à une température donnée, mais c'est un processus lent. Nakashima et al. utilisent de l'atélocollagène pour la transplantation de MDPSCs chez l'Homme. (9)

L'atélocollagène est un dérivé du collagène de type I développé par la société KOKEN® (Japon) qui répond aux normes GMPs pour une application clinique chez l'Homme. La structure moléculaire du collagène est composée d'une triple hélice au centre et des télopeptides (non hélicoïdaux) aux extrémités de la molécule. La région à triple hélice est conservée parmi de nombreuses espèces et présente une faible immunogénicité, tandis que les régions télopeptides présentent une immunogénicité élevée. L'atélocollagène est du collagène où les télopeptides ont été éliminés par des protéases. Cependant, ses propriétés physiques sont pratiquement identiques à celles du collagène naturel mais avec une immunogénicité moindre. (55), (56) (*Figure 17*) Lors d'une étude chez le chien en 2013, Nakashima et al. ont utilisé de l'atélocollagène comme scaffold et n'ont pas précisé s'il y avait eu une contraction du matériaux. (28)

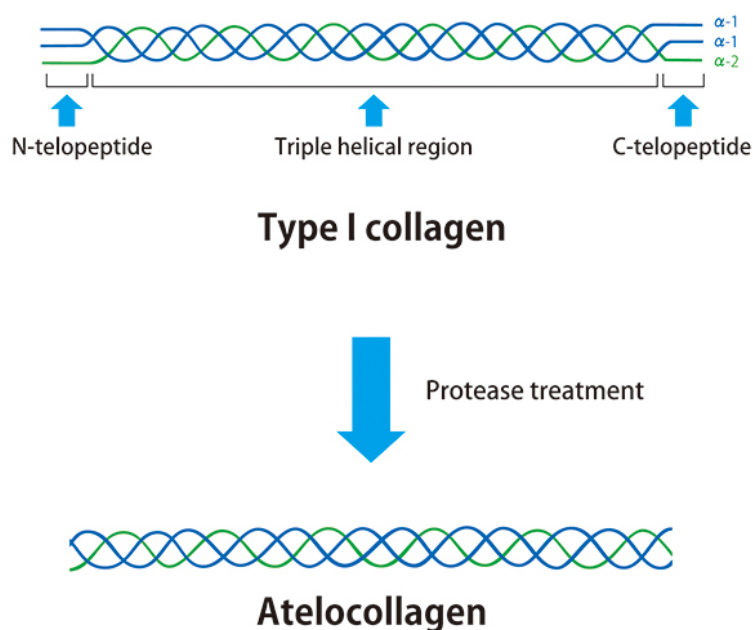


Figure 17: Schéma représentant la fabrication d'atélocollagène. (55)

V. DÉSINFECTION DU CANAL DENTAIRE :

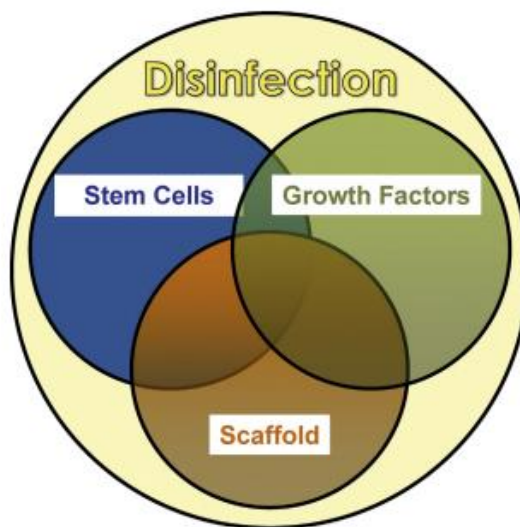


Figure 18: Le quatuor de l'ingénierie tissulaire pulpaire. (57)

En plus des cellules souches, des facteurs de croissance et des scaffolds, il existe un quatrième élément qui entre en jeu pour le bon fonctionnement d'un traitement basé sur l'ingénierie tissulaire pour la régénération pulpaire : la désinfection. En effet, la régénération pulpaire va le plus souvent faire suite à des pathologies infectieuses. Or lors d'un traitement endodontique classique, la désinfection complète du système canalaire est quasiment impossible. Il reste donc des agents infectieux dans le canal. Malheureusement, une infection secondaire pendant la procédure de régénération pulpaire pourrait aboutir à un échec. Pour éviter qu'une infection ne nuise à la régénération pulpaire, le réseau canalaire doit d'abord être débridé et désinfecté. (57) Le traitement canalaire a pour objectif de réduire les populations bactériennes du canal à un niveau qui peut permettre la cicatrisation tissulaire. Mais rendre le canal exempt de toute bactérie est un défi vers lequel il faut tendre pour permettre la meilleure régénération pulpaire possible. (58)

Les infections endodontiques ne se limitent pas à la présence de bactéries au niveau des tissus mous mais aussi dans les tubuli dentinaires. Leur élimination présente donc un défi majeur en termes d'accessibilité. (11), (57) Les agents désinfectants utilisés peuvent modifier la viabilité et le potentiel de différenciation cellulaire ainsi que la biodisponibilité des facteurs de croissance endogènes ou encore les propriétés du scaffold. Différentes études ont été nécessaires afin de trouver un moyen d'obtenir à la fois une désinfection maximale et un minimum de préjudices sur le potentiel régénératif des cellules souches. (57), (59) Une association de moyens mécaniques et chimiques a permis d'optimiser la désinfection.

5.1 : L'instrumentation :

L'instrumentation du canal radiculaire est une partie importante de la désinfection car elle permet de retirer la couche superficielle de dentine contaminée par les bactéries ou leurs toxines. Des précautions doivent être prises dans le cas de dents à apex ouvert (dents

permanentes immatures). En effet, l'utilisation d'instruments endodontiques est à éviter à cause du risque de fracture des parois apicales fines et du risque de propulsion d'agents microbiens ou de solution d'irrigation au-delà de l'apex qui pourraient provoquer une réaction néfaste ou une surinfection.

5.2 : La désinfection :

5.2.1 : Les solutions d'irrigation :

La nature chimique de l'irrigant, la concentration et les temps de traitement pour obtenir un contrôle microbien efficace, tout en minimisant les effets dégradants sur les molécules bioactives et les effets cytotoxiques est un équilibre difficile mais nécessaire à trouver. (45), (59) Il existe plusieurs solutions d'irrigation couramment utilisées lors de la désinfection initiale ou peropératoire en vue de faire un traitement régénératif : l'acide éthylène diamine tétra acétique (EDTA), l'hypochlorite de sodium (NaOCl) et la trypsine. L'ordre et les produits utilisés lors de la désinfection pour un traitement régénératif est important. L'utilisation d'hypochlorite de sodium suivie d'un traitement EDTA d'un canal instrumenté permet la préservation de la structure dentinaire et la libération des molécules bioactives utiles pour une régénération, alors que l'inverse provoque des dommages dentinaires. (11), (60)

L'hypochlorite de sodium est une solution de désinfection connue sous le nom d'eau de javel. Il est couramment utilisé comme solution d'irrigation pendant le traitement endodontique y compris dans les procédures de revascularisation en raison de sa capacité de dissolution tissulaire et de ses propriétés antimicrobiennes. (59), (60) Zou et al. ont montré que le NaOCl peut pénétrer dans les tubuli dentinaires dans une zone comprise entre 77 et 300 μm , selon le temps, sa concentration et sa température. (61) Cependant, le NaOCl a des effets néfastes immédiats et prolongés même après son élimination sur la survie, l'attachement et la différenciation des cellules souches (DPSC, SHED et SCAP). (60), (62), (63) La prolifération et la différenciation des cellules souches sont également connues pour être différentes en fonction de la surface sur laquelle elles sont ensemencées. Le NaOCl provoque des changements dans la composition de la matrice dentinaire avec une diminution de la teneur en carbone et en azote. L'utilisation d'une faible concentration à 1,5 % de NaOCl est préconisée car elle minimise les effets sur la survie et la différenciation des cellules souches mais cela est au détriment de son efficacité pour contrôler le biofilm bactérien. (59)

L'EDTA est une solution chélatante. Elle facilite la survie cellulaire et entraîne la libération de facteurs de croissance présents dans la dentine augmentant ainsi leur biodisponibilité. (11), (64), (60) L'irrigation de la dentine avec 17 % d'EDTA seul ou après un traitement au NaOCl, crée une surface dentinaire favorable à l'adhésion et la différenciation cellulaire. (7) Kawamura et al. en 2016 (46) ont comparé l'influence du retrait des extraits de dentine dissout avec de l'acide chlorhydrique seul (HCl), de l'acide chlorhydrique couplé avec du chlorhydrate de guanidine (GdnHCl) et de l'EDTA sur la régénération pulpaire. Ils ont obtenu des tissus conjonctifs lâches similaires à la pulpe dans les greffes des dents pré-traitées avec HCl, GdnHCl et EDTA. L'analyse histologique du volume tissulaire et de la densité cellulaire des tissus régénérés dans les dents traitées au GdnHCl et à l'EDTA ont été inférieures à ceux d'une dent non-traitée, au bout de 28 jours. Leurs résultats suggèrent que les composants chimiques extraits de la dentine par la dissolution à EDTA, peuvent générer un micro

environnement inductif pour la régénération du complexe dentino-pulpaire. L'équipe de Kawamura a également fait l'expérience inverse donc au lieu de retirer l'extrait de dentine dissoute par EDTA, ils l'ont conservé. La dent avec les extraits de dentine dissout par l'EDTA a démontré une plus grande quantité de tissu régénéré. L'analyse de la prolifération et de la migration cellulaire a montré que le milieu conditionné des MDPSCs avec les extraits de dentine dissout par l'EDTA avaient un effet plus élevé que le milieu conditionné des MDPSCs seul. Les extraits de dentine dissout par l'EDTA sont enrichis en protéines non collagéniques (ostéonectine, ostéocalcine, ostéopontine, sialoprotéine osseuse, DSPP, TGF- β 1). La présence de DSP permet d'induire une différenciation odontoblastique (46), (Figure 19) Le traitement de la dentine à l'EDTA favorise donc l'adhésion, la migration et la différenciation cellulaire, l'angiogenèse et la neurogenèse. (32)

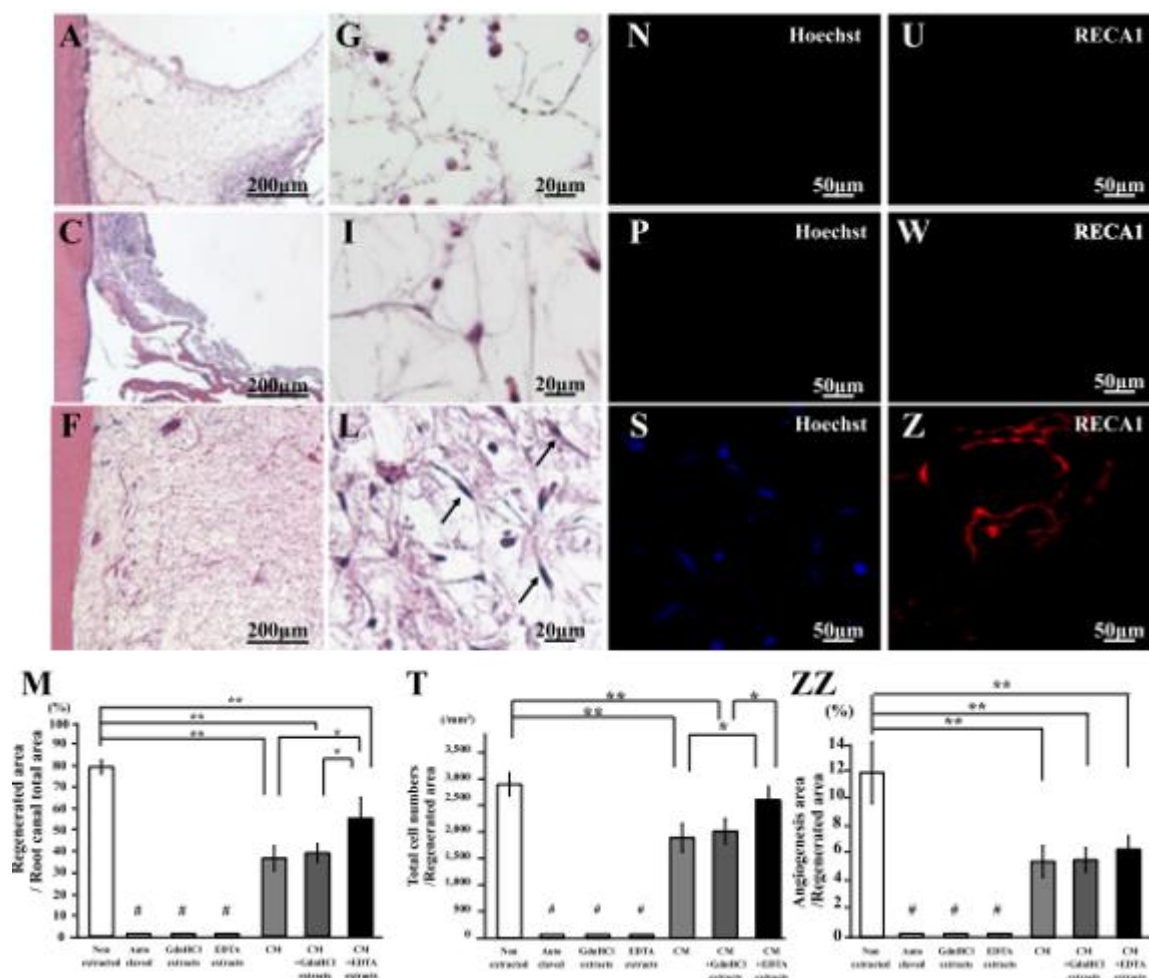


Figure 19: Régénération pulpaire après 28 jours la transplantation de MDPSC avec des extraits de dentine dissout reconstituées. (A, G, N, U) Transplantation de MDPSCs dans les dents sans traitement. (C, I, P, W) Transplantation de MDPSCs dans les dents sans les extraits dissout par EDTA. (F, L, S, Z) Transplantation de MDPSCs dans les dents avec les extraits dissout par EDTA. Rapport entre la surface régénérée et la surface du canal radiculaire (M). Ratio de cellules Hoechst 33342-positives à la surface régénérée (T). Rapport de la surface de vascularisation à la surface totale régénérée (ZZ). (46)

La trypsine est une enzyme protéolytique du suc pancréatique utilisée en clinique depuis plus de 40 ans dans la prise en charge d'œdèmes post-traumatiques ou postopératoires. (32), (65) Iohara et al. en 2020 ont émis l'hypothèse que le prétraitement à la trypsine dans le canal radiculaire pourrait en outre favoriser la libération des molécules bioactives présentes dans la dentine. Ils ont observé qu'il y avait des effets directs et indirects. (32), (Figure 20)

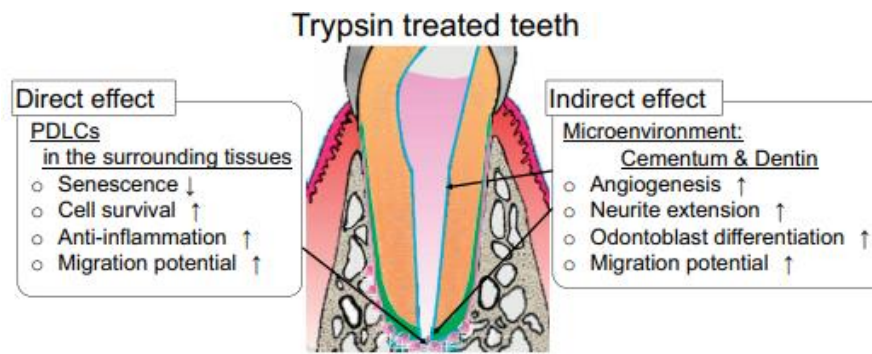


Figure 20: Un diagramme schématique démontrant les effets directs et indirects du prétraitement à la trypsine. (65)

- Les effets directs de la trypsine sont l'augmentation de l'expression de médiateur pro-inflammatoire qui module l'inflammation pulpaire et de molécules anti-apoptotiques. La trypsine a ainsi augmenté les niveaux d'expression des facteurs liés à la réparation tissulaire pour favoriser la régénération de la pulpe dans les dents des chiens âgés. En revanche, la trypsine n'a eu aucun effet sur la régénération pulpaire des dents des jeunes chiens.
- Les effets indirects de la trypsine sont dus à son acidité. Son application sur la dentine va entraîner la formation d'un substrat qui va contenir des molécules bioactives solubles qui vont favoriser la régénération pulpaire. En 2020, Iohara et al. (32) ont examiné les effets d'extraits de dentine dissouts par la trypsine issue de dents de chiens âgés sur l'angiogenèse, l'extension des neurites, la migration cellulaire, les effets immunomodulateurs et la régénération pulpaire. La dentine de chien âgé traitée à la trypsine induit des niveaux d'expression élevés de molécules anti-inflammatoires et de marqueurs pulpaire par rapport à l'EDTA. En culture, les DPSCs adhérentes à une paroi de dentine traitée à la trypsine peuvent se différencier en cellules semblables à des odontoblastes en 4 semaines.

L'étude de Iohara et al. (32) a aussi démontré que la trypsine pouvait être utilisée dans le protocole de régénération pulpaire à la place de l'EDTA. Les conditions d'administration de la trypsine seraient soit 0,05 % de trypsine pendant 30 minutes soit 0,05 % de trypsine avec des nanobulles (NB) pendant 10 minutes. (Figure 21) Ils ont conclu que le prétraitement à la trypsine permet une meilleure régénération de la pulpe sur les dents des chiens âgés par rapport aux chiens non traités. De plus, L'innocuité du prétraitement avec la trypsine dans la régénération pulpaire a été confirmée par l'absence d'anomalie, d'infiltrat inflammatoire et de résorption interne ou externe des dents testées. Les analyses sanguines et de urinaires des chiens traités ont montré des valeurs normales à 12 semaines après le prétraitement à la trypsine.

Dans les études actuelles de régénération pulpaire chez l'homme, la trypsine n'est pas utilisée comme solution d'irrigation. Néanmoins, les résultats pré-cliniques chez le chien montrent que son utilisation pourrait être intéressante pour des thérapeutiques de régénération pulpaire sur des sujets plus âgés, notamment s'il est utilisé avec des nanobulles.

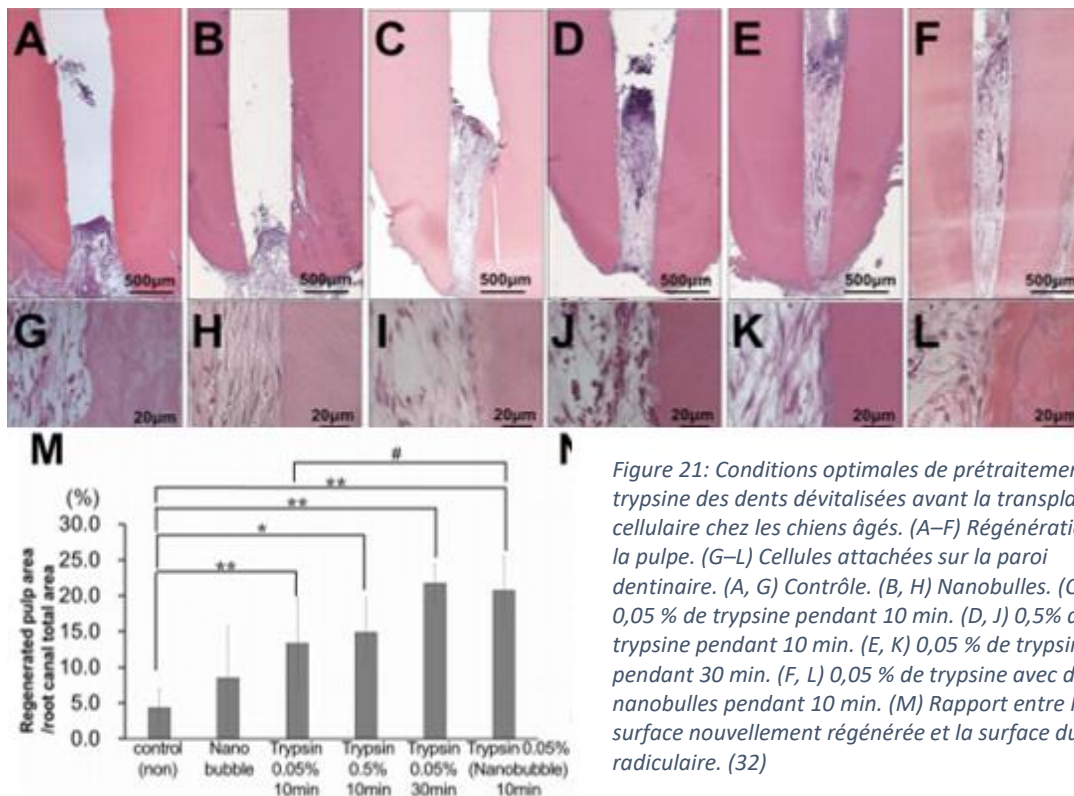


Figure 21: Conditions optimales de prétraitement à la trypsine des dents dévitalisées avant la transplantation cellulaire chez les chiens âgés. (A–F) Régénération de la pulpe. (G–L) Cellules attachées sur la paroi dentinaire. (A, G) Contrôle. (B, H) Nanobulles. (C, I) 0,05 % de trypsine pendant 10 min. (D, J) 0,5% de trypsine pendant 10 min. (E, K) 0,05 % de trypsine pendant 30 min. (F, L) 0,05 % de trypsine avec des nanobulles pendant 10 min. (M) Rapport entre la surface nouvellement régénérée et la surface du canal radiculaire. (32)

5.2.3 : Les produits d'interséance :

Après la préparation canalaire et l'irrigation, il n'est pas recommandé de placer directement la préparation d'ingénierie pulpaire (cellules souches/scaffold/facteurs de croissance) mais le canal pulpaire ne doit pas être laissé vide. Des matériaux d'interséance seront donc insérés dans les canaux. Ces produits ont diverses propriétés dont une capacité désinfectante/antibactérienne pour pérenniser dans le temps l'action des solutions d'irrigation. Dans les procédures de régénération pulpaire, les chercheurs utilisent souvent les matériaux suivants : l'hydroxyde de calcium et les pâtes bi/tri antibiotiques.

L'hydroxyde de calcium (CaOH_2) est un mélange extemporané entre de la poudre de chaux vive (CaO) et de l'eau. Il a les propriétés suivantes : anti-inflammatoires, hémostatique, antiseptiques, ostéo-inducteur et anti-exudatif. Son utilisation ne révèle aucune toxicité pour les cellules souches mais a une efficacité antibactérienne limitée en particulier sur les infections endodontiques persistantes et à cause d'une pénétration dentinaire inadéquate des solutions de désinfection. (66), (67), (68) En France lors d'un traitement endodontique ou d'une procédure de revascularisation, c'est l'hydroxyde de calcium en interséance qui est privilégié.

Dans de nombreux pays du monde, les pâtes bi/tri antibiotiques sont autorisées. Elles sont utilisées pour avoir une désinfection quasi-complète du canal radiculaire lors d'une revascularisation. Pour la régénération pulpaire chez l'Homme, Nakashima et al. (9) ont utilisé des cônes papiers absorbants avec soit de la minocycline soit de la levofloxacine en interséance et Xuan et al. (10) ont mis dans le canal une pâte tri-antibiotique composée de 250 mg de métronidazole, 400 mg de ciprofloxacine et 350 mg d'amoxicilline avant la transplantation. La pâte tri-antibiotique (TAP) est composée le plus souvent de métronidazole (MET), de

ciprofloxacine (CIP) et de minocycline (MINO) pour la désinfection des dents permanentes immatures nécrosées. (69) La majorité des bactéries à l'intérieur du canal radiculaire sont anaérobies. Le MET (un imidazole bactéricide très efficace contre les bactéries anaérobies) constitue donc un antibiotique de premier choix. Le CIP et la levofloxacine sont des antibiotiques de la famille des fluoroquinolones à large spectre puissant contre les pathogènes gram-positifs et négatifs. (70), (71), (72) La MINO est une tétracycline bactériostatique à large spectre (70) et enfin l'amoxicilline (AMOX) est un antibiotique bactéricide de la famille des aminopénicillines, à large spectre d'action, utilisé dans les TAP pour remplacer la MINO. Le TAP a un effet antibactérien puissant mais la survie des cellules souches pulpaires est compromise et il peut provoquer de sévère décoloration radiculaire et coronaire attribué à la MINO. (60), (Figure 22) Une étude *in vitro* récente a montré que la MINO pouvait également induire une inhibition de l'angiogenèse similaire à celle de la cortisone et de l'héparine (73) via la diminution de la sécrétion de facteur de croissance VEGF. (74) De plus, l'élimination complète de la pâte tri-antibiotique dans le canal s'avère difficile et des résidus peuvent par la suite interférer avec le traitement de régénération qui suit la désinfection.

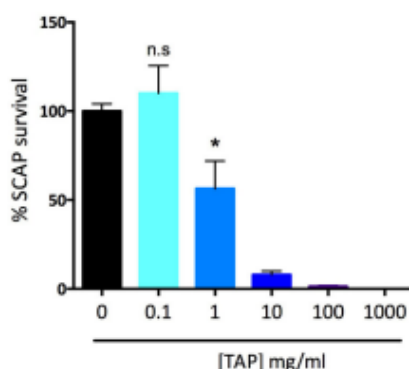


Figure 22: Effet de différentes concentrations de TAP sur la survie de SCAPs *In vitro*. La viabilité des SCAP (cellules souches de la papille apicale) est diminuée selon l'augmentation de la concentration de TAP. (60)

Sato et al. en 1993 (75) montrent qu'aucune bactérie n'a été récupérée après une exposition à des mélanges d'antibiotiques composés au minimum de CIP et MET en plus d'un troisième antibiotique (chaque antibiotique concentré à 100 µg/mL) *in vitro* sur des dents temporaires humaines. Banchs et al. en 2004 (76) ont utilisé pour la première fois une pâte tri-antibiotique dans une procédure de revascularisation endodontique sur une seconde prémolaire immature mandibulaire chez un enfant de 11 ans. Après 26 jours, l'enfant ne s'est plaint d'aucune douleur, la dent était asymptomatique et à la réouverture, aucun exsudat inflammatoire n'a été observé dans le canal. De plus, l'image radio-claire péri-apicale autour de la seconde prémolaire mandibulaire avait nettement réduit.

En pratique clinique, le TAP est mélangé jusqu'à une certaine consistance physique au jugé des praticiens. Il est donc difficile de connaître la concentration exacte de chaque antibiotique. Cependant, il est important de comprendre que tout agent pharmacologique a une fenêtre thérapeutique qui se situe entre sa concentration minimale inefficace (qui est sans effet thérapeutique) à sa concentration excessive (qui entraîne des effets secondaires indésirables et/ou une toxicité).

VI- L'INGÉNIERIE TISSULAIRE PULPAIRE CHEZ L'HOMME :

Avant de pouvoir réaliser ces études cliniques, les différentes équipes ont dû effectuer des expérimentations *in vitro* puis *in vivo* dans des petits modèles animaux (souris), ensuite dans des modèles de grands animaux (chien, furet, « minipigs ») et enfin ils ont dû surmonter les obstacles légaux et sanitaires concernant la transplantation de cellules souches chez l'Homme. Ces étapes ne seront pas décrites dans cette thèse.

6.1. Protocole de l'essai clinique de régénération pulpaire de Nakashima et al. (2017) :

Le but de l'essai clinique de Nakashima en 2017 (essai de phase I) était d'évaluer la sûreté, l'efficacité potentielle et la faisabilité clinique d'une transplantation de MDPSCs autologues induites avec du G-CSF pour la régénération pulpaire dans des dents dévitalisées avec une fermeture apicale complète chez les patients atteints de pulpite irréversible. (9), (31)

1. Les patients ont été informés des risques et traitements alternatifs puis ont signé le document prouvant leur consentement éclairé. Les critères d'inclusion étaient que les patients soient âgés entre 20 et 55 ans avec un diagnostic de pulpite irréversible dans une dent monocalaire, sans fracture, sans radio-clarté péri-apicale et qu'ils aient par ailleurs une dent non fonctionnelle sans carie profonde pouvant être « sacrifiée » pour fournir le tissu pulpaire. Les patients ont été exclus s'ils présentaient des signes d'infection due à un virus, des bactéries, des champignons et des mycoplasmes, une maladie cardiovasculaire sévère, un diabète (avec HbA1c supérieur à 7,0%), une ostéoporose, une grossesse, un handicap mental ou une maladie mentale. De plus, les patients ayant reçu des agents anti-agrégants plaquettaires ou un traitement anticoagulant et qui avaient des antécédents d'allergie aux antibactériens et aux anesthésiques locaux et ayant eu une réaction intracutanée positive à l'atélcollagène ont été exclus. Les patients qui n'ont pas pu bénéficier d'un examen par imagerie par résonance magnétique (IRM) ont également été exclus.

Characteristic	Patient 1	Patient 2	Patient 3	Patient 4	Patient 5
Age (years)	44	27	20	32	21
Gender	Female	Male	Male	Male	Female
Affected tooth	Upper right 2nd premolar	Lower left first premolar	Upper right first incisor	Lower right 2nd premolar	Upper left first incisor
Caries treatment at the first visit	No treatment	Cement filling with camphorated phenol application	Crown tooth fracture	No treatment	Resin filling
Local clinical findings					
Cold/hot pain	-	-	-/+	-	-
Percussion pain	-	-	-	-	+
Tenderness	-	-	-/+	-	-
Electric pulp test	+ (30)	+ (29)	+ (30)	+ (19)	+ (15)
Pulpitis	Chronic ulcer	Chronic ulcer ^a	Acute suppurative	Chronic ulcer	Chronic ulcer
Unnecessary tooth	Upper right 3rd molar	Upper right 3rd molar	Upper right 3rd molar	Upper left 3rd molar	Upper left 3rd molar
Time between pulpectomy and transplantation	11 weeks	3 weeks	6 weeks	3 weeks	12 weeks

Tableau 1: Caractéristiques initiales des patients de l'étude de Nakashima et al. (9)

2. Le liquide plasmatique des patients a été prélevé et le sérum isolé.
3. Les DPSCs autologues ont été isolées à partir des 3^{èmes} molaires des patients. Ces cellules pulpaires ont été isolées par digestion enzymatique de 0.04mg/ml de liberase de grade GMP pendant 30 minutes à 37 °C. Puis elles ont été mises en culture entre 5,6 et $32,0 \times 10^4$ cellules dans des puits de 25 cm² (T25 flask) dans un milieu de type « Dulbecco's modified Eagle's medium » (DMEM) complété avec 10 % de sérum autologue, 2,5 mg/ml d'amphotéricine B et 0,3 % de gentamicine. Les DPSCs ont été détachées par incubation avec « TrypLE™ select » afin d'atteindre 70 % de confluence. Les MDPSCs ont ensuite été isolées par la mobilisation induite par le G-CSF et cultivées dans des conditions optimales : 100 ng/ml de G-CSF, 2×10^4 cellule/100 µl sur le Transwell de culture cellulaire de 24 puits et incubées pendant 48 heures. 1×10^4 cells/cm² cultivées dans du DMEM avec 10 % de sérum autologue et sans antibiotiques au 7^{ème} passage ont été utilisées pour les tests de contrôle qualité et de sécurité.
4. Les MDPSCs ont ensuite été cryoconservées à 1×10^6 cells/ml à -80° C dans un congélateur en attendant le moment d'être transplantées.
5. Les caractéristiques biologiques des MDPSCs comme le taux d'expression des marqueurs de cellules souches, le nombre total de cellules et le taux de survie cellulaire, étaient normaux. De plus, un test de stérilité et un test chromosomique n'ont révélé aucune anomalie avant la transplantation. Ces résultats ont démontré la sûreté des MDPSCs qui sont de qualité clinique.

Dans la même séance, en parallèle du prélèvement des dents de sagesse, les pulpectomies des dents prévues pour recevoir les cellules ont été réalisées selon le protocole opératoire suivant (Figure 23) : (9), (31)

1. Réalisation d'une anesthésie locale, élimination des caries, réalisation d'une reconstitution des parois manquantes avec de la résine composite.
2. La mise en forme canalaire et apicale est réalisée après détermination de la longueur canalaire avec une lime K 25/100 en utilisant un localisateur d'apex. L'ouverture foraminale est relativement petite (0,6–0,7 mm).

3. Les systèmes canaux ont été irrigués alternativement avec 3 ml d'hypochlorite de sodium (NaOCl) à 6 % et 3 % d'eau oxygéné (H₂O₂) et avec 5 ml de solution saline. Puis les canaux ont été séchés avec des pointes papier.
4. En interséance, une pointe papier humidifiée avec 10 mg / ml de MINO ou 0,5 % de lévofloxacine a été insérée dans le système canalaire pour compléter la désinfection canalaire. Il est habituellement utilisé une pâte tri-antibiotique (TAP) pendant 1 mois dans le canal pour obtenir une désinfection proche de 100 %. Cependant, Nakashima n'a pas utilisé ce produit probablement à cause de ces effets secondaires : coloration dentaire, toxicité cellulaire, difficulté de nettoyage du produit.
5. La cavité d'accès a été temporairement fermée avec un ciment à double joint : du Caviton et de la résine composite avec procédure adhésive.

Lors de la séance de transplantation, les opérations suivantes ont été effectuées : (9), (31)

1. Un examen clinique a été réalisé pour confirmer l'absence de sensibilité modérée à sévère de la dent à la percussion et à la palpation. Si une telle sensibilité était observée, le traitement du canal radiculaire était répété.
2. Après la pose d'un champ opératoire, les canaux ont été irrigués avec 3 ml de NaOCl 6 % et 3 % H₂O₂, 5 ml de solution saline et enfin avec 2 ml de solution d'EDTA à 3 % pendant 2 minutes et 5 ml de solution saline. Ils ont été séchés avec des pointes papier en prenant soin de ne pas provoquer de saignement.
3. Pour la transplantation, 1 x 10⁶ MDPSCs autologues cryoconservées ont été suspendues dans 40 µl d'un scaffold d'atélocollagène de qualité clinique avec 300 ng de G-CSF. Ensuite, la moitié de la suspension (environ 20 µl) a été transplanté dans le canal à l'aide d'une canule en veillant à ne pas introduire de bulles à l'intérieur.
4. Une éponge de gélatine a été placée au-dessus du mélange dans l'orifice du canal radiculaire sans pression.
5. Une couche de ciment verre ionomère (CVI) puis de composite ont enfin été placées au-dessus de l'éponge pour l'obturation de la cavité d'accès et éviter les micro-fuites. Les dents ont parfois été recouvertes avec une couronne scellée temporairement.

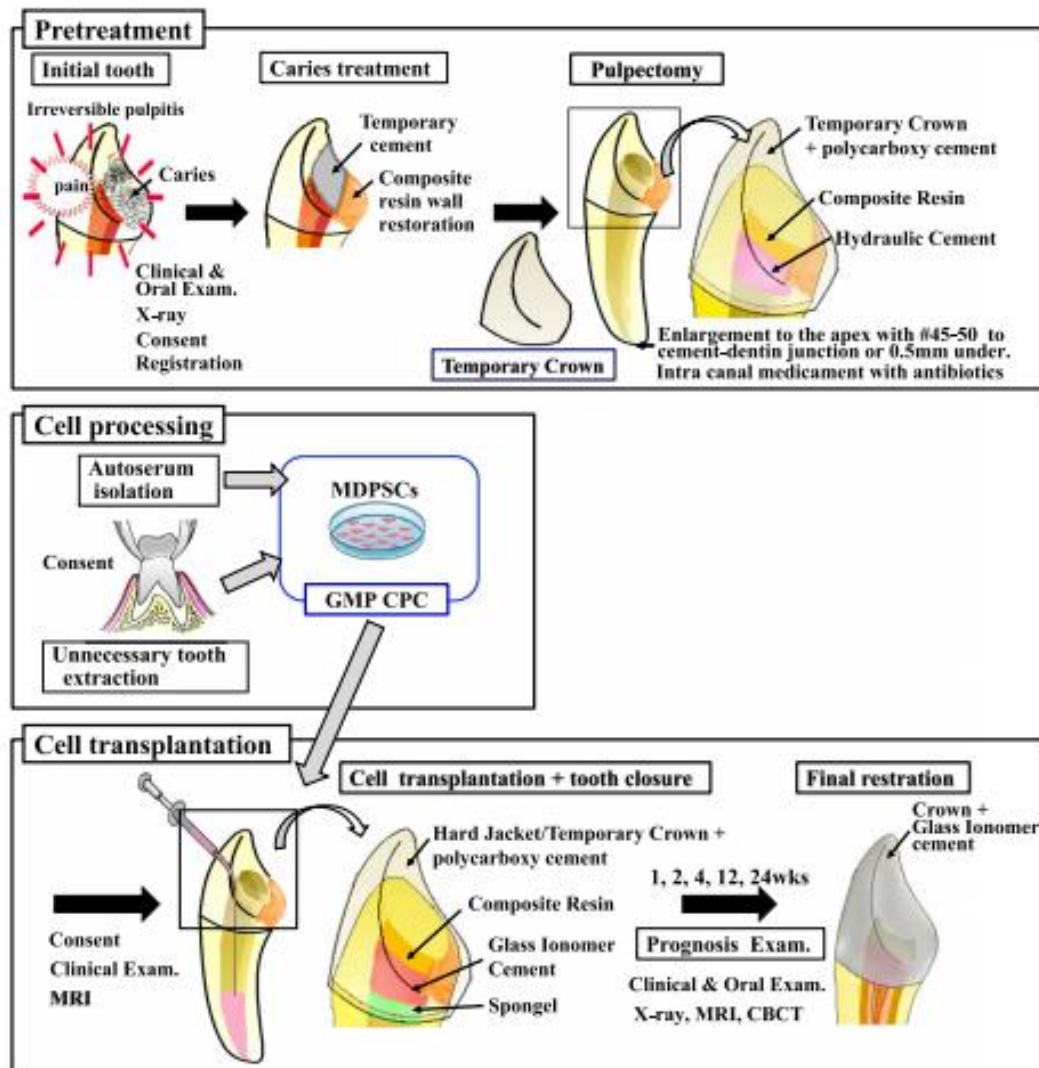


Figure 23: Illustrations décrivant étape par étape les séquences de l'étude clinique de Nakashima et Al. réalisée sur l'Homme. (9)

6.2. Protocole de l'essai clinique de régénération pulpaire de Xuan et al. (2018) :

En 2018, Xuan et al. (10) publient un article scientifique dans lequel ils décrivent une transplantation de hDPSCs issu de dents lactéales (communément appelées SHEDs) dans des dents permanentes immatures d'une trentaine d'enfants. Le but de leur étude est de comparer la thérapie conventionnelle appelée apexification à la transplantation d'agrégats d'hDPSCs et d'évaluer si hDPSCs pourraient apporter des améliorations pour la régénération dentino-pulpaire.

1. Les patients incluent dans l'essai clinique devaient répondre aux critères suivants : être âgé entre 7 et 12 ans avec une denture mixte, avoir une incisive permanente avec une pulpe nécrotique suite à un traumatisme, avoir une incisive maxillaire temporaire saine et être considéré apte à suivre le protocole de thérapie cellulaire. Les enfants étaient exclus quand ils présentaient un état de malnutrition (concentration d'albumine sérique <2 g/dL), une maladie systémique, un antécédent d'une pathologie héréditaire, une phobie des soins dentaires, une dysplasie dentaire, un bruxisme ou malocclusion, aucunes dents lactéales donneuses de hDPSCs,

lésions dentaires sévères (fractures radiculaire ou corono-radulaire), une mauvaise hygiène bucco-dentaire. Les patients pouvaient être retirés de l'étude à cause des critères suivants : traumatisme secondaire, réaction allergique et forte douleur après implantation des cellules souches, et infection du tissu péri-apicale.

2. Ils ont inclus 40 patients âgés de 7 à 12 ans avec une incisive permanente en nécrose pulpaire suite à un traumatisme dont 30 qui ont reçu la transplantation et les 10 autres ont eu une apexification avec un suivi sur 24 mois. Les patients ont été répartis dans les groupes en suivant un protocole de randomisation en suivant un ratio 3 :1 à l'aide d'un générateur de randomisation en ligne (www.randomization.com) et a été dissimulé par une personne sans lien avec le groupe de gestion de l'essai-clinique. Les participants, le personnel de l'étude et les évaluateurs des résultats étaient tous en aveugle quant à l'attribution du traitement, et les données ont été maintenues cachées jusqu'à ce que toutes les données aient été analysées. Dans le groupe expérimental (30 dents), une canine lactéale maxillaire a été choisie pour l'extraction pulpaire et une incisive traumatique a été choisie pour être implantée. Dans le groupe control (10 dents), l'incisive traumatique a été traitée par apexification en utilisant de l'hydroxyde de calcium (CH) comme matériau d'obturation.

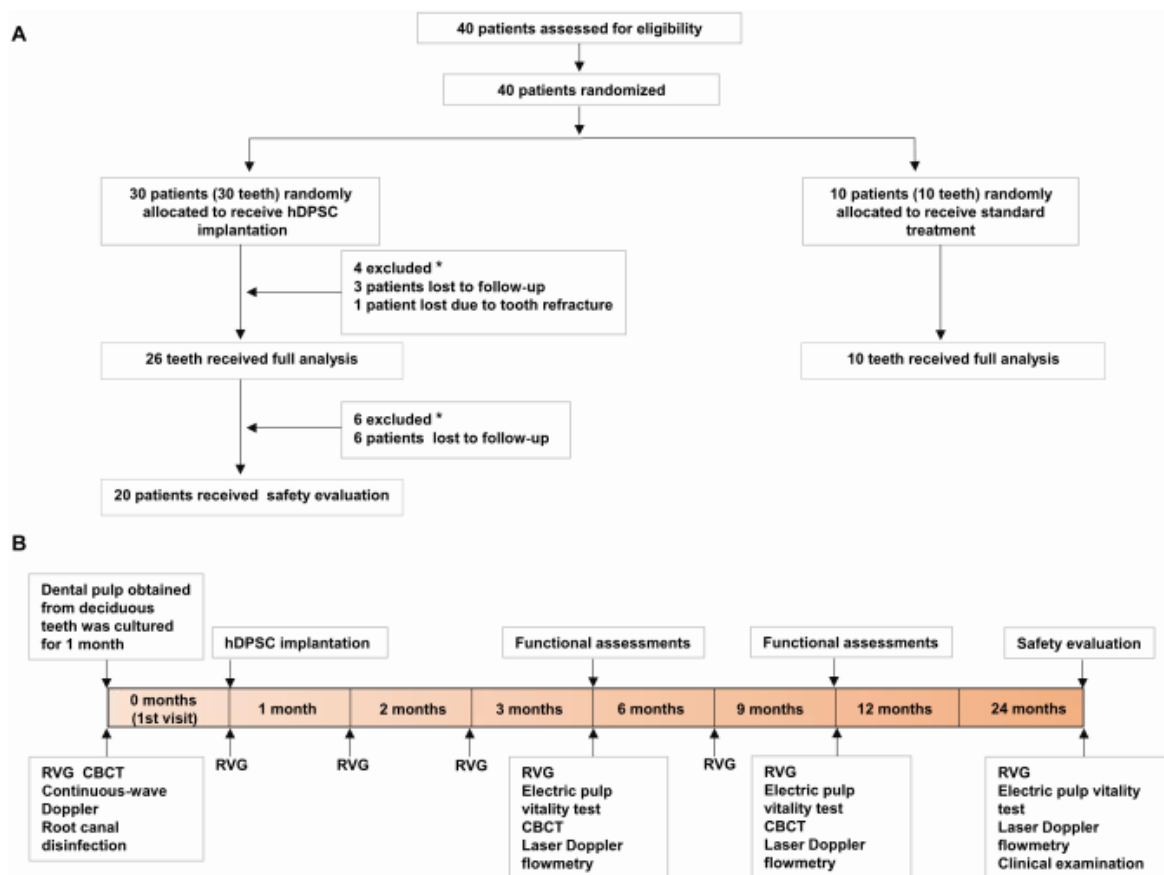


Figure 24: Profil de l'essai clinique et calendrier de l'étude. (A) Conception d'un essai clinique pour examiner la régénération de la pulpe dentaire par des hDPSC autologues. (B) Les événements de l'étude et le calendrier des procédures et des tests. (10)

3. Les hDPSCs ont donc été prélevées sur des canines temporaires maxillaires. La pulpe a été extraite grâce à des tire-nerfs puis le canal a été préparé avec des limes K et irrigué avec 20 ml de NaOCl à 3 % et enfin rempli avec de l'hydroxyde de

calcium mélangé avec de la pâte iodoforme et la cavité d'accès a été scellée avec du CVI.

4. La pulpe extraite a été mise dans des conditions stériles puis découpée en petit morceau pour ensuite être digérée par une solution de 3 mg/ml de collagénase I et 4 mg/ml de dispase pendant 1 heure à 37° C. Les cellules en suspensions ont étéensemencées dans des puits de 75 cm² à une densité de 1 x 10⁵ cells/cm². Après 24 heures, les cellules non adhérentes ont été éliminées et les autres ont été mises en culture dans un milieu α -MEM avec 10 % de FSB, 0.292 mg/ml de glutamine, 100 U/ml de pénicilline et 100 mg/ml de streptomycine pendant 2 semaines. Les marqueurs de surface phénotypiques des hDPSCs ont été mesurés et la morphologie des cellules a été évaluée et acceptée pour la formation d'agrégats cellulaires.
5. Les hDPSCs de second passage ont été digérées avec de la trypsine et 5 x 10⁵ cellules ont étéensemencées sur une plaque de 6 puits et cultivées pendant 24h dans un milieu de culture. Quand les cellules ont atteint 80 % de confluence le milieu de culture a été changé pour un nouveau milieu contenant 100 μ g/ml de vitamine C à une densité cellulaire de 1 x 10⁶ cellules/puits. Le milieu de culture a été renouvelé tous les 2 jours. Après 10 jours d'incubation, une structure membranaire blanche a pu être observée et les agrégats cellulaires se sont épaissit avec le temps.
6. Les incisives permanentes immatures traumatisées ont été préparées. Le canal radiculaire a été instrumenté grâce à des limes K et irrigué avec du NaOCl à 3 % et rincé avec une solution saline stérile pour éliminer le tissu pulpaire nécrotique. Le nettoyage et le débridement ont été réalisés avec action pariétale très légère pour éviter l'élargissement du canal et l'affaiblissement des parois radiculaires. Le canal a été séché avec des cônes papier puis rempli de TAP composée de 250 mg de MET, 400 mg de CIP et 350 mg d'AMOX pendant 3 à 4 semaines.
7. Enfin, avant la transplantation, les agrégats de hDPSCs ont été nettoyées 3 fois avec une solution saline tamponnée au phosphate et remis en suspension dans 1 ml de solution saline. Chaque agrégat cellulaire contient 5 x 10⁷ hDPSCs. Le TAP a été retiré puis un saignement péri-apicale a été provoqué et 2 agrégats de hDPSCs ont été implantés dans le canal. Du MTA (« mineral trioxide aggregate ») a été utilisé pour sceller la partie coronaire du canal radiculaire et du CVI enrichi avec de la résine pour la cavité d'accès. (*Figure 25*)

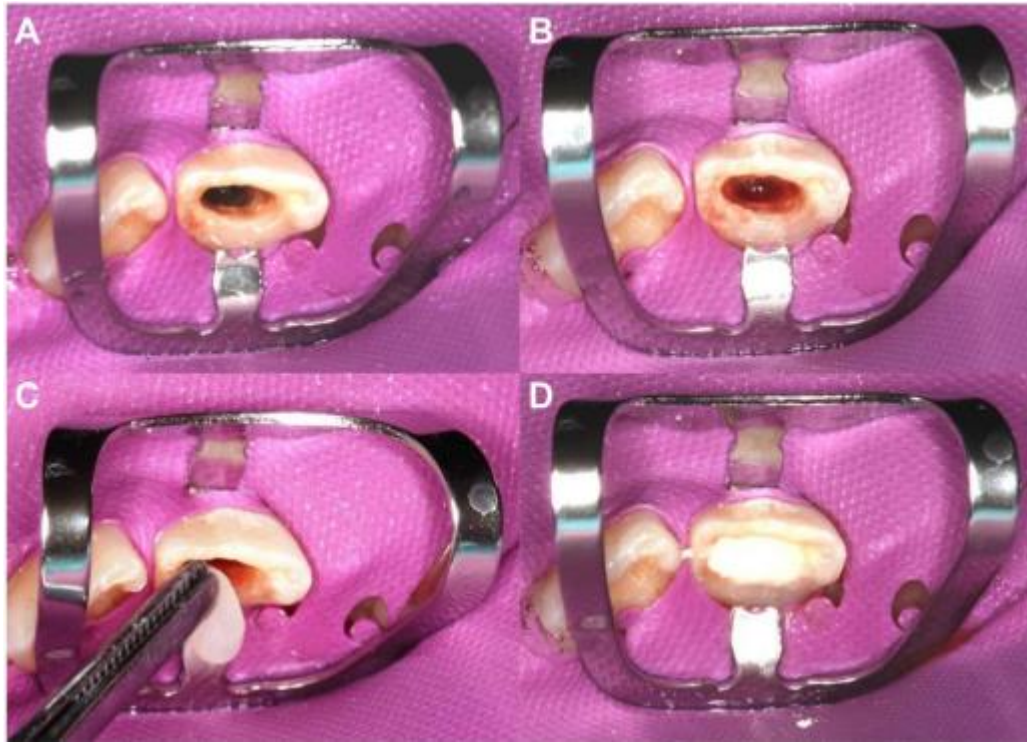


Figure 25: Implantation d'agrégats de hDPSC chez les patients. (A) Désinfection du canal radiculaire. (B) Le tissu périapical a été lacéré pour provoquer un saignement. (C) Deux agrégats de hDPSC ont été implantés dans le canal radiculaire et poussés dans l'extrémité apicale de la racine. (D) Un bouchon de MTA a été utilisé pour sceller le canal radiculaire et les cavités d'accès ont été temporairement scellées avec un CVI. (10)

Les principaux critères de jugement de l'essai clinique comprenaient la sensation dans les incisives implantées par hDPSC, évaluée par un test électrique, la formation vasculaire évaluée par fluxmétrie au laser Doppler et/ou la formation de nerfs et de vaisseaux sanguins montrée par l'analyse histologique qui a pu être réalisée. Les objectifs secondaires comprenaient une augmentation de la longueur des racines et une diminution de la largeur du foramen apical sur la base de l'analyse radiologique.

6.3 : Méthodes d'évaluation de la régénération pulpaire :

Il existe de nombreuses techniques pour évaluer la régénération pulpaire, ses fonctions et sa morphologie comme les tests de vitalité pulpaire, les techniques d'imagerie médicale, l'analyse d'expression génique et protéique et l'étude histologique.

Sur l'homme, certaines analyses ne sont pas possibles comme pour l'analyse histologique et l'étude de l'expression génique/protéique car il faudrait faire l'extraction de la dent transplantée. Cependant, les circonstances ont fait que Xuan et al. (10) ont pu réaliser une analyse histologique lors de son essai clinique suite à un traumatisme secondaire chez l'un des sujets suivis.

Les méthodes les plus couramment utilisées en pratique clinique pour déterminer l'état de la pulpe sont des tests de sensibilité comprenant le test thermique et le test électrique. Ces tests ne peuvent pas évaluer objectivement l'état du tissu pulpaire car ils dépendent de la réaction du patient à un stimulus externe. (9), (77) Ces tests permettent souvent de déterminer le niveau pathologique de la pulpe (pulpite réversible, pulpite irréversible ou nécrose pulpaire)

et donc d'influencer la prise en charge thérapeutique. Ils apportent des informations sur l'état de l'innervation de la pulpe mais ne sont pas très pertinents lors de la régénération pulpaire. Ils ne sont pas applicables pour l'évaluation de l'efficacité du traitement endodontique régénératif. Toutefois, ils donneraient une information sur une possible réinnervation de la pulpe, sans la confirmer pour autant. (77)

Au cours d'un traitement régénératif, la tomodensitométrie à faisceau conique (CBCT) et les radiographies rétro-alvéolaires peuvent informer sur l'évolution du volume pulpaire, la quantité de tissu minéralisé et la cicatrisation d'une lésion péri-apicale. Par contre, ces techniques ne permettent pas de connaître la nature histologique des tissus produits.

La Fluxmétrie par laser Doppler mesure le flux des cellules sanguines dans un tissu. Cette méthode objective se base sur le principe de l'effet Doppler et la transmission de la lumière par les tissus dentinaires. (78) Elle permet d'évaluer la vitalité pulpaire grâce à sa perfusion sanguine. (79)

Ariji et al. en 2018 dans leur revue de littérature sur l'utilisation de l'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) en endodontie, indiquent que c'est une technique dont la haute résolution en T1 permet d'évaluer la morphologie de la pulpe dentaire, la profondeur de déminéralisation et les anomalies dentaires. La vitalité pulpaire et la revascularisation sont, elles, visibles avec une imagerie pondérée en T2 en fat-saturation ou une imagerie pondérée en T1 à contraste amélioré. (80) L'IRM fournit des images de haute résolution qui permettent une discrimination fine du niveau de vascularisation de la pulpe dentaire. (9), (77) C'est une technique qui semble ne présenter aucun risque pour la santé. Cette technique peut donc être utile pour une caractérisation précise des tissus formés pendant une thérapie régénérative par cellules souches. (77) En cas d'inflammation tissulaire, l'élévation du niveau hydrique contenue dans la pulpe peut être observable. (9)

Iohara et al. ont commencé à travailler avec l'IRM dès 2016, (77) au cours de leurs études de transplantation de MDPSCs avec du G-CSF et du collagène dans une dent de chien. Ils ont obtenu un tissu régénéré semblable à de la pulpe normale en termes d'intensité de signal (SI) à 90 et 180 jours après la transplantation. (Figure 26) L'étude histologique qui a suivi, a montré que le tissu pulpaire à 90 et 180 jours était effectivement mature et avec un système vasculaire normal. (77)

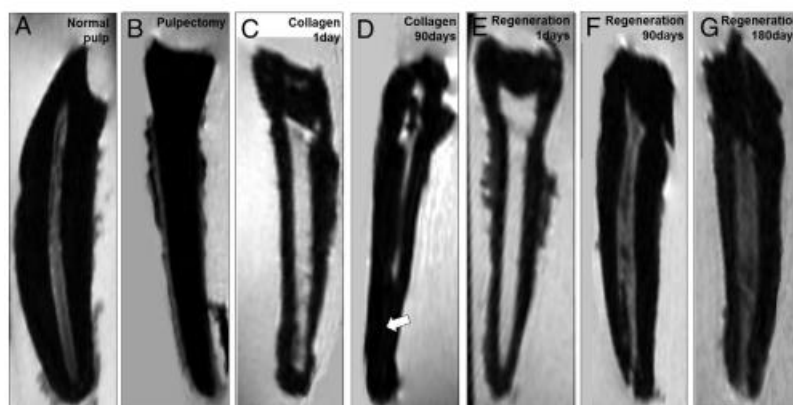


Figure 26: Les changements d'aspect du tissu pulpaire observable par IRM. (A–G) IRM sagittale pondérée en T2. (A) Dent avec un tissu pulpaire normal. (B) Dent dépulpée. (C) Dent 1 jour après la transplantation de collagène seul. (D) Dent 90 jours après la transplantation de collagène seul. La flèche indique une intensité de signal (SI) très bas dans la partie apicale du canal radiculaire. (E) Dent 1 jour après la transplantation de MDPSCs et G-CSF avec du collagène. (F) Dent 90 jours après la transplantation de MDPSCs et G-CSF avec du collagène. (G) Dent 180 jours après la transplantation de MDPSCs et G-CSF avec du collagène. L'aspect pulpaire après transplantation de MDPSCs et G-CSF est similaire à celui d'une pulpe saine dès 90 jours après la transplantation. (77)

6.4 : Résultats de la transplantation de MDSPC chez l'homme :

Les tests de sûreté réalisés sur les patients n'ont montré aucun événement indésirable lié à la transplantation cellulaire. Les examens sanguins, urinaire et l'électrocardiogramme de suivi chez tous les patients pendant 24 semaines étaient normaux. De plus, les examens cliniques dentaires n'ont montré aucune douleur post-opératoire (douleur et sensibilité à la percussion). (9), (Tableau 2)

Characteristics	Patient 1	Patient 2	Patient 3	Patient 4	Patient 5
Abnormality					
Blood test	-	-	-	-	-
Urine test	-	-	-	-	-
Cardiogram	-	-	-	-	-
Local clinical examination	-	-	-	-	-
Electric pulp test					
Day positive reaction started	+	- ^a	+	+	+
	Day 6 (25, 29, 31) (control right lower 2nd premolar 31)		Day 6 (55, 58, 69) (control left upper canine 48)	Day 28 (49, 64, 80+) (control left lower 2nd premolar 24)	Day 14 (45, 62, 80+) (control right upper incisor 13)
12 weeks	+	- ^a	+	+	+
	(34, 38, 36) (control left upper 2nd premolar 45)		(43, 47, 47) (control left upper incisor 37)	(39, 44, 52) (control left lower 2nd premolar 23)	(53, 53, 59) (control right upper incisor 11)
24 weeks	+	- ^a	+	+	+
	(40, 41, 44) (control left upper 2nd premolar 41)		(43, 44, 46) (control left upper canine 25)	(50, 57, 57) (control right lower 1st premolar 24)	(43, 48, 51) (control right upper incisor 10)
MRI (relative signal intensity of apical part of root canal at 24 weeks)	0.8	0.9	0.9	0.7	0.9
X-ray (periapical radiolucency at 24 weeks)	-	-/+ ^{b, c}	-	+	-
Cone beam computed tomography (lateral dentin formation)	+	-	-	+	+

Tableau 2: Évaluation de l'innocuité et de l'efficacité. a. La réaction positive a été détectée après 36 semaines. b. La zone de la radioclarité périapicale a progressivement diminué après la transplantation cellulaire. c. Un élargissement de l'espace ligamentaire parodontal a été détecté. (9)

Pour l'évaluation de l'efficacité de la transplantation chez l'Homme, l'équipe de Nakashima a d'abord utilisé : (9)

- Des tests électriques pour l'évaluation de la sensibilité pulpaire chez tous les patients ont été réalisés. (Tableau 2) Ils ont montré une réponse négative avant la transplantation cellulaire. Cependant, il y avait une réponse positive après 4 semaines chez quatre patients, suggérant une réinnervation dans le tissu pulpaire régénéré. Ce résultat est comparable aux résultats précliniques chez le chien où le tissu pulpaire était régénéré dans 70 à 80 % du volume total du canal radiculaire en 4 semaines. (28)
- Grâce à l'IRM, ils ont évalué le SI du tissu régénéré dans les canaux radiculaires. Les canaux dévitalisés avant la transplantation ont montré un SI faible. L'évaluation du SI dans le canal radiculaire approchait celle de la pulpe normale après 24 semaines pour 4

patients. Le SI était homogène sur toute la longueur du canal indiquant une régénération complète de la pulpe. Dans le cas du patient 2 qui a développé une parodontite apicale avant la transplantation, seul le SI dans la zone apicale était similaire aux autres patients à 24 semaines. (Figure 27) Ce résultat peut suggérer que, même en cas de parodontite apicale, une revascularisation peut se produire après une transplantation cellulaire. L'IRM peut constituer une méthode fiable pour montrer la présence d'un tissu pulpaire vascularisé, mais en l'absence d'étude histologique, on ne peut pas savoir si ce tissu contient aussi des odontoblastes. (9), (77)

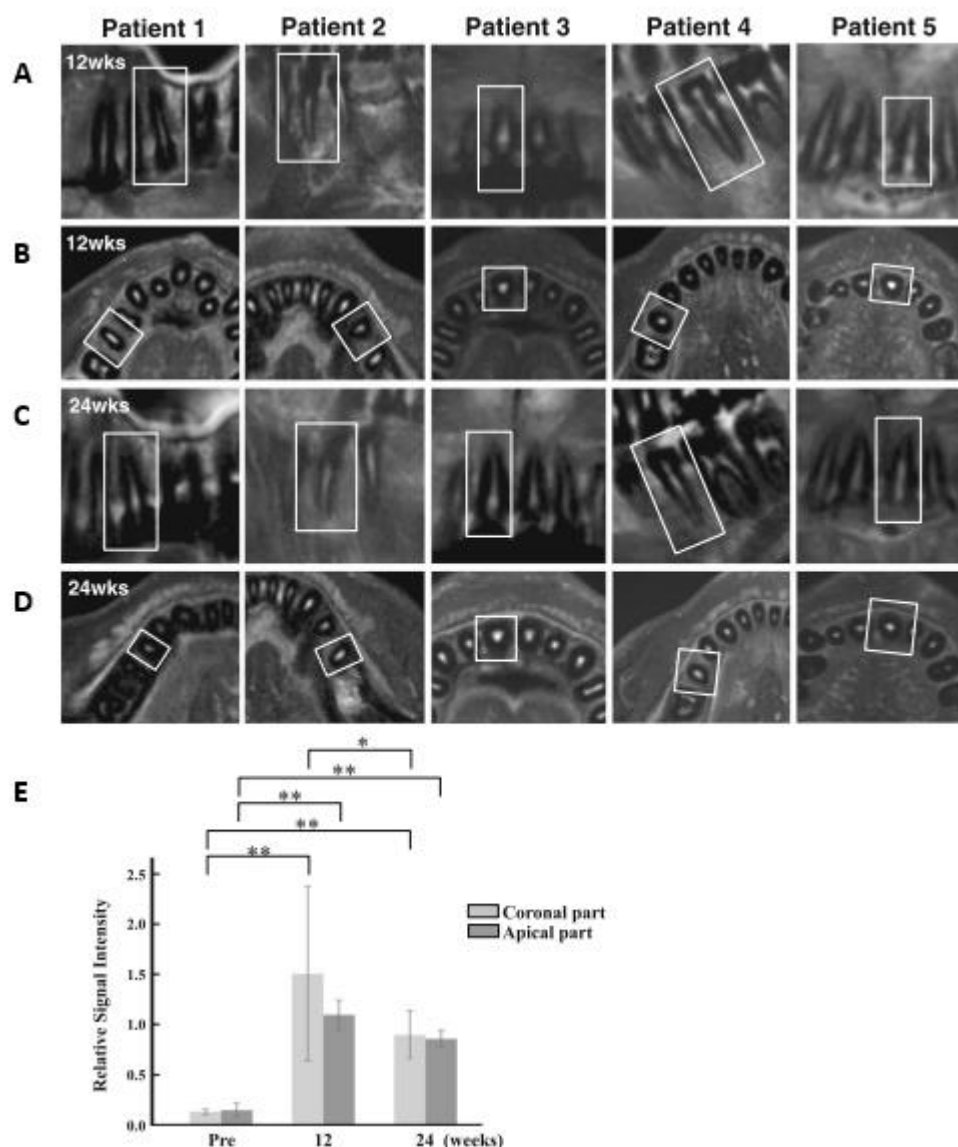


Figure 27: Analyse par IRM en « fat-suppressed T2-weighted » (FST2W), des canaux radiculaires transplantés avec des MDPSCs. (A-B) à 12 semaines, (C-D) à 24 semaines, (A-C) en coupe sagittale, (B-D) en coupe axial au niveau de la coronaire du canal. (E) SI relatif de l'IRM. (9)

- Les radiographies dentaires à 24/28 semaines ont montré une oblitération de la portion apicale préalablement élargie lors de la pulpectomie dans trois cas (patients 1, 3 et 5). Les examens radiographiques effectués n'ont montré aucune modification des zones péri-apicales liées à la thérapie cellulaire chez ces trois mêmes patients. (Tableau 2, Figure 28)

- Chez le patient 2, il y avait une lésion péri-apicale diagnostiquée avant la transplantation. Celle-ci a progressivement réduit en taille et en radioclarité au cours du suivi de 24 semaines.
- Un élargissement du ligament parodontal à 12 semaines et une radioclarité péri-apicale à 24 semaines étaient observables pour le patient 4. Cependant, la réponse positive au test électrique est restée la même entre la semaine 4 et 24. La lésion n'a pas évolué à la radiographie à la semaine 32. Nakaskima et al. pensent que cette image serait due à une infection secondaire soit à cause de bactéries ayant persisté dans le canal ou à une micro-fuite au niveau de la restauration coronaire.
- L'analyse avec un CBCT à 28 semaines a montré une formation de dentine latérale dans trois cas (patients 1, 4 et 5). (*Tableau 2, Figure 28*) Les volumes de la pulpe dentaire à la semaine 28 ont diminué par rapport à la semaine 16 : de $0,0143 \text{ cm}^3$ à $0,0125 \text{ cm}^3$ chez le patient 1 et de $0,0110 \text{ cm}^3$ à $0,0081 \text{ cm}^3$ chez le patient 4. Cette diminution chez le patient 4 atteste de la présence de cellules ostéo/odontogéniques dans le canal pulpaire malgré la lésion péri-apicale.

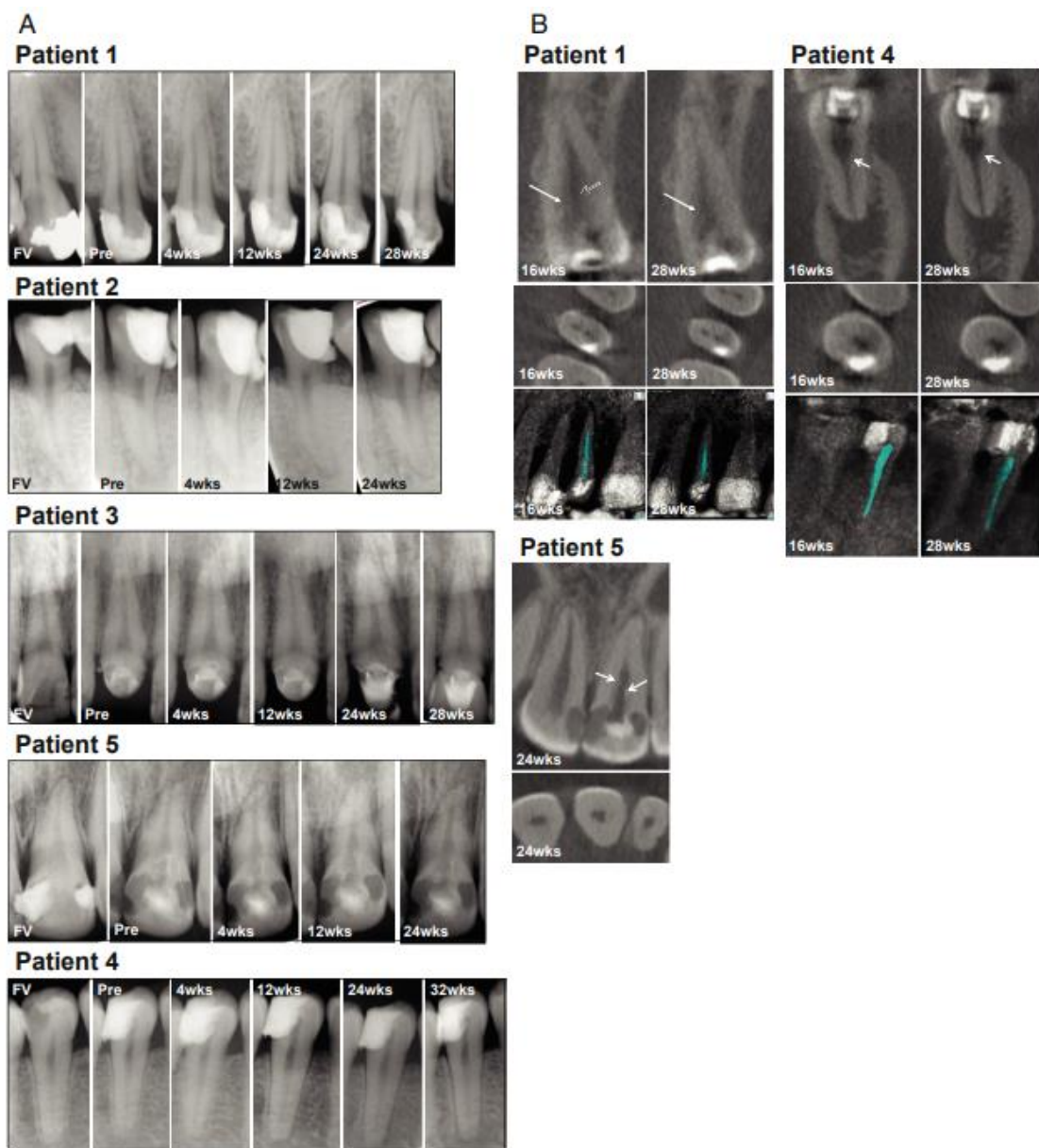


Figure 28 : (A) Analyse radiographique pour montrer les changements et l'évolution des tissus péri apicaux et la formation de tissus minéralisés apicaux et/ou latéraux dans le canal radiculaire lors des différentes visites. (B) Évaluation par tomodensitométrie à faisceau conique de la formation de dentine apicale/latérale dans le canal radiculaire en coupes coronales et axiales chez 3 patients à 16 et 28 semaines. Les flèches indiquent la dentine nouvellement formée. (9)

6.5 : Résultats de la transplantation de SHEDs chez l'homme :

Un total de six patients a été exclu durant l'étude car ils ont soit changé de lieu d'habitation soit la dent transplantée a subi un traumatisme secondaire. Les patients n'ont eu aucun effet secondaire pendant tout le suivi de l'étude (à 12 mois et 24 mois). Les analyses sanguines (NFS des lymphocytes B, T CD 4+ et T CD 8+ et les cellules « natural killer »), la fonction hépatique, rénale et cardiaque étaient normales. L'implantation de hDPSCs n'a eu aucun effet sur la réponse immunitaire, la fonction hépatique, la fonction rénale et la fonction myocardique à 24 mois après le traitement. De plus, la transplantation des hDPSCs n'a pas

provoqué d'inflammation péri-apicale visible à la radiographie. (10) La transplantation de SHEDs chez l'Homme s'est donc avérée sûre.

Pour l'évaluation de l'efficacité de la transplantation chez l'Homme, l'équipe de Xuan a utilisé : (10)

- Tous les patients ont été initialement, testés négatifs au test électrique de vitalité pulpaire sur l'incisive traumatisée. Dans l'étude de Xuan, un seuil qui diminue indique une plus grande sensation. Les dents étaient aux alentours de -0,1 au début de l'essai clinique et les examinateurs ont constaté une diminution de $-35,26 \pm 6,90$ à 6 mois à $-43,43 \pm 0,86$ à 12 mois et $-44,55 \pm 1,10$ à 24 mois après la transplantation de hDPSCs. (Figure 29) Ces résultats semblent montrer une réinnervation stable du tissu régénéré.

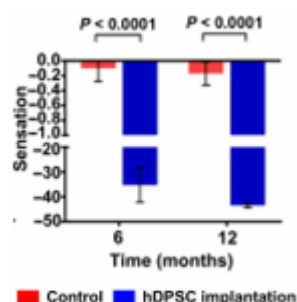


Figure 29: La sensation mesurée par le test électrique pulpaire. Le groupe control est le groupe ayant reçu l'apexification. (10)

- La fluxmétrie par laser Doppler a montré le flux moyen des cellules sanguines sous forme de lecture linéaire en unités de perfusion (UP). Au départ, les tests ont donné une moyenne de $2,81 \pm 0,41$ PU pour le groupe traité par hDPSCs. À 6 mois, la fluxmétrie a montré une augmentation moyenne de la formation vasculaire à $6,39 \pm 0,83$ PU puis à 12 mois, une augmentation à $7,19 \pm 0,77$ PU et enfin à 24 mois, les résultats étaient à $8,39 \pm 1,35$ PU pour le groupe d'implantation de hDPSCs. (Figure 30)

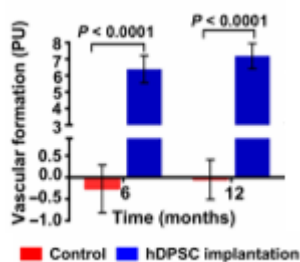


Figure 30: la formation vasculaire mesurée par la fluxmétrie laser Doppler. Le groupe control est le groupe ayant reçu l'apexification. (10)

- Xuan et al. ont pu réaliser une analyse histologique sur le tissu régénéré 12 mois après la transplantation grâce à l'accord d'un patient et suite à un second traumatisme sur sa dent. Cette analyse a montré que l'implantation de hDPSCs avait conduit à la régénération du tissu pulpaire complet en trois dimensions contenant une couche d'odontoblastes, du tissu conjonctif et des vaisseaux sanguins, similaire à la pulpe dentaire normale. (Figure 31)

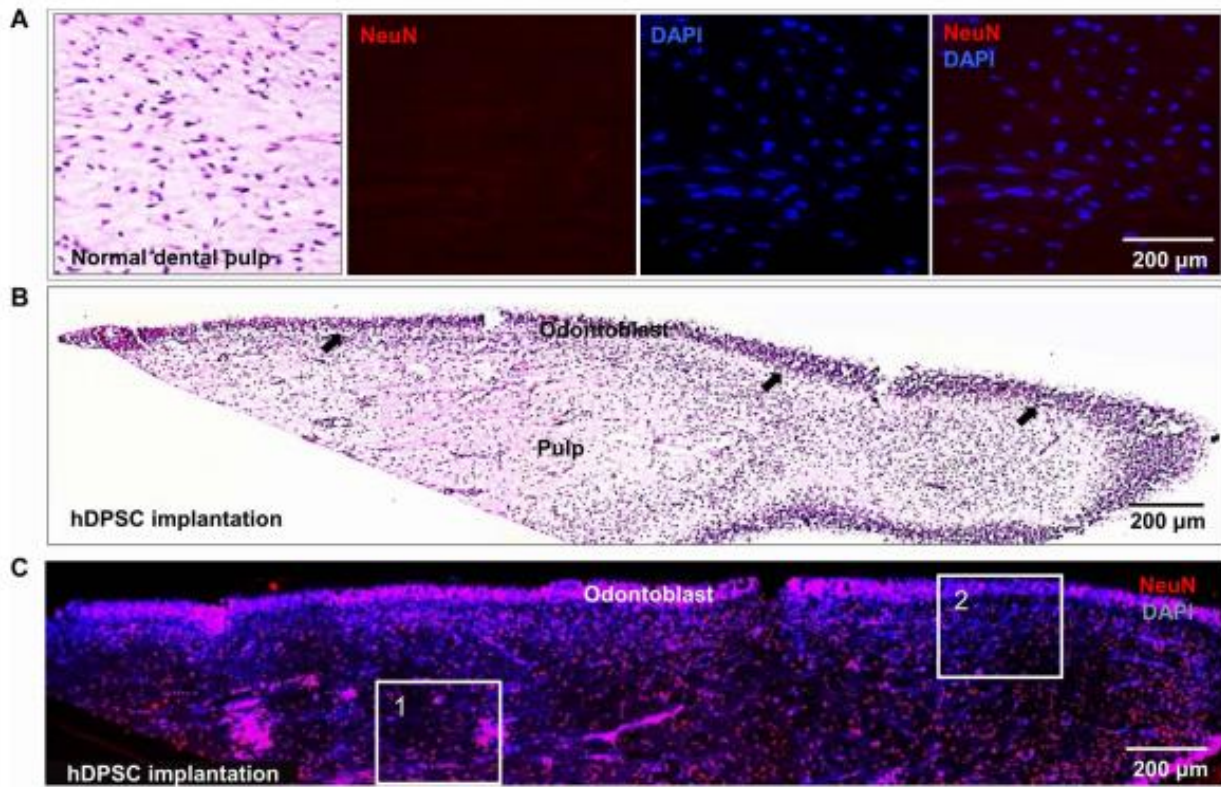


Figure 31 : Analyse histologique de la pulpe dentaire régénérée par hDPSC. (A) Des images histologiques représentatives montrent que le tissu pulpaire normal des dents humaines (B) Image représentative d'une incisive humaine 12 mois après l'implantation de hDPSC montre un tissu pulpaire régénéré avec une structure tissulaire similaire à celle du tissu pulpaire humain normal. Des odontoblastes (flèches noires). (C) Le tissu pulpaire régénéré après l'implantation de hDPSC contenait des cellules NeuN-positives (rouge) (marqueur neuronal) ; Le DAPI (bleu) a été utilisé pour colorer les noyaux. (10)

- Chez l'Homme, Xuan et al. ont observé que la longueur de la racine a été augmentée et le foramen apical a été fermé à 12 mois après la transplantation de hDPSCs. Ceci a été confirmé par le CBCT. (Figure 32) Lors de la première visite, les enfants avaient en moyenne une longueur radiculaire de $10,69 \pm 1,32$ mm et une largeur apicale de $3,17 \pm 0,69$ mm avant la transplantation des hDPSCs. Au CBCT réalisés à 6 et 12 mois, la longueur de la racine et l'épaisseur de la dentine ont augmenté et le foramen apical s'est fermé pour le groupe ayant eu la transplantation. L'augmentation de la longueur de la racine a été mesurée à $4,06 \pm 0,82$ mm à 6 mois et $5,24 \pm 0,92$ mm à 12 mois. La diminution de l'ouverture apicale a été mesurée à $1,73 \pm 0,49$ mm à 6 mois et $2,64 \pm 0,73$ mm à 12 mois. (Figure 32)

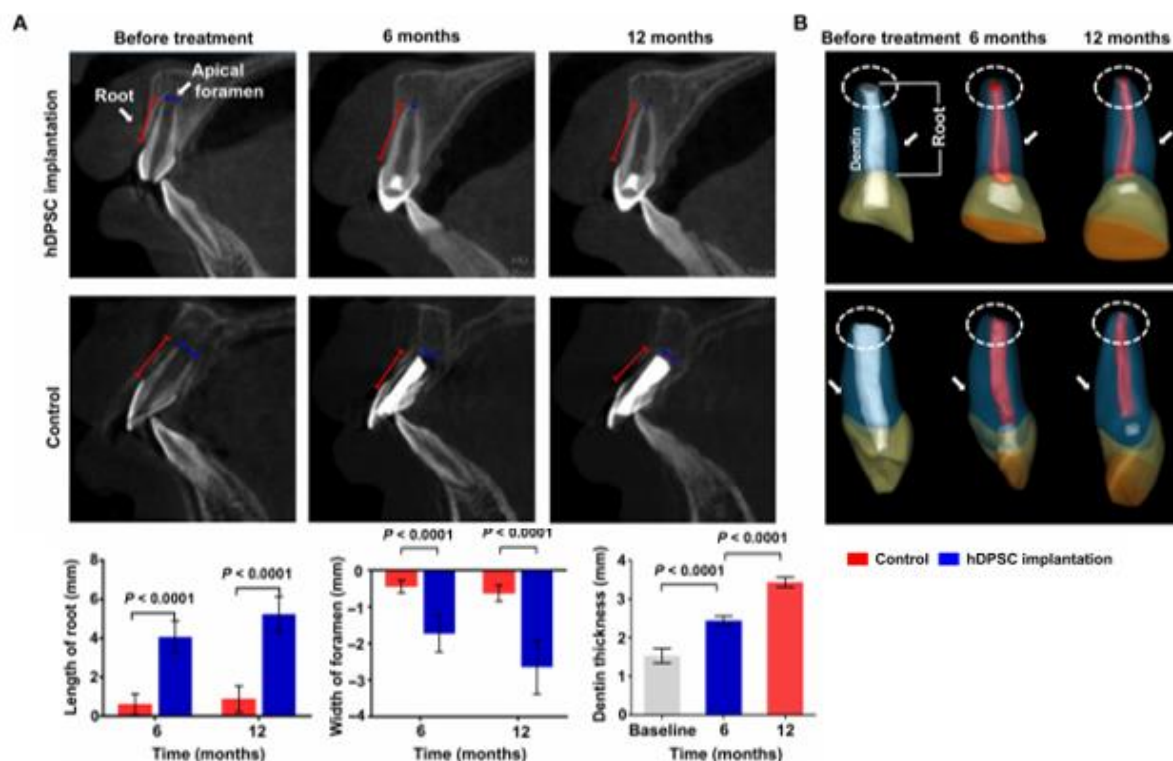


Figure 32: Régénération pulpaire des incisives de patients après implantation de SHEDs. (A) Images CBCT représentatives des dents incisives implantées à 6 et 12 mois après le traitement. La longueur de la racine (ligne rouge) a augmenté à 6 et 12 mois. Le foramen apical (ligne bleue) a été fermé 12 mois après l'implantation. (B) Images 3D représentatives d'une incisive humaine permanente immature traumatisée avant et après l'implantation. Les graphiques représentent la longueur de la racine, la largeur du foramen apical et l'épaisseur des parois dentinaires à 6 et 12 mois. Le groupe control est le groupe ayant reçu l'apexification. (10)

Les agrégats de cellules souches de dents temporaires (hDPSCs/SHEDs) implantés dans des incisives sans scaffold et sans supplément de facteur de croissance ont favorisé la croissance radiculaire et la régénération d'une pulpe dentaire qui semble être bien vascularisée, innervée et avoir une couche odontblastique.

VII. PERSPECTIVES :

Depuis deux décennies, les recherches dans la régénération pulpaire ont fait un bond en avant important. À l'heure de l'écriture de cette thèse, seulement deux auteurs ont publié leurs travaux de transplantation autologue de cellules souches chez l'homme pour une régénération pulpaire : Nakashima (9) et Xuan (10). Le but ultime de la régénération pulpaire est la récupération fonctionnelle des dents pour prolonger leur durée de vie. Lors d'une régénération pulpaire, il faut que les cellules transplantées soient capables de se différencier en odontoblastes fonctionnels capables de produire de la dentine, mais aussi de se différencier ou induire la différenciation de cellules endothéliales et de cellules nerveuses pour permettre la vascularisation et l'innervation du tissu régénéré. Les odontoblastes doivent se retrouver au contact de la paroi dentinaire et former la couche odontoblastique. Dans ces deux essais cliniques chez l'Homme, Nakashima et Xuan obtiennent une régénération pulpaire avec un tissu semblable à la pulpe physiologique qui est vascularisé, possiblement innervé et composé de cellules spécifiques productrices de tissu minéral (peut être des odontoblastes). Ces études ont montré que les réponses aux tests électriques, au laser Doppler, l'analyse histologique pour Xuan et aux tests électriques et à l'IRM pour Nakashima indiquaient une régénération vasculaire et nerveuse. (9), (10) Dans les deux études, la formation de tissu minéralisé a été constatée. Pour Nakashima, la formation de dentine pour recouvrir complètement et rapidement la pulpe régénérée au niveau coronaire est nécessaire pour éviter les micro-fuites. (9) Ce pont dentinaire peut être tubulaire comme une dentine physiologique ou atubulaire, sa fonction principale étant d'assurer l'étanchéité et la protection de la nouvelle pulpe coronaire. (45) Pour Xuan, la formation de dentine permet de finaliser la croissance de dents permanentes immatures qui a été interrompue par le traumatisme.

Pendant longtemps, on a pensé que la régénération tissulaire ne se faisait que par la différenciation des cellules souches en cellules fonctionnelles. Cependant, Nakashima et son équipe ont remarqué au cours de leurs différentes expérimentations que les cellules souches pulpaires avaient un puissant effet trophique sur leur environnement ce qui leur permettait de le moduler. Comme dans l'étude chez le chien (28), Nakashima et al. suggèrent que les MDPSCs transplantées ne se sont pas différenciées directement en cellules endothéliales, neuronales ou pulpaires. Divers facteurs trophiques sécrétés par les MDPSCs pourraient améliorer la migration et la prolifération des cellules souches/progénitrices endogènes provenant des tissus environnants. En effet, grâce à la sécrétion de VEGF, elles vont attirer et orienter des cellules indifférenciées des milieux voisins en cellules endothéliales pour favoriser la vascularisation. On peut supposer que cet effet inducteur est le mécanisme principal de la régénération pulpaire. En médecine régénérative, plusieurs études montrent que cet effet inducteur des DPSCs peut s'exprimer en dehors de la régénération pulpaire. En effet, les DPSCs et leurs sécrétomes ont aussi montré des résultats prometteurs en matière de réparation/régénération nerveuse ((81), (50), (82), (83)), pour la prise en charge des maladies inflammatoires chroniques comme la cystite interstitielle (84) et pour des maladies neuro-dégénératives comme la maladie d'Alzheimer (MA) (85).

Les MDPSCs pourraient également réguler l'inflammation avec des propriétés immunosuppressives et immunomodulatrices. (9) Ces propriétés ont ouvert des pistes de recherche pour l'équipe de Nakashima pour une transplantation allogénique de MDPSC chez le chien en 2018. (12) Leur but était notamment de trouver une alternative aux sources autologues de cellules souches pulpaires. En effet, pour la régénération pulpaire, il faut une quantité suffisante de cellules souches pour les transplanter. Cependant, même si la pulpe des

dents de sagesse est une source qui ne pose ni de problème de prélèvement, ni de morbidité et ni de problème éthique, les cellules souches n'y sont par contre pas présentes en grande quantité. De plus, avec l'âge, le volume pulpaire diminue donc le nombre de cellules souches diminue également. Le vieillissement a aussi un impact sur la qualité des cellules souches prélevées. Avec l'objectif de tester des sources alternatives, Murakami et Al. en 2015 (86) ont, chez le chien, produire des sous-ensembles autologues de BMSCs (cellules souches de la moelle osseuse) et d'ADSCs (cellules souches du tissu adipeux) : les MBMSCs et MADSCs qui ont été isolées avec les mêmes conditions optimales de mobilisation induite par le G-CSF que pour les MDPSCs, pour faire une régénération pulpaire. L'équipe de Nakashima a aussi cherché l'impact qu'avait le vieillissement sur les performances des MDPSCs pour une régénération pulpaire. (87), (88) En générale, les CSMs perdent progressivement leurs compétences (diminution des activités de prolifération, de différenciation, de migration et augmentation des marqueurs de sénescence) avec l'âge. Cependant, ce n'est pas ce qu'ils ont constaté avec les MDPSCs. Ils ont montré que les DPSCs âgées perdaient au cours du temps leurs caractéristiques par rapport aux DPSCs jeunes ce qui est le comportement classique pour des CSMs. Cependant, la mobilisation par le G-CSF permet aux MDPSCs âgées de conserver leurs propriétés de manière quasiment identique aux MDPSCs jeunes. Ces résultats permettent d'envisager la perspective de régénération pulpaire chez les sujets jeunes comme chez les sujets âgés.

Un obstacle critique à la régénération pulpaire est le contrôle de l'infection du canal radiculaire à l'aide de solutions d'irrigation (NaOCl ou EDTA) et des médicaments intracanaux (hydroxyde de calcium ou TAP). Une infection secondaire pourrait signifier l'échec de la procédure régénérative. Malgré l'efficacité de TAP, plusieurs chercheurs (Albuquerque et Al. en 2014 (69) et en 2015 (66), Karczewski et Al en 2018 (70), Bottino et Al. de 2013 ((89), (90)) à 2019 (91)) travaillent ensembles pour trouver une alternative au TAP. Ils ont mis au point un scaffold « TAP -mimic » à base de PLGA ou de polydioxanone enrichie par des nanotubes d'argile d'Halloysite (HNT) et par des antibiotiques (MET, CIP et MINO). Ils ont eu des résultats similaires à TAP pour la désinfection canalaire (environ 99% des bactéries sont mortes dans les canaux testés) mais avec une cytotoxicité diminuée et des colorations dentaires diminuées ou absentes si la MINO est remplacée par de la clindamycine ou de l'amoxicilline.

Dans le cadre de la régénération pulpaire, une approche utilisant seulement un scaffold sans cellule souche et enrichi ou non en facteurs de croissance ou molécules bioactives est en cours d'expérimentation. (92), (*Figure 33*) Cette technique se base sur la capacité du scaffold à attirer les cellules (« cell-homing ») des tissus environnants de l'hôte (cellules souches ou non). Cette approche s'appuie sur la plasticité des CSMs. En effet, ces cellules sont recrutées dans le ligament parodontal, l'os alvéolaire et le sang. Leur migration est attendue dans le but de régénérer un tissu fonctionnel spécialisé contenant des cellules différenciées spécifiques. Des études (Kim et Al. en 2010 (93) et Suzuki et Al. en 2011 (94)) ont tenté de recréer un micro environnement simple en fournissant des facteurs de croissance comme du bFGF, VEGF, PDGF, NGF, SDF-1 et BMP-7 dans les canaux complètement instrumentés pour provoquer une régénération pulpaire.

Keshtkar et Al. en 2018 (95), nous apprend que des recherches sont menées sur l'intérêt et l'utilisation potentielle des vésicules extracellulaires des CSMs en médecine régénérative. Ces vésicules extracellulaires (exosomes et micro-vésicules), issu de l'endosome, contiennent des facteurs solubles (protéines, mi-ARN et ARNm) (équivalent du sécrétome) qui vont être transmis aux cellules proches. Ces facteurs sécrétés peuvent augmenter l'angiogenèse, réduire l'apoptose et la fibrose, améliorer la survie et la différenciation neuronales, stimuler le

remodelage de la matrice extracellulaire, limiter l'inflammation locale et moduler la réponse immunitaire. De cette manière, les CSMs, par sécrétion de paracrine, vont induire une régénération pour sauver les cellules environnantes blessées, réduire les lésions tissulaires et accélérer la réparation des organes. Pour la régénération pulpaire, on pourrait imaginer un scaffold enrichie avec le sécrétome ou avec des vésicules extracellulaires issus des MDPSCs qui reproduiraient l'effet inducteur des cellules souches sur les cellules environnantes. Cette approche « sans cellule » est plus aisée à mettre en œuvre en clinique pour un coût d'application plus faible. Cependant, les détails sur les mécanismes fonctionnels des véhicules extracellulaires ne sont pas encore très clairs et doivent encore être élucidés pour en tirer pleinement parti. (95)

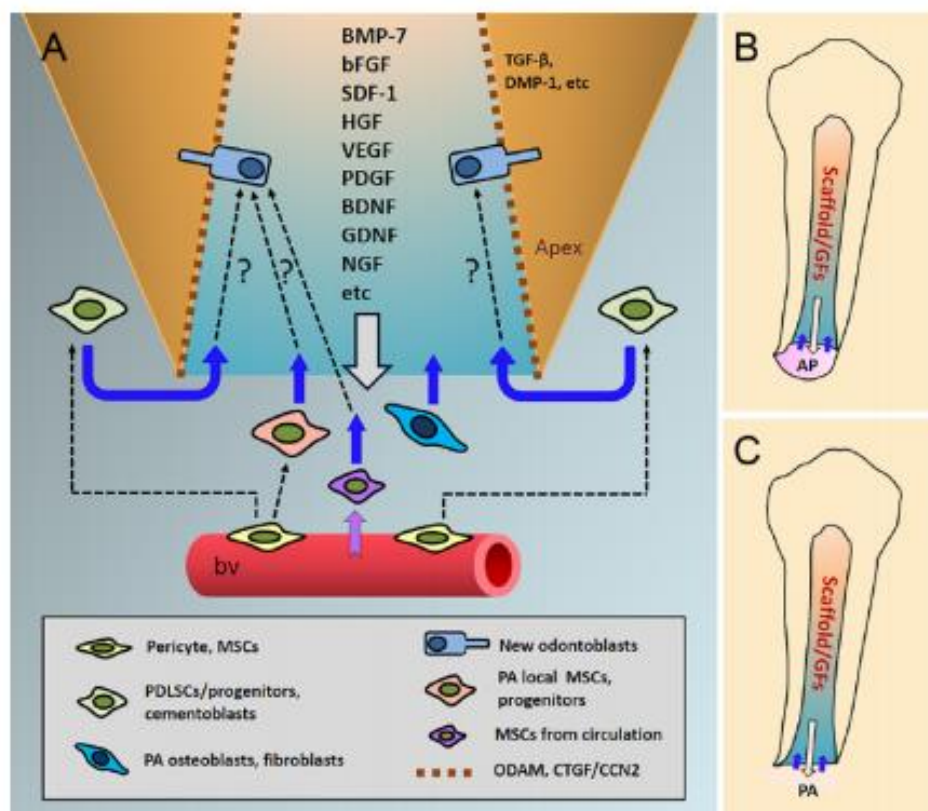


Figure 33: Un concept d'une procédure de revitalisation/régénération non cellulaire. (A) L'espace du canal radiculaire est rempli d'un scaffold portant des facteurs de croissance qui sont libérés dans les tissus adjacents pour induire la migration des cellules souches/progénitrices dans l'espace du canal et pour guider la différenciation des cellules migrées vers une lignée odontoblastique. (B) Si la papille apicale (AP) est toujours présente, les cellules dans ce tissu (par exemple, les SCAP) peuvent être attirées dans l'espace du canal avec des cellules sanguines. (C) Si AP n'est plus présent, les cellules périapicales (PA) et les cellules sanguines peuvent être attirées. (92)

VIII. CONCLUSION :

Nous sommes au tout début de l'utilisation de cellules souches chez l'Homme pour la régénération pulpaire. Les chercheurs continuent d'explorer des moyens d'optimisation de la régénération pulpaire en travaillant sur les 4 grands aspects : cellules souches, facteurs de croissance, scaffold et le traitement canalaire. Par exemple, Nakashima et son équipe cherchent continuellement une population de cellules souches pulpaire plus efficace. Dernièrement en 2021, ils ont publié un article où ils ont mis au point des hpDPSCs (hypoxia preconditioned DPSC) qu'ils ont transplantées dans des dents de chien pour comparer leur potentiel aux MDPSCs. (96) Elle cherche également à améliorer la phase du traitement canalaire avec l'utilisation d'EDTA (46) ou de trypsine (32). D'autres auteurs comme Bottino perfectionne la désinfection avec son scaffold « TAP-mimic » (66). Les objectifs principaux des chercheurs pour la régénération pulpaire sont d'obtenir un tissu régénéré le plus fidèle possible à la pulpe physiologique, mais également que cette thérapeutique soit accessible à tous c'est-à-dire à tous les patients quels que soit leur âge et l'anatomie intra-canalaire.

Une utilisation clinique hospitalière ne verra probablement pas le jour avant une ou deux décennies et encore plus longtemps pour une utilisation à grande échelle par tous les praticiens. Plusieurs choses doivent évoluer pour espérer une utilisation et une démocratisation de la régénération pulpaire par les chirurgien-dentistes. Tout d'abord, la vision que l'on a de la dent de sagesse (DDS), d'une dent « en trop » devra changer. Les DDS représenteront la source principale de DPSCs pour la régénération pulpaire. « Les conserver pour une utilisation régénérative ultérieure » sera un élément supplémentaire entrant dans la prise de décision de l'extraction ou de l'abstention thérapeutique. Toutefois, suite à son extraction, on pourrait conserver soit la dent complète soit son contenu pulpaire. Ceci, nous amène à un deuxième point d'évolution. Aujourd'hui, il n'existe pas de logistique ou de réseaux d'infrastructures permettant de prendre en charge la conservation, l'isolation et la culture des cellules souches et la fabrication des scaffolds à grande échelle. Les banques de cellules souches sont rares et quand elles existent, elles conservent les cellules souches utilisées dans les domaines de la médecine régénératives dites prioritaires (le cœur, les poumons, l'hématopoïèse, les maladies cérébro-vasculaires, cardiovasculaires et immunodéficientes). Il y a donc tout un système à développer (création des infrastructures aux normes GMPs, formation des chirurgiens-dentistes) avant de considérer la régénération pulpaire comme un nouvel acte de l'Art dentaire et une alternative conservatrice de la fonction dentaire que le praticien pourra proposer à ses patients.

BIBLIOGRAPHIE :

1. Caplan DJ, Cai J, Yin G, White BA. Root canal filled versus non-root canal filled teeth: a retrospective comparison of survival times. *Journal of Public Health Dentistry* [Internet]. 2005 [cité 31 août 2021];65(2):90-6. Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1752-7325.2005.tb02792.x>
2. Dentic club. Histologie de la pulpe dentaire [Internet]. 2018 [cité 5 juin 2020]. Disponible sur: <http://denticclub.blogspot.com/2018/08/histologie-de-la-pulpe-dentaire.html>
3. Nanci A. Ten Cate's Oral Histology : development, structure and function. 8th Edition St Louis : Mosby, 2012.
4. Nakashima M, Akamine A. The application of tissue engineering to regeneration of pulp and dentin in endodontics. *Journal of Endodontics* [Internet]. 1 oct 2005 [cité 11 juin 2020];31(10):711-8. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0099239906610911>
5. Durand SH, Flacher V, Roméas A, Carrouel F, Colomb E, Vincent C, et al. Lipoteichoic acid increases TLR and functional chemokine expression while reducing dentin formation in *in vitro* differentiated human odontoblasts. *The Journal of Immunology* [Internet]. 1 mars 2006 [cité 6 oct 2021];176(5):2880-7. Disponible sur: <https://www.jimmunol.org/content/176/5/2880>
6. Goldberg M, Smith AJ. Cells and extracellular matrices of dentin and pulp: a biological basis for repair and tissue engineering. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine* [Internet]. 1 janv 2004 [cité 8 oct 2021];15(1):13-27. Disponible sur: <https://doi.org/10.1177/154411130401500103>
7. Hargreaves KM, Diogenes A, Teixeira FB. Treatment options: biological basis of regenerative endodontic procedures. *Journal of Endodontics* [Internet]. 1 mars 2013 [cité 28 oct 2020];39(3, Supplement):S30-43. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0099239912010837>
8. Huang GT-J, Al-habib M, Gauthier P. Challenges of stem cell-based pulp and dentin regeneration: a clinical perspective. *Endod Topics* [Internet]. 1 mars 2013 [cité 28 oct 2020];28(1):51-60. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3727299/>
9. Nakashima M, Iohara K, Murakami M, Nakamura H, Sato Y, Aiji Y, et al. Pulp regeneration by transplantation of dental pulp stem cells in pulpitis: a pilot clinical study. *Stem Cell Res Ther* [Internet]. déc 2017 [cité 27 mai 2020];8(1):61. Disponible sur: <http://stemcellres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13287-017-0506-5>
10. Xuan K, Li B, Guo H, Sun W, Kou X, He X, et al. Deciduous autologous tooth stem cells regenerate dental pulp after implantation into injured teeth. *Sci Transl Med*, août 2018 ;10(455):3227.
11. Schmalz G, Smith AJ. Pulp development, repair, and regeneration: challenges of the transition from traditional dentistry to biologically based therapies. *Journal of Endodontics* [Internet]. 1 avr 2014 [cité 28 oct 2020];40(4, Supplement):S2-5. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S009923991400079X>
12. Iohara K, Utsunomiya S, Kohara S, Nakashima M. Allogeneic transplantation of mobilized dental pulp stem cells with the mismatched dog leukocyte antigen type is safe and efficacious for total

- pulp regeneration. Stem Cell Res Ther [Internet]. 27 avr 2018 [cité 12 juin 2020];9(1):116. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5921747/>
13. Miura M, Gronthos S, Zhao M, Lu B, Fisher LW, Robey PG, et al. SHED: Stem cells from human exfoliated deciduous teeth. Proc Natl Acad Sci U S A [Internet]. 13 mai 2003 [cité 25 janv 2021];100(10):5807-12. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC156282/>
 14. Yamaza T, Kentaro A, Chen C, Liu Y, Shi Y, Gronthos S, et al. Immunomodulatory properties of stem cells from human exfoliated deciduous teeth. Stem Cell Res Ther [Internet]. 15 mars 2010 [cité 25 janv 2021];1(1):5. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2873699/>
 15. Cordeiro MM, Dong Z, Kaneko T, Zhang Z, Miyazawa M, Shi S, et al. Dental pulp tissue engineering with stem cells from exfoliated deciduous teeth. Journal of Endodontics [Internet]. 1 août 2008 [cité 26 oct 2020];34(8):962-9. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0099239908003609>
 16. Wang J, Wang X, Sun Z, Wang X, Yang H, Shi S, et al. Stem cells from human-exfoliated deciduous teeth can differentiate into dopaminergic neuron-like cells. Stem Cells Dev [Internet]. sept 2010 [cité 25 janv 2021];19(9):1375-83. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3073455/>
 17. Sakai VT, Zhang Z, Dong Z, Neiva KG, Machado MAAM, Shi S, et al. SHED differentiate into functional odontoblasts and endothelium. J Dent Res [Internet]. 1 août 2010 [cité 25 janv 2021];89(8):791-6. Disponible sur: <https://doi.org/10.1177/0022034510368647>
 18. Rosa V, Zhang Z, Grande RHM, Nör JE. Dental pulp tissue engineering in full-length human root canals. J Dent Res [Internet]. 20 sept 2013 [cité 26 oct 2020];92(11):970-5. Disponible sur: https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0022034513505772?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub++0pubmed
 19. Bottino MC, Pankajakshan D, Nör JE. Advanced scaffolds for dental pulp and periodontal regeneration. Dent Clin North Am, oct 2017 ;61(4):689-711.
 20. Gronthos S, Mankani M, Brahimi J, Robey PG, Shi S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) *in vitro* and *in vivo*. Proc Natl Acad Sci U S A [Internet]. 5 déc 2000 [cité 18 janv 2021];97(25):13625-30. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC17626/>
 21. Ducret M, Fabre H, Degoul O, Atzeni G, McGuckin C, Forraz N, et al. Immunophenotyping reveals the diversity of human dental pulp mesenchymal stromal cells *in vivo* and their evolution upon *in vitro* amplification. Frontiers in Physiology [Internet]. 2016 [cité 5 oct 2021];7. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5099238/>
 22. Kucia M, Ratajczak J, Ratajczak MZ. Bone marrow as a source of circulating CXCR4+ tissue-committed stem cells. Biology of the Cell [Internet]. 2005 [cité 29 juin 2021];97(2):133-46. Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1042/BC20040069>
 23. Baumert B, Grymala K, Pietruszka D, Kotowski M, Mielczarek M, Dziedzic V, et al. An optimization of hematopoietic stem and progenitor cell isolation for scientific and clinical purposes by the application of a new parameter determining the hematopoietic graft efficacy. Folia Histochem Cytobiol. févr 2008;46(3):299-305.
 24. Iohara K, Zheng L, Wake H, Ito M, Nabekura J, Wakita H, et al. A novel stem cell source for vasculogenesis in ischemia: subfraction of side population cells from dental pulp. Stem Cells

- [Internet]. 2008 [cité 5 oct 2020];26(9):2408-18. Disponible sur: <https://stemcells.journals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1634/stemcells.2008-0393>
25. Iohara K, Imabayashi K, Ishizaka R, Watanabe A, Nabekura J, Ito M, et al. Complete pulp regeneration after pulpectomy by transplantation of CD105+ stem cells with stromal cell-derived factor-1. *Tissue Engineering Part A*, mars 2011 ;17(15-16):1911-20.
 26. Ishizaka R, Iohara K, Murakami M, Fukuta O, Nakashima M. Regeneration of dental pulp following pulpectomy by fractionated stem/progenitor cells from bone marrow and adipose tissue. *Biomaterials* [Internet]. 1 mars 2012 [cité 5 oct 2020];33(7):2109-18. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961211014104>
 27. Murakami M, Horibe H, Iohara K, Hayashi Y, Osako Y, Takei Y, et al. The use of granulocyte-colony stimulating factor induced mobilization for isolation of dental pulp stem cells with high regenerative potential. *Biomaterials* [Internet]. 1 déc 2013 [cité 5 oct 2020];34(36):9036-47. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961213009423>
 28. Iohara K, Murakami M, Takeuchi N, Osako Y, Ito M, Ishizaka R, et al. A novel combinatorial therapy with pulp stem cells and granulocyte colony-stimulating factor for total pulp regeneration. *Stem Cells Transl Med* [Internet]. juill 2013 [cité 2 juill 2021];2(7):521-33. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3697820/>
 29. Nakashima M, Iohara K. Mobilized dental pulp stem cells for pulp regeneration: initiation of clinical trial. *Journal of Endodontics* [Internet]. 1 avr 2014 [cité 11 juin 2020];40(4, Supplement):S26-32. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0099239914000818>
 30. Nakashima M, Iohara K, Sugiyama M. Human dental pulp stem cells with highly angiogenic and neurogenic potential for possible use in pulp regeneration. *Cytokine Growth Factor Reviews* [Internet]. 1 oct 2009 [cité 11 juin 2020];20(5):435-40. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359610109000872>
 31. Nakashima M, Iohara K. Recent progress in translation from bench to a pilot clinical study on total pulp regeneration. *Journal of Endodontics* [Internet]. 1 sept 2017 [cité 11 juin 2020];43(9, Supplement):S82-6. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0099239917307677>
 32. Iohara K, Zayed M, Takei Y, Watanabe H, Nakashima M. Treatment of pulpectomized teeth with trypsin prior to transplantation of mobilized dental pulp stem cells enhances pulp regeneration in aged dogs. *Front Bioeng Biotechnol* [Internet]. août 2020 [cité 5 oct 2020];8:983. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7456913/>
 33. Ishizaka R, Hayashi Y, Iohara K, Sugiyama M, Murakami M, Yamamoto T, et al. Stimulation of angiogenesis, neurogenesis and regeneration by side population cells from dental pulp. *Biomaterials* [Internet]. 1 mars 2013 [cité 5 oct 2020];34(8):1888-97. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961212011805>
 34. Eurostemcell. La médecine régénérative et la réglementation : quel rapport y a-t-il avec les BPF? [Internet]. 2016 [cité 30 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.eurostemcell.org/fr/la-medecine-regenerative-et-la-reglementation-quel-rapport-y-t-il-avec-les-bpf>
 35. Ducret M, Fabre H, Degoul O, Atzeni G, McGuckin C, Forraz N, et al. Manufacturing of dental pulp cell-based products from human third molars: current strategies and future investigations. *Front Physiol* [Internet]. 6 août 2015 [cité 5 oct 2021];6:213. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4526817/>

36. Lalu MM, McIntyre L, Pugliese C, Fergusson D, Winston BW, Marshall JC, et al. Safety of cell therapy with mesenchymal stromal cells (SafeCell): a systematic review and meta-analysis of clinical trials. *PLoS One* [Internet]. 25 oct 2012 [cité 28 oct 2020];7(10):e47559. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3485008/>
37. Bonnamain V, Thinard R, Sergent-Tanguy S, Huet P, Bienvenu G, Naveilhan P, et al. Human dental pulp stem cells cultured in serum-free supplemented medium. *Front Physiol* [Internet]. 11 déc 2013 [cité 2 déc 2020];4:357. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3858652/>
38. Haque N, Kasim NHA, Rahman MT. Optimization of pre-transplantation conditions to enhance the efficacy of mesenchymal stem cells. *Int J Biol Sci* [Internet]. 5 févr 2015 [cité 30 juin 2021];11(3):324-34. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4323372/>
39. Shahdadfar A, Frønsdal K, Haug T, Reinholt FP, Brinchmann JE. *In vitro* expansion of human mesenchymal stem cells: choice of serum is a determinant of cell proliferation, differentiation, gene expression, and transcriptome stability. *Stem Cells* [Internet]. 2005 [cité 30 juin 2021];23(9):1357-66. Disponible sur: <https://stemcellsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1634/stemcells.2005-0094>
40. Ahmed NE-MB, Murakami M, Kaneko S, Nakashima M. The effects of hypoxia on the stemness properties of human dental pulp stem cells (DPSCs). *Sci Rep* [Internet]. 14 oct 2016 [cité 5 oct 2020];6:35476. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5064411/>
41. Huang GT-J, Sonoyama W, Liu Y, Liu H, Wang S, Shi S. The hidden treasure in apical papilla: the potential role in pulp/dentin regeneration and bioroot engineering. *J Endod* [Internet]. juin 2008 [cité 28 oct 2020];34(6):645-51. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2653220/>
42. Glenn JD, Whartenby KA. Mesenchymal stem cells: emerging mechanisms of immunomodulation and therapy. *World J Stem Cells* [Internet]. 26 nov 2014 [cité 3 févr 2021];6(5):526-39. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4178253/>
43. Kim N, Cho S-G. New Strategies for overcoming limitations of mesenchymal stem cell-based immune modulation. *Int J Stem Cells* [Internet]. mai 2015 [cité 3 févr 2021];8(1):54-68. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4445710/>
44. Demarco FF, Casagrande L, Zhang Z, Dong Z, Tarquinio SB, Zeitlin BD, et al. Effects of morphogen and scaffold porogen on the differentiation of dental pulp stem cells. *Journal of Endodontics* [Internet]. 1 nov 2010 [cité 26 oct 2020];36(11):1805-11. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0099239910006898>
45. Smith AJ, Cooper PR. Regenerative endodontics: burning questions. *J Endod* [Internet]. sept 2017 [cité 28 oct 2020];43(9S):S1-6. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0099239917307549?via%3Dihub>
46. Kawamura R, Hayashi Y, Murakami H, Nakashima M. EDTA soluble chemical components and the conditioned medium from mobilized dental pulp stem cells contain an inductive microenvironment, promoting cell proliferation, migration, and odontoblastic differentiation. *Stem Cell Res Ther* [Internet]. 25 mai 2016 [cité 11 juin 2020];7(1):77. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4937592/>
47. Smith AJ, Scheven BA, Takahashi Y, Ferracane JL, Shelton RM, Cooper PR. Dentine as a bioactive extracellular matrix. *Archives of Oral Biology* [Internet]. févr 2012 [cité 28 oct 2020];57(2):109-21. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003996911002470>

48. Sasaki JI, Zhang Z, Oh M, Pobocik AM, Imazato S, Shi S, et al. VE-Cadherin and anastomosis of blood vessels formed by dental stem cells. *J Dent Res* [Internet]. avr 2020 [cité 28 oct 2020];99(4):437-45. Disponible sur: <https://doi.org/10.1177/0022034520902458>
49. Bento LW, Zhang Z, Imai A, Nör F, Dong Z, Shi S, et al. Endothelial differentiation of SHED requires MEK1/ERK signaling. *J Dent Res* [Internet]. janv 2013 [cité 3 sept 2021];92(1):51-7. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3521451/>
50. Arthur A, Shi S, Zannettino ACW, Fujii N, Gronthos S, Koblar SA. Implanted adult human dental pulp stem cells induce endogenous axon guidance. *Stem Cells* [Internet]. 2009 [cité 28 oct 2020];27(9):2229-37. Disponible sur: <https://stemcellsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/stem.138>
51. Lee M, Aoki M, Kondo T, Kobayashi K, Okumura K, Komori K, et al. Therapeutic angiogenesis with intramuscular injection of low-dose recombinant granulocyte-colony stimulating factor. *arterioscler thromb vasc biol* [Internet]. déc 2005 [cité 14 juill 2021];25(12):2535-41. Disponible sur: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/01.ATV.0000190609.28293.17>
52. Gong T, Heng BC, Lo ECM, Zhang C. Current advance and future prospects of tissue engineering approach to dentin/pulp regenerative therapy. *Stem Cells Int* [Internet]. 2016 [cité 6 sept 2021];2016:9204574. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4812497/>
53. Nakashima M. Bone morphogenetic proteins in dentin regeneration for potential use in endodontic therapy. *Cytokine Growth Factor Reviews* [Internet]. juin 2005 [cité 11 juin 2020];16(3):369-76. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359610105000511>
54. Huang GT-J, Yamaza T, Shea LD, Djouad F, Kuhn NZ, Tuan RS, et al. Stem/progenitor cell-mediated de novo regeneration of dental pulp with newly deposited continuous layer of dentin in an *in vivo* model. *Tissue Eng Part A* [Internet]. févr 2010 [cité 28 oct 2020];16(2):605-15. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2813150/>
55. Koken Co., LTD. Atelocollagen scaffolds and in vivo transfection reagent [Internet]. 2017 [cité 5 juill 2021]. Disponible sur: https://atelocollagen.com/en/#about_atCollagen
56. Koken Co.,Ltd. About Collagen [Internet]. [cité 8 oct 2021]. Disponible sur: <https://www.kokenmpc.co.jp/english/support/tecnicl/collagen/index.html>
57. Diogenes A, Hargreaves KM. Microbial modulation of stem cells and future directions in regenerative endodontics. *Journal of Endodontics* [Internet]. sept 2017 [cité 28 oct 2020];43(9, Supplement):S95-101. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0099239917308713>
58. Azim AA, Aksel H, Zhuang T, Mashtare T, Babu JP, Huang GT-J. Efficacy of 4 irrigation protocols in killing bacteria colonized in dentinal tubules examined by a novel confocal laser scanning microscope analysis. *Journal of Endodontics* [Internet]. juin 2016 [cité 26 oct 2020];42(6):928-34. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S009923991630098X>
59. Shawli H, Iohara K, Taroush M, Huang GT-J, Nakashima M, Azim AA. Nanobubble-enhanced antimicrobial agents: a promising approach for regenerative endodontics. *Journal of Endodontics* [Internet]. sept 2020 [cité 5 oct 2020];46(9):1248-55. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0099239920303903>

60. Diogenes AR, Ruparel NB, Teixeira FB, Hargreaves KM. Translational Science in disinfection for regenerative endodontics. *Journal of Endodontics* [Internet]. avr 2014 [cité 28 oct 2020];40(4, Supplement):S52-7. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0099239914000740>
61. Zou L, Shen Y, Li W, Haapasalo M. Penetration of sodium hypochlorite into dentin. *Journal of Endodontics* [Internet]. mai 2010 [cité 16 févr 2021];36(5):793-6. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0099239910001317>
62. Martin DE, De Almeida JFA, Henry MA, Khaing ZZ, Schmidt CE, Teixeira FB, et al. Concentration-dependent effect of sodium hypochlorite on stem cells of apical papilla survival and differentiation. *Journal of Endodontics* [Internet]. janv 2014 [cité 16 févr 2021];40(1):51-5. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S009923991300647X>
63. Casagrande L, Demarco FF, Zhang Z, Araujo FB, Shi S, N r JE. Dentin-derived BMP-2 and odontoblast differentiation. *J Dent Res* [Internet]. juin 2010 [cité 16 févr 2021];89(6):603-8. Disponible sur: <https://doi.org/10.1177/0022034510364487>
64. Torabinejad M, Faras H, Corr R, Wright KR, Shabahang S. Histologic examinations of teeth treated with 2 scaffolds: a pilot animal investigation. *Journal of Endodontics* [Internet]. avr 2014 [cité 26 oct 2020];40(4):515-20. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0099239913011709>
65. Nakashima M, Iohara K, Zayed M. Pulp Regeneration: current approaches, challenges, and novel rejuvenating strategies for an aging population. *Journal of Endodontics* [Internet]. sept 2020 [cité 5 oct 2020];46(9, Supplement):S135-42. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0099239920304398>
66. Albuquerque MTP, Ryan SJ, M nchow EA, Kamocka MM, Gregory RL, Valera MC, et al. Antimicrobial effects of novel triple antibiotic paste-mimic scaffolds on actinomyces naeslundii biofilm. *Journal of Endodontics* [Internet]. août 2015 [cité 26 oct 2020];41(8):1337-43. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S009923991500237X>
67. Ruparel NB, Teixeira FB, Ferraz CCR, Diogenes A. Direct effect of intracanal medicaments on survival of stem cells of the apical papilla. *Journal of Endodontics* [Internet]. oct 2012 [cité 16 févr 2021];38(10):1372-5. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0099239912005997>
68. Kamocki K, N r JE, Bottino MC. Dental pulp stem cell responses to novel antibiotic-containing scaffolds for regenerative endodontics. *International Endodontic Journal* [Internet]. 2015 [cité 28 oct 2020];48(12):1147-56. Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/iej.12414>
69. Albuquerque MTP, Valera MC, Nakashima M, N r JE, Bottino MC. Tissue-engineering-based strategies for regenerative endodontics. *J Dent Res* [Internet]. déc 2014 [cité 28 oct 2020];93(12):1222-31. Disponible sur: <https://doi.org/10.1177/0022034514549809>
70. Karczewski A, Feitosa SA, Hamer EI, Pankajakshan D, Gregory RL, Spolnik KJ, et al. Clindamycin-modified triple antibiotic nanofibers: a stain-free antimicrobial intracanal drug delivery system. *Journal of Endodontics* [Internet]. janv 2018 [cité 28 oct 2020];44(1):155-62. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0099239917309767>
71. Palasuk J, Kamocki K, Hippenmeyer L, Platt JA, Spolnik KJ, Gregory RL, et al. Bimix antimicrobial scaffolds for regenerative endodontics. *Journal of Endodontics* [Internet]. nov 2014 [cité 26 oct 2020];40(11):1879-84. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0099239914006530>

72. Albuquerque MTP, Valera MC, Moreira CS, Bresciani E, de Melo RM, Bottino MC. Effects of ciprofloxacin-containing scaffolds on enterococcus faecalis biofilms. *Journal of Endodontics* [Internet]. mai 2015 [cité 26 oct 2020];41(5):710-4. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0099239914012357>
73. Nagata JY, Soares AJ, Souza-Filho FJ, Zaia AA, Ferraz CCR, Almeida JFA, et al. Microbial evaluation of traumatized teeth treated with triple antibiotic paste or calcium hydroxide with 2% chlorhexidine gel in pulp revascularization. *Journal of Endodontics* [Internet]. juin 2014 [cité 17 févr 2021];40(6):778-83. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0099239914000995>
74. Li C-H, Liao P-L, Yang Y-T, Huang S-H, Lin C-H, Cheng Y-W, et al. Minocycline accelerates hypoxia-inducible factor-1 alpha degradation and inhibits hypoxia-induced neovasclogenesis through prolyl hydroxylase, von Hippel–Lindau-dependent pathway. *Arch Toxicol* [Internet]. mars 2014 [cité 17 févr 2021];88(3):659-71. Disponible sur: <https://doi.org/10.1007/s00204-013-1175-5>
75. Hoshino E, Kurihara-Ando N, Sato I, Uematsu H, Sato M, Kota K, et al. In-vitro antibacterial susceptibility of bacteria taken from infected root dentine to a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline. *International Endodontic Journal* [Internet]. 1996 [cité 6 sept 2021];29(2):125-30. Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2591.1996.tb01173.x>
76. Banchs F, Trope M. Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis: new treatment protocol ? *Journal of Endodontics* [Internet]. avr 2004 [cité 9 juill 2021];30(4):196-200. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0099239905601203>
77. Iohara K, Fujita M, Ariji Y, Yoshikawa M, Watanabe H, Takashima A, et al. Assessment of pulp regeneration induced by stem cell therapy by magnetic resonance imaging. *Journal of Endodontics* [Internet]. mars 2016 [cité 5 oct 2020];42(3):397-401. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0099239915011073>
78. Roy E, Alliot-Licht B, Dajean-Trutaud S, Fraysse C, Jean A, Armengol V. Evaluation of the ability of laser Doppler flowmetry for the assessment of pulp vitality in general dental practice. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* oct 2008;106(4):615-20.
79. Gopikrishna V, Pradeep G, Venkateshbabu N. Assessment of pulp vitality: a review. *Int J Paediatr Dent.* janv 2009;19(1):3-15.
80. Ariji Y, Ariji E, Nakashima M, Iohara K. Magnetic resonance imaging in endodontics: a literature review. *Oral Radiol.* 2018;34(1):10-6.
81. Li D, Zou X-Y, El-Ayachi I, Romero LO, Yu Z, Iglesias-Linares A, et al. Human dental pulp stem cells and gingival mesenchymal stem cells display action potential capacity in vitro after neuronogenic differentiation. *Stem Cell Rev* [Internet]. févr 2019 [cité 28 oct 2020];15(1):67-81. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6358481/>
82. Sasaki R, Aoki S, Yamato M, Uchiyama H, Wada K, Ogiuchi H, et al. PLGA artificial nerve conduits with dental pulp cells promote facial nerve regeneration. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine* [Internet]. 2011 [cité 14 avr 2021];5(10):823-30. Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/term.387>
83. Okuwa Y, Toriumi T, Nakayama H, Ito T, Otake K, Kurita K, et al. Transplantation effects of dental pulp-derived cells on peripheral nerve regeneration in crushed sciatic nerve injury.

Journal of Oral Science [Internet]. 2018 [cité 11 juin 2020];60(4):526-35. Disponible sur: https://www.jstage.jst.go.jp/article/josnurd/60/4/60_17-0462/_article

84. Hirose Y, Yamamoto T, Nakashima M, Funahashi Y, Matsukawa Y, Yamaguchi M, et al. Injection of dental pulp stem cells promotes healing of damaged bladder tissue in a rat model of chemically induced cystitis. *Cell Transplantation* [Internet]. mars 2016 [cité 5 oct 2020];25(3):425-36. Disponible sur: https://journals.sagepub.com/doi/10.3727/096368915X689523?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub++0pubmed
85. Ahmed NE-MB, Murakami M, Hirose Y, Nakashima M. Therapeutic potential of dental pulp stem cell secretome for Alzheimer's disease treatment: an *in vitro* study. *Stem Cells Int* [Internet]. 2016 [cité 5 oct 2020];2016:8102478. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4923581/>
86. Murakami M, Hayashi Y, Iohara K, Osako Y, Hirose Y, Nakashima M. Trophic effects and regenerative potential of mobilized mesenchymal stem cells from bone marrow and adipose tissue as alternative cell sources for pulp/dentin regeneration. *Cell Transplantation* [Internet]. sept 2015 [cité 5 oct 2020];24(9):1753-65. Disponible sur: https://journals.sagepub.com/doi/10.3727/096368914X683502?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub++0pubmed
87. Iohara K, Murakami M, Nakata K, Nakashima M. Age-dependent decline in dental pulp regeneration after pulpectomy in dogs. *Experimental Gerontology* [Internet]. avr 2014 [cité 5 oct 2020];52:39-45. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0531556514000321>
88. Horibe H, Murakami M, Iohara K, Hayashi Y, Takeuchi N, Takei Y, et al. Isolation of a stable subpopulation of mobilized dental pulp stem cells (MDPSCs) with high proliferation, migration, and regeneration potential is independent of age. *PLoS One* [Internet]. 2014 [cité 11 juin 2020];9(5):e98553. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4037225/>
89. Bottino MC, Kamocki K, Yassen GH, Platt JA, Vail MM, Ehrlich Y, et al. Bioactive nanofibrous scaffolds for regenerative endodontics. *J Dent Res* [Internet]. nov 2013 [cité 28 oct 2020];92(11):963-9. Disponible sur: <https://doi.org/10.1177/0022034513505770>
90. Bottino MC, Yassen GH, Platt JA, Labban N, Windsor LJ, Spolnik KJ, et al. A novel three-dimensional scaffold for regenerative endodontics: materials and biological characterizations. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine* [Internet]. 2013 [cité 26 oct 2020];9(11):E116-23. Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/term.1712>
91. Bottino MC, Albuquerque MTP, Azabi A, Münchow EA, Spolnik KJ, Nör JE, et al. A novel patient-specific three-dimensional drug delivery construct for regenerative endodontics. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* [Internet]. 2019 [cité 28 oct 2020];107(5):1576-86. Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jbm.b.34250>
92. Huang GT-J, Garcia-Godoy F. Missing Concepts in De Novo Pulp Regeneration. *J Dent Res* [Internet]. mai 2014 [cité 26 oct 2020];93(8):717-24. Disponible sur: https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0022034514537829?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub++0pubmed
93. Kim JY, Xin X, Moiola EK, Chung J, Lee CH, Chen M, et al. Regeneration of dental-pulp-like tissue by chemotaxis-induced cell homing. *Tissue Eng Part A* [Internet]. oct 2010 [cité 18 févr

- 2021];16(10):3023-31. Disponible sur:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2947424/>
94. Suzuki T, Lee CH, Chen M, Zhao W, Fu SY, Qi JJ, et al. Induced migration of dental pulp stem cells for in vivo pulp regeneration. J Dent Res [Internet]. 2011 [cité 4 juin 2021];90(8):1013-8. Disponible sur:
https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0022034511408426?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed
 95. Keshtkar S, Azarpira N, Ghahremani MH. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles: novel frontiers in regenerative medicine. Stem Cell Res Ther. 2018;9(1):63.
 96. Zayed M, Iohara K, Watanabe H, Ishikawa M, Tominaga M, Nakashima M. Characterization of stable hypoxia-preconditioned dental pulp stem cells compared with mobilized dental pulp stem cells for application for pulp regenerative therapy. Stem Cell Res Ther. mai 2021;12(1):302.
 97. Nakashima M, Reddi AH. The application of bone morphogenetic proteins to dental tissue engineering. Nat Biotechnol 2003;21(9):1025-32.
 98. Nakashima M, Tachibana K, Iohara K, Ito M, Ishikawa M, Akamine A. Induction of reparative dentin formation by ultrasound-mediated gene delivery of growth/differentiation factor 11. Human Gene Therapy, avr 2003;14(6):591-7.
 99. Nakashima M, Iohara K, Ishikawa M, Ito M, Tomokiyo A, Tanaka T, et al. Stimulation of reparative dentin formation by *ex vivo* gene therapy using dental pulp stem cells electrotransfected with growth/differentiation factor 11 (Gdf11). Human Gene Therapy, nov 2004;15(11):1045-53.
 100. Nakashima M. Tissue engineering in endodontics. Australian Endodontic Journal [Internet]. 2005 [cité 11 juin 2020];31(3):111-3. Disponible sur:
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1747-4477.2005.tb00317.x>
 101. Nakashima M, Iohara K, Zheng L. Gene therapy for dentin regeneration with bone morphogenetic proteins. Curr Gene Ther, sept 2006;6(5):551-60.
 102. Iohara K, Zheng L, Ito M, Tomokiyo A, Matsushita K, Nakashima M. Side population cells isolated from porcine dental pulp tissue with self-renewal and multipotency for dentinogenesis, chondrogenesis, adipogenesis, and neurogenesis. Stem Cells [Internet]. 2006 [cité 5 oct 2020];24(11):2493-503. Disponible sur:
<https://stemcells.journals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1634/stemcells.2006-0161>
 103. Iohara K, Zheng L, Ito M, Ishizaka R, Nakamura H, Into T, et al. Regeneration of dental pulp after pulpotomy by transplantation of CD31-/CD146- side population cells from a canine tooth. Regen Med, mai 2009;4(3):377-85.
 104. Miyashita S, Ahmed NEMB, Murakami M, Iohara K, Yamamoto T, Horibe H, et al. Mechanical forces induce odontoblastic differentiation of mesenchymal stem cells on three-dimensional biomimetic scaffolds. Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine [Internet]. 2017 [cité 5 oct 2020];11(2):434-46. Disponible sur:
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/term.1928>
 105. Hirose Y, Yamaguchi M, Kawabata S, Murakami M, Nakashima M, Gotoh M, et al. Effects of extracellular pH on dental pulp cells *in vitro*. Journal of Endodontics [Internet]. 1 mai 2016 [cité 5 oct 2020];42(5):735-41. Disponible sur:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0099239916000716>

INDEX DES ILLUSTRATIONS :

FIGURE 1: COUPE HISTOLOGIQUE DU COMPLEXE DENTINO-PULPAIRE. (W) ZONE ACELLULAIRE DE WEIL, (ZR) ZONE RICHE EN CELLULES, (ZC) ZONE CENTRALE. (3)	9
FIGURE 2 : LES TROIS COMPOSANTS PRINCIPAUX DE L'INGENIERIE TISSULAIRE. (7).....	11
FIGURE 3: CHRONOLOGIE DES RECHERCHES A L'ORIGINE DE L'ESSAI CLINIQUE DE NAKASHIMA ET SON EQUIPE.	13
FIGURE 4: (A) L'ANALYSE PAR CYTOMETRIE DE FLUX DE CULTURE SHED AU 3 ^{EME} PASSAGE A REVELE L'EXPRESSION DE STRO-1 (12,06 %), CD146 (48,39 %), SSEA4 (85,40 %), CD73 (91,93 %), CD105 (6,77 %), CD166 (63,65 %), MAIS ETAIT NEGATIF POUR LES MOLECULES DE SURFACE CD34 ET CD45. CES SIGNAUX SONT REPRESENTES PAR LA ZONE ROUGE. LES LIGNES PLEINES INDIQUENT DES SIGNAUX POUR LES ANTICORPS DE CONTROLE APPARIES A L'ISOTYPE. (B) L'IMMUNOFLUORESCENCE A CONFIRME QUE SHED EXPRIME STRO-1, CD146 ET SSEA4 AINSI QUE NEGATIF POUR CD34 ET CD45. LA FLUORESCENCE ROUGE INDIQUE L'EXPRESSION DES MARQUEURS DE LA SURFACE CELLULAIRE. LES NOYAUX DES CELLULES BLEUES ONT ETE COLORES PAR DAPI. (14).....	15
FIGURE 5: APRES UNE SEMAINE D'INDUCTION DE CULTURE DANS DES CONDITIONS OSTEOGENIQUES, L'ACTIVITE ALP ET LE NOMBRE DE CELLULES POSITIVES ALP DANS SHED ET BMMSC ETAIENT SIGNIFICATIVEMENT PLUS ELEVES QUE CEUX DES SHED ET BMMSC TEMOINS, RESPECTIVEMENT, PAR COLORATION ALP. LA B-ACTINE A ETE UTILISEE COMME CONTROLE INTERNE. (C) L'ANALYSE PAR IMMUNOEMPREINTE A MONTRE QUE L'INDUCTION OSTEOGENIQUE ELEVE LES NIVEAUX D'EXPRESSION D'ALP, RUNX2, DSP ET OCN DANS SHED ET BMMSC. (D) APRES QUATRE SEMAINES D'INDUCTION OSTEOGENIQUE, SHED A MONTRE SA CAPACITE A FORMER DES NODULES MINERALISES COMME MONTRE PAR LA COLORATION AU ROUGE ALIZARINE. (14)	15
FIGURE 6: SHED SE DIFFERENCIE EN ODONTOBLASTES FONCTIONNELS QUI GENERENT UNE NOUVELLE DENTINE TUBULAIRE IN VIVO. (A) PHOTOGRAPHIES EN MICROSCOPIE CONFOCALE (RANGEE DU HAUT) ET COLORATION A L'HEMATOXYLINE ET A L'EOSINE (RANGEE DU BAS) REALISEES DANS DES ECHANTILLONS PRELEVES SUR DES SOURIS SCID, 32 JOURS APRES L'IMPLANTATION. (B) ANALYSE RT-PCR DE L'EXPRESSION DE L'ARNM DSPP ET DMP-1 SUR LES TISSUS RECUPERES DE LA CHAMBRE PULPAIRE DES TRANCHES DE DENTS DES 4 GROUPES EXPERIMENTAUX 32 JOURS APRES TRANSPLANTATION. LES TEMOINS POSITIFS ETAIENT DES ODONTOBLASTES RECUPERES DE TROISIEMES MOLAIRES HUMAINES. (17)	16
FIGURE 7: DIAGRAMMES SCHEMATIQUES DEMONTRANT LA METHODE D'ISOLATION DES CELLULES SOUCHES MOBILISEES DE LA PULPE DENTAIRE (MDPSC) A PARTIR DE CELLULES SOUCHES DE LA PULPE DENTAIRE (DPSC) DERIVEES DE COLONIES. (29)	17
FIGURE 8: COMPARAISON ENTRE LES CELLULES SOUCHES DE LA PULPE ISOLEES AVEC G-CSF ET LA TOTALITE DES CELLULES DE LA PULPE. (R) : ACTIVITE DE PROLIFERATION (S) : ACTIVITE DE MIGRATION. LES ACTIVITES DE PROLIFERATION ET DE MIGRATION DES CELLULES SOUCHES PULPAIRE DE CHIEN AVEC G-CSF SONT SUPERIEURES A CELLES DES CELLULES PULPAIRES TOTALES. (28)	17
FIGURE 9: (D) : ANALYSE RT-PCR DE L'EXPRESSION DES MARQUEURS DES CELLULES SOUCHES ET DES FACTEURS ANGIOGENIQUES/NEUROTROPHIQUES DANS LES CELLULES SOUCHES PULPAIRES DE CHIEN PAR RAPPORT A CELLES DANS LES CELLULES PULPAIRES TOTALES. (28)	18
FIGURE 10: (E) : POTENTIEL ANGIOGENIQUE DES CELLULES SOUCHES PULPAIRE DE CHIEN ISOLEES AVEC DU G-CSF SUR DU MATRIGEL. (28)	18
FIGURE 11: (G) : FORMATION DE NEUROSFERES A PARTIR DES CELLULES SOUCHES PULPAIRES ISOLEES AUX G-CSF DE CHIEN SUR DU MATRIGEL. (J, K) : POTENTIEL NEUROGENE 14 JOURS APRES INDUCTION. (J) : IMMUNOMARQUAGE DES NEUROFILAMENTS. (K) : COMPARAISON DE L'EXPRESSION D'ARNM DE LA NEUROMODULINE, DE SCN1A ET DE NEUROFILAMENT ENTRE LES CELLULES SOUCHES PULPAIRES ISOLEES AUX G-CSF ET LES CELLULES PULPAIRES TOTALES DE CHIEN. (28)	18
FIGURE 12: (O) : POTENTIEL ODONTOGENE DES CELLULES SOUCHES PULPAIRES DE CHIEN (COLORATION AU ROUGE ALIZARINE). (Q) : EXPRESSION DE L'ENAMELYSINE ET DE L'ARNM DE LA DSPP. (28).....	19
FIGURE 13: STANDARDISATION DU PROCESSUS DE FABRICATION DE CELLULES DP AUX NORMES GMP. IL NECESSITE CINQ ETAPES PRINCIPALES : LA SELECTION DES DENTS ET LA RECUPERATION PULPAIRE (ETAPE 1), L'ISOLATION DES CELLULES DP AVEC DES PROCEDURES RAPIDES, SURES ET LES MOINS COUTEUSES POSSIBLES (ETAPE 2), L'EXPANSION CELLULAIRE DANS DES CONDITIONS DE CULTURE DEFINIES « SERUM-FREE » OU « XENO-FREE » (ETAPE 3), SURVEILLANCE ET CONTROLE DE LA FABRICATION DE DP-CBMP (ETAPE 4), UTILISATION DE DP-CBMP DE QUALITE CLINIQUE, POUR IMPLANTATION IMMEDIATE, CRYOCONSERVATION OU DEVELOPPEMENT D'UN ESSAI BIOLOGIQUE (ETAPE 5). (35)	20
FIGURE 14: (A) EXPRESSION DE MARQUEURS DE CELLULES SOUCHES DE SURFACE A 20, 5, 3 % D'O ₂ . (B) RT-PCR QUANTITATIVE POUR LES NIVEAUX D'ARNM DE MARQUEURS DE PLURIPOTENCE ET DE FACTEURS ANGIOGENIQUES/NEUROTROPHIQUES A 20, 5, 3 % D'O ₂ . (40).....	22

FIGURE 15: DIAGRAMME SCHEMATIQUE ILLUSTRANT LA VOIE DE SIGNALISATION DECLENCHEE PAR LE VEGF QUI ENTRAINE LA SIGNALISATION VIA MEK1 ET PERK QUI ENTRAINE UNE ACTIVITE TRANSCRIPTIONNELLE ERG ET L'EXPRESSION DE LA VE-CADHERINE. (48)	25
FIGURE 16: DIAGRAMMES SCHEMATIQUES DEMONTRANT LE MECANISME DE REGENERATION PULPAIRE APRES TRANSPLANTATION DE CELLULES SOUCHES PULPAIRES AVEC G-CSF. (28).....	26
FIGURE 17: SCHEMA REPRESENTANT LA FABRICATION D'ATELOCOLLAGENE. (55).....	27
FIGURE 18: LE QUATUOR DE L'INGENIERIE TISSULAIRE PULPAIRE. (57).....	28
FIGURE 19: REGENERATION PULPAIRE APRES 28 JOURS LA TRANSPLANTATION DE MDPSC AVEC DES EXTRAITS DE DENTINE DISSOUT RECONSTITUEES. (A, G, N, U) TRANSPLANTATION DE MDPSCS DANS LES DENTS SANS TRAITEMENT. (C, I, P, W) TRANSPLANTATION DE MDPSCS DANS LES DENTS SANS LES EXTRAITS DISSOUT PAR EDTA. (F, L, S, Z) TRANSPLANTATION DE MDPSCS DANS LES DENTS AVEC LES EXTRAITS DISSOUT PAR EDTA. RAPPORT ENTRE LA SURFACE REGENeree ET LA SURFACE DU CANAL RADICULAIRE (M). RATIO DE CELLULES HOECHST 33342-POSITIVES A LA SURFACE REGENeree (T). RAPPORT DE LA SURFACE DE VASCULARISATION A LA SURFACE TOTALE REGENeree (ZZ). (46)	30
FIGURE 20: UN DIAGRAMME SCHEMATIQUE DEMONTRANT LES EFFETS DIRECTS ET INDIRECTS DU PRETRAITEMENT A LA TRYPSINE. (65)	31
FIGURE 21: CONDITIONS OPTIMALES DE PRETRAITEMENT A LA TRYPSINE DES DENTS DEVITALISEES AVANT LA TRANSPLANTATION CELLULAIRE CHEZ LES CHIENS AGES. (A–F) REGENERATION DE LA PULPE. (G–L) CELLULES ATTACHEES SUR LA PAROI DENTINAIRE. (A, G) CONTROLE. (B, H) NANOBULLES. (C, I) 0,05 % DE TRYPSINE PENDANT 10 MIN. (D, J) 0,5% DE TRYPSINE PENDANT 10 MIN. (E, K) 0,05 % DE TRYPSINE PENDANT 30 MIN. (F, L) 0,05 % DE TRYPSINE AVEC DES NANOBULLES PENDANT 10 MIN. (M) RAPPORT ENTRE LA SURFACE NOUVELLEMENT REGENeree ET LA SURFACE DU CANAL RADICULAIRE. (32).....	32
FIGURE 22: EFFET DE DIFFERENTES CONCENTRATIONS DE TAP SUR LA SURVIE DE SCAPs IN VITRO. LA VIABILITE DES SCAP (CELLULES SOUCHES DE LA PAPILLE APICALE) EST DIMINUEE SELON L'AUGMENTATION DE LA CONCENTRATION DE TAP. (60)	33
FIGURE 23: ILLUSTRATIONS DECRIVANT ETAPE PAR ETAPE LES SEQUENCES DE L'ETUDE CLINIQUE DE NAKASHIMA ET AL. REALISEE SUR L'HOMME. (9).....	37
FIGURE 24: PROFIL DE L'ESSAI CLINIQUE ET CALENDRIER DE L'ETUDE. (A) CONCEPTION D'UN ESSAI CLINIQUE POUR EXAMINER LA REGENERATION DE LA PULPE DENTAIRE PAR DES HDPSC AUTOLOGUES. (B) LES EVENEMENTS DE L'ETUDE ET LE CALENDRIER DES PROCEDURES ET DES TESTS. (10)	38
FIGURE 25: IMPLANTATION D'AGREGATS DE HDPSC CHEZ LES PATIENTS. (A) DESINFECTION DU CANAL RADICULAIRE. (B) LE TISSU PERIAPICAL A ETE LACERE POUR PROVOQUER UN SAIGNEMENT. (C) DEUX AGREGATS DE HDPSC ONT ETE IMPLANTES DANS LE CANAL RADICULAIRE ET POUSES DANS L'EXTREMITÉ APICALE DE LA RACINE. (D) UN BOUCHON DE MTA A ETE UTILISE POUR SCELLER LE CANAL RADICULAIRE ET LES CAVITES D'ACCES ONT ETE TEMPORAIREMENT SCELLEES AVEC UN CVI. (10)	40
FIGURE 26: LES CHANGEMENTS D'ASPECT DU TISSU PULPAIRE OBSERVABLE PAR IRM. (A–G) IRM SAGITTALE PONDEREE EN T2. (A) DENT AVEC UN TISSU PULPAIRE NORMAL. (B) DENT DEPULPEE. (C) DENT 1 JOUR APRES LA TRANSPLANTATION DE COLLAGENE SEUL. (D) DENT 90 JOURS APRES LA TRANSPLANTATION DE COLLAGENE SEUL. LA FLECHE INDIQUE UNE INTENSITE DE SIGNAL (SI) TRES BAS DANS LA PARTIE APICALE DU CANAL RADICULAIRE. (E) DENT 1 JOUR APRES LA TRANSPLANTATION DE MDPSCs ET G-CSF AVEC DU COLLAGENE. (F) DENT 90 JOURS APRES LA TRANSPLANTATION DE MDPSCs ET G-CSF AVEC DU COLLAGENE. (G) DENT 180 JOURS APRES LA TRANSPLANTATION DE MDPSCs ET G-CSF AVEC DU COLLAGENE. L'ASPECT PULPAIRE APRES TRANSPLANTATION DE MDPSCs ET G-CSF EST SIMILAIRE A CELUI D'UNE PULPE SAINTE DES 90 JOURS APRES LA TRANSPLANTATION. (77)	41
FIGURE 27: ANALYSE PAR IRM EN « FAT-SUPPRESSED T2-WEIGHTED » (FST2W), DES CANAUX RADICULAIRES TRANSPLANTES AVEC DES MDPSCs. (A-B) A 12 SEMAINES, (C-D) A 24 SEMAINES, (A-C) EN COUPE SAGITTALE, (B-D) EN COUPE AXIAL AU NIVEAU DE LA CORONAIRE DU CANAL. (E) SI RELATIF DE L'IRM. (9)	43
FIGURE 28 : (A) ANALYSE RADIOGRAPHIQUE POUR MONTRER LES CHANGEMENTS ET L'EVOLUTION DES TISSUS PERI APICAUX ET LA FORMATION DE TISSUS MINERALISES APICAUX ET/OU LATERAUX DANS LE CANAL RADICULAIRE LORS DES DIFFERENTES VISITES. (B) ÉVALUATION PAR TOMODENSITOMETRIE A FAISCEAU CONIQUE DE LA FORMATION DE DENTINE APICALE/LATERALE DANS LE CANAL RADICULAIRE EN COUPES CORONALES ET AXIALES CHEZ 3 PATIENTS A 16 ET 28 SEMAINES. LES FLECHES INDIQUENT LA DENTINE NOUVELLEMENT FORMEE. (9)	45
FIGURE 29: LA SENSATION MEASUREE PAR LE TEST ELECTRIQUE PULPAIRE. LE GROUPE CONTROL EST LE GROUPE AYANT REÇU L'APEXIFICATION. (10)	46
FIGURE 30: LA FORMATION VASCULAIRE MEASUREE PAR LA FLUXMETRIE LASER DOPPLER. LE GROUPE CONTROL EST LE GROUPE AYANT REÇU L'APEXIFICATION. (10)	46
FIGURE 31 : ANALYSE HISTOLOGIQUE DE LA PULPE DENTAIRE REGENeree PAR HDPSC. (A) DES IMAGES HISTOLOGIQUES REPRESENTATIVES MONTRENT QUE LE TISSU PULPAIRE NORMAL DES DENTS HUMAINES (B) IMAGE REPRESENTATIVE D'UNE INCISIVE HUMAINE 12 MOIS APRES L'IMPLANTATION DE HDPSC MONTRE UN TISSU PULPAIRE REGENERE AVEC UNE STRUCTURE TISSULAIRE SIMILAIRE A CELLE DU TISSU PULPAIRE HUMAIN NORMAL. DES ODONTOBLASTES (FLECHES NOIRES). (C) LE TISSU	

PULPAIRE REGENERE APRES L'IMPLANTATION DE HDPSC CONTENAIT DES CELLULES NEUN-POSITIVES (ROUGE) (MARQUEUR NEURONAL) ; LE DAPI (BLEU) A ETE UTILISE POUR COLORER LES NOYAUX. (10)	47
FIGURE 32: REGENERATION PULPAIRE DES INCISIVES DE PATIENTS APRES IMPLANTATION DE SHEDs. (A) IMAGES CBCT REPRESENTATIVES DES DENTS INCISIVES IMPLANTEES A 6 ET 12 MOIS APRES LE TRAITEMENT. LA LONGUEUR DE LA RACINE (LIGNE ROUGE) A AUGMENTE A 6 ET 12 MOIS. LE FORAMEN APICAL (LIGNE BLEUE) A ETE FERME 12 MOIS APRES L'IMPLANTATION. (B) IMAGES 3D REPRESENTATIVES D'UNE INCISIVE HUMAINE PERMANENTE IMMATURE TRAUMATISEE AVANT ET APRES L'IMPLANTATION. LES GRAPHIQUES REPRESENTENT LA LONGUEUR DE LA RACINE, LA LARGEUR DU FORAMEN APICALE ET L'ÉPAISSEUR DES PAROIS DENTINAIRES A 6 ET 12 MOIS. LE GROUPE CONTROL EST LE GROUPE AYANT REÇU L'APÉXIFICATION. (10)	48
FIGURE 33: UN CONCEPT D'UNE PROCEDURE DE REVITALISATION/REGENERATION NON CELLULAIRE. (A) L'ESPACE DU CANAL RADICULAIRE EST REMPLI D'UN SCAFFOLD PORTANT DES FACTEURS DE CROISSANCE QUI SONT LIBERES DANS LES TISSUS ADJACENTS POUR INDUIRE LA MIGRATION DES CELLULES SOUCHES/PROGENITRICES DANS L'ESPACE DU CANAL ET POUR GUIDER LA DIFFERENCIATION DES CELLULES MIGREES VERS UNE LIGNEES ODONTOBLASTIQUE. (B) SI LA PAPILLE APICALE (AP) EST TOUJOURS PRESENTE, LES CELLULES DANS CE TISSU (PAR EXEMPLE, LES SCAP) PEUVENT ETRE ATTIRE DANS L'ESPACE DU CANAL AVEC DES CELLULES SANGUINES. (C) SI AP N'EST PLUS PRESENT, LES CELLULES PERIAPICALES (PA) ET LES CELLULES SANGUINES PEUVENT ETRE ATTIREES. (92)	51

INDEX DES TABLEAUX :

TABEAU 1: CARACTERISTIQUES INITIALES DES PATIENTS DE L'ÉTUDE DE NAKASHIMA ET AL. (9).....	35
TABEAU 2: ÉVALUATION DE L'INNOCUITE ET DE L'EFFICACITE. A. LA REACTION POSITIVE A ETE DETECTEE APRES 36 SEMAINES. B. LA ZONE DE LA RADIOCLARTE PERIAPICALE A PROGRESSIVEMENT DIMINUE APRES LA TRANSPLANTATION CELLULAIRE. C. UN ELARGISSEMENT DE L'ESPACE LIGAMENTAIRE PARODONTAL A ETE DETECTE. (9).....	42

COCHARD (Nicolas). – La régénération pulpaire chez l’Homme : les avancées cliniques. -64 f. ; ill. ; tabl. ; 105 ref. ; 30 cm (Thèse : Chir. Dent. ; Nantes ; 2021)

RÉSUMÉ : Au cours des deux dernières décennies, l'ingénierie tissulaire a fait un énorme bon en avant. Reposant sur trois éléments clé (les cellules souches, les scaffolds et les facteurs de croissance), elle permettrait aux dents dévitalisées de retrouver une pulpe vitale et fonctionnelle. En 2017 et 2018, deux chercheurs (Nakashima (Japon) et Xuan (Chine)) ont atteint la phase d’essai-clinique sur l’Homme. En respectant les « Good Manufacturing Practice », ils ont pu réaliser une transplantation autologue de cellules souches dans le but de régénérer la pulpe dentaire chez des sujets humains. La régénération pulpaire par ingénierie tissulaire est un acte technique d’avenir et une procédure qui viendra enrichir l’arsenal thérapeutique des chirurgien-dentistes. Ce travail de thèse décrit les travaux de ces deux équipes et développe les cellules et matériaux transplantés dans ces études.

RUBRIQUE DE CLASSEMENT : BIOLOGIE EXPÉRIMENTALE

MOTS CLES MESH :

Humains – Humans

Différenciation cellulaire – Cell Differentiation

Prolifération cellulaire – Cell Proliferation

Cellules souches – Stem cells

Substances de croissance – Growth substances

Structures d'échafaudage tissulaires – Tissue scaffolds

Désinfection - Disinfection

Pulpite – Pulpitis

Pulpectomie - Pulpectomy

Régénération - Regeneration

Transplantation de cellules souches – Stem Cell transplantation

Transplantation autologue – Transplantation, Autologous

JURY :

Présidente : Professeur ALLIOT-LICHT B.

Directrice : Docteur RENARD E.

Assesseur : Docteur PRUD’HOMME T.

Assesseur : Docteur SERISIER S.

ADRESSE DE L’AUTEUR :

6 rue Arthur III – 44200 Nantes

nicolas.cochard@orange.fr