

1- Le projet iLite dans le cadre de l'appel d'offres RHU du PIA2: un « macro délivrable » d'Hépatinov

Le DHU Hépatinov portera le projet iLite détaillé dans le texte de Dominique Franco de cette Newsletter. Cette réponse à l'appel d'offres PIA2 a été possible grâce à une collaboration très étroite entre Hépatinov, l'association CellSpace et l'institut Meary. L'écriture du projet a permis en réunissant différents experts dans la bioingénierie d'organes de définir certaines étapes clés entre le tissu simple et le tissu complexe. Ainsi, cette convergence des différentes expertises s'est déjà matérialisée pour aboutir à un projet « organoïde foie ».

Jean-Charles Duclos-Vallée

2- Un GH, deux DHU, trois projets de RHU

La campagne de RHUs bat son plein. Il semblerait que 25 à 30 projets soient prêts à être soumis à l'appel d'offre lancé début janvier par le Commissariat général à l'Investissement (CGI) dans le cadre du deuxième volet du Plan d'Investissement d'Avenir (PIA2) dont la clôture est prévue le 9 avril. Au niveau des Hôpitaux Universitaires Paris Sud, trois projets sont en préparation. Deux sont portés par Torino et concernent pour le premier les relations entre microbiote et cancer et pour le second la réalisation d'un cœur-poumon artificiel. Un projet est porté par le DHU Hépatinov. Ce projet associant Hépatinov, CellSpace et l'unité de thérapie cellulaire de Jérôme Larghero (avec la future plateforme Meary de l'hôpital Saint Louis) porte sur la bio-ingénierie cellulaire et tissulaire. Intitulé iLite (pour innovation in Liver and Tissue Engineering) il s'est affiné au cours de sa construction. D'une part il s'est orienté principalement vers la construction du foie –vocation naturelle d'Hépatinov- sous forme d'organoïdes et/ou de liver-on-chip pour la toxicologie et la thérapie prédictives, et à terme d'un véritable foie pour la transplantation. Un petit nombre d'autres tissus ou organes (tissus cardiaques, trachée, œsophage) persistent cependant dans le projet car ils permettent de tester les briques élémentaires qui serviront à terme à la construction de foie et qu'ils en sont déjà au stade de l'évaluation préclinique ou même des premiers essais chez l'homme.

D'autre part le projet est décliné en termes des différentes technologies innovantes utiles pour la construction d'un foie : bio-ingénierie cellulaire, modélisation in silico, scaffolds, techniques de micropatterning et de bioprinting, bioréacteurs. Un volet formation est associé à ces développements technologiques. Le regroupement autour de CellSpace et de Meary des compétences dans le domaine des cellules souches, de la physique et de l'ingénierie et de quelques entreprises investies dans la Médecine Régénérative, devrait permettre de faire évoluer ces différentes technologies très innovantes. Lors d'une rencontre avec les responsables du domaine biotechnologique du CGI le 27 mars, l'intérêt potentiel et les difficultés de ce projet ont été évoqués. L'appel d'offre, comme tous ceux du PIA, cherche à soutenir l'innovation dans le cadre d'une filière industrielle. L'une des difficultés dans ce type de projet d'ingénierie tissulaire est l'absence de l'implication de grosses entreprises, ce qui est d'ailleurs aussi le cas au niveau mondial. Rappelons qu'une des plus grosses et des plus ambitieuses entreprises internationales dans le domaine de la bio-ingénierie de tissu et d'organes, la compagnie Organovo à San Diego en Californie, ne comporte que 70 membres. Les entreprises entrant dans iLite sont encore plus petites et ne disposent pas des masses financières importantes utiles au développement d'un tel projet. C'est un handicap qui est bien compris par le CGI. Ce projet, comme celui de CellSpace, est soutenu par les instances régionales dans le cadre de la Vallée Scientifique de la Bièvre et Campus Grand Paris par Paris et la Région. Souhaitons que le jury d'experts académique et industriels soit séduit par le projet iLite.

Dominique Franco

3- Lames numériques et leurs applications

La technologie des lames numériques apparue au cours de ces 10 dernières années a rapidement progressé permettant l'obtention d'images de très bonne qualité et a bénéficié des progrès des stockages informatiques et des réseaux. Elle représente une véritable révolution en Anatomie Pathologique en remplaçant les lames de verre, support physique traditionnel de l'analyse anatomopathologique par des lames numériques ou digitales consultables sur un ordinateur soit local soit distant connecté à un réseau. Les applications en diagnostic, en enseignement et en recherche sont multiples.

Les services d'Anatomie Pathologique associés au DHU Hépatinov (Bicêtre/Paul Brousse et Antoine Béclère) ont été parmi les premiers services équipés en scanner de lames au sein de l'APHP. Les lames numériques ont tout d'abord utilisées dans le cadre de l'enseignement à la Faculté de Médecine Paris-Sud (Université Paris 11) dès l'année universitaire 2007-2008 comme nouveau support pédagogique pour l'enseignement de l'histologie, de l'anatomie et de la cytologie pathologiques. Le projet pédagogique dont les objectifs ont été pleinement atteints, visait à intégrer totalement les enseignements d'Histologie (2e et 3e année des études de médecine) et d'Anatomie Pathologique (3e année des études de médecine), et surtout à mettre en valeur la démarche anatomoclinique dans l'enseignement de l'Anatomie Pathologique via l'utilisation de dossiers anatomocliniques multimedia. L'environnement informatique de la faculté a été adapté : un serveur dédié, un site web permettant l'accès à distance des étudiants aux lames numériques et aux dossiers anatomocliniques. Très rapidement, les lames numériques ont été utilisées à l'hôpital au cours des réunions anatomocliniques hebdomadaires en Hépatologie à Paul Brousse, enrichissant le dialogue anatomoclinique dans la démarche diagnostique et guidant au plus précis la prise en charge thérapeutique. Plus récemment, les lames numériques sont entrées véritablement dans le domaine des soins, permettant le télédiagnostic extemporané et la téléexpertise en Anatomie Pathologique. Le télédiagnostic extemporané a été mis en place entre Paul Brousse et Bicêtre depuis juillet 2013 dans le cadre d'un service unique d'Anatomie Pathologique, permettant une optimisation du temps médical. La téléexpertise permet aux médecins pathologistes du service, experts en pathologie hépatique de répondre rapidement à des demandes de deuxième avis dans ce domaine. Ces deux aspects de la Télépathologie s'inscrivent dans le cadre du réseau de Télépathologie d'Île-de-France majoritairement financé par l'ARS-IF pour un démonstrateur de 18 mois et regroupant 17 structures ACP pour 20 établissements de santé: 12 établissements AP-HP (11 services d'Anatomie Pathologique), 6 hôpitaux généraux d'Île de France (5 services d'Anatomie Pathologique), une structure de soins privée ESPIC (sans service ACP) et une structure libérale ACP d'Île de France.

La recherche, enfin, qu'elle soit clinique, translationnelle ou fondamentale représente un champ d'application immense de la microscopie digitale, que ce soit pour les tissus humains ou animaux. Celle-ci permet le fonctionnement en réseau, le partage des images microscopiques et de leurs annotations, le stockage pérenne et surtout l'automatisation et la reproductibilité de la quantification qu'il s'agisse de la fibrose, de l'angiogénèse ou d'un marquage immunohistochimique. Ces analyses peuvent être réalisés à haut débit par le biais des Tissue microarrays. La station d'imagerie numérique du service d'Anatomie Pathologique de Paul Brousse est à cet effet ouverte aux chercheurs des 2 sites Paul Brousse et Bicêtre depuis son origine ; ces derniers l'ont largement utilisée et enrichie de briques logicielles d'analyse d'image apportées par les uns ou les autres en fonction de leurs besoins. L'étape actuelle est la recherche de financements mutualisés pour remplacer le scanner initial maintenant vieillissant pour un scanner à haut débit permettant la numérisation de lames de fluorescence. La révolution de la pathologie numérique n'en est qu'à son début. Le passage au tout numérique en pathologie est inéluctable mais doit passer par des étapes de réflexion sur l'architecture des réseaux, le modèle économique, les règles d'archivage (une lame numérique « pèse » en moyenne 2Gigas) et de travail avec les industriels pour créer un outil ergonomique.

Catherine Guettier-Bouttier

4- Pourquoi faut-il s'intéresser à l'impact du Chlordécone et à d'autres polluants environnementaux dans les pathologies hépatiques ?

Le foie est un organe de détoxification qui contribue à la « dépollution » des xénobiotiques, c'est-à-dire des facteurs environnementaux que nous absorbons par inhalation, ingestion ou par voie cutanée. Ces agents environnementaux pourraient donc directement induire des pathologies du foie comme des fibroses hépatiques, ou impacter sur les évolutions d'hépatopathies chroniques déjà établies et d'étiologie variée, ou encore induire des cancers hépatiques.

Parmi les facteurs environnementaux les mieux connus pour leurs effets sur les hépatopathies, notons l'aflatoxine B1, une mycotoxine produite par des champignons proliférant sur des graines mal conservées, qui est un co-facteur de la carcinogénèse hépatique. Certains dérivés des nitrosamines présents dans le malt de brasserie ou dans l'industrie du caoutchouc, ont été aussi impliqués dans la carcinogénèse hépatique. Ainsi ces polluants environnementaux ont des effets bien caractérisés sur l'hépatocarcinogénèse qui en font des substances classées cancérigènes 1 et 2A, respectivement, par le CIRC (Centre international de recherche sur le cancer). Les études chez l'animal ont montré que le foie, en tant qu'organe de stockage des toxiques, était également la première cible, après une longue période d'absorption à doses toxiques des pesticides organochlorés. Les premières études sur la toxicité des pesticides organochlorés chez l'Homme, émanent des USA, où s'est faite une utilisation large et prolongée des pesticides organochlorés depuis la guerre et pendant plus de 20 ans. C'est ainsi qu'a été évalué, pour la première fois, l'impact des pesticides organochlorés sur la survenue de carcinome hépatocellulaire (CHC). Ces résultats ont été confirmés par des études plus récentes, montrant que l'exposition aux pesticides organochlorés entraînait un risque surajouté de CHC chez les patients porteurs d'hépatopathies virales B, au même titre que l'excès d'alcool ou la co-infection virale C. Plus précisément, le DDT et le DDE ont été associés aux plus forts risques de CHC, chez la souris comme chez l'Homme. Le chlordécone est également un pesticide organochloré, moins connu car produit de 1955 à 1975 aux USA. La majorité du chlordécone produit aux USA (~ 90%) a été exportée en Amérique latine, Asie, Afrique (Cameroun, Côte d'Ivoire) et dans la Caraïbe (Antilles françaises) mais sa production a été interrompue en 1975 suite aux effets sanitaires constatés chez les ouvriers de l'usine de fabrication du chlordécone. En 1981, le chlordécone est réapparu dans le circuit commercial Français sous la formulation de Curlone pour le compte des établissements De Laguarrigue. Le Curlone a été principalement employé aux Antilles françaises, de 1981 à 1993, pour lutter contre le charançon du bananier (*Cosmopolitus sordidus*), mais aussi exporté au Cameroun et en Côte d'Ivoire où il a été employé jusqu'en 1995 et 1998 respectivement. Le chlordécone a donc été utilisé de 1973 à 1993 aux Antilles françaises. L'une des particularités du chlordécone, qui le distingue de la plupart des autres polluants organochlorés persistants, est celui de s'accumuler principalement dans le foie. A des niveaux élevés d'exposition par voie orale (de l'ordre de 20 mg/kg pendant 80 semaines), il a été démontré que le chlordécone favorisait significativement la survenue d'hépatocarcinomes chez les rats (22% vs. 0% chez les femelles et 7% vs. 0% chez les mâles, respectivement) et les souris exposés (47% vs. 0% chez les femelles et 88% vs. 16% chez les mâles, respectivement). De ce fait, il a été classé comme cancérigène possible pour l'Homme par le Centre International de la Recherche sur le Cancer de l'OMS (CIRC-OMS) en 1979. Contrairement aux autres pesticides organochlorés, il existe peu de données sur l'hépatotoxicité du chlordécone chez l'Homme. Les seules données disponibles proviennent des observations effectuées chez les ouvriers de l'usine d'Hopewell. Des biopsies hépatiques ont montré une prolifération du réticulum endoplasmique lisse due à une augmentation de l'activité enzymatique mitochondriale des cellules hépatiques secondaire à une absorption massive de chlordécone.

Des dosages tissulaires chez des sujets asymptomatiques ont révélé des concentrations élevées de chlordécone dans le foie (de 13 à 173 mg/kg), la bile (de 2,5 à 30 mg/L) mais aussi, dans de moindres proportions, dans le muscle et la graisse sous cutanée. Les effets hépatiques du chlordécone s'expliqueraient donc par une réponse adaptative du foie au chlordécone et non par une toxicité proprement dite. Une toxicité peut toutefois survenir en cas de co-administration d'un autre agent hépatotoxique (c'est-à-dire inducteur d'une lyse des hépatocytes) par le biais d'une induction enzymatique du cytochrome P450 par le chlordécone, comme cela l'a été observé avec le tétrachlorure de carbone (CCl₄). Cette potentialisation qui se traduit par une insuffisance hépatique grave est couplée à une diminution, voire à une suppression, du processus de régénération tissulaire ainsi qu'à une augmentation de l'activité nécrotico-inflammatoire. Toutefois à ce jour, aucun co-facteur environnemental n'a été incriminé dans l'évolution pro-fibrosante des hépatopathies chroniques alors que les arguments pour qu'ils le soient, sont nombreux.

Michel Samson et Moana Gelu-Simeon

5- La cholangite à IgG4, une pathologie à mieux connaître

La cholangite à IgG4 est une maladie cholestatique décrite d'abord dans des cohortes japonaises puis dans des cohortes européennes. La cholangite à IgG4 est la manifestation biliaire de la maladie systémique à IgG4 (management of cholestatic liver diseases, EASL 2009). La cholangite à IgG4 est un diagnostic différentiel lors de la suspicion d'une cholangite sclérosante primitive, d'un cholangiocarcinome hilair ou distal ou d'un cancer de la tête du pancréas. C'est une maladie rare à évoquer de façon systématique.

La physiopathologie de la maladie à IgG4 est mal connue. Des agents auto-immuns ou infectieux (*Helicobacter pylori* ?) seraient de potentiels déclencheurs immunologiques de la maladie à IgG4. Les interleukines 4, 5, 10 et 13 et le Transforming growth factor β (TGF- β) sont sur-exprimés via une réaction immune de type T helper de type 2 (Th2) prédominante, suivie par une activation des lymphocytes T régulateurs (Treg). Ces cytokines contribueraient à l'élévation des IgG4 voire à l'hyperéosinophilie et à l'élévation des IgE parfois notées. L'infiltration massive par les cellules inflammatoires serait responsable de l'augmentation pseudo-tumorale des tissus affectés et de dysfonctions d'organes. Les dégâts épithéliaux pourraient résulter de l'inflammation tissulaire et du dépôt de complexes immuns solubles. Le rôle pathogène propre des anticorps de type IgG4 n'est pas établi. Leur production pourrait résulter d'une contre-régulation anti-inflammatoire. La série de patients de la Mayo Clinic ayant une cholangite à IgG4 était constituée essentiellement d'hommes (85%) d'âge moyen 62 ans. Les circonstances de découverte étaient un ictère cholestatique (77%), des douleurs abdominales (26%), un amaigrissement (51%), une stéatorrhée (15%) et un diabète (8%). Une chirurgie avait été réalisée initialement dans 34% des cas. La classification japonaise des cholangites à IgG4 sur l'imagerie des voies biliaires différencie 4 types selon que l'atteinte mime une cholangite sclérosante primitive, un cholangiocarcinome hilair ou distal ou un cancer de la tête du pancréas. La maladie à IgG4 est associée à une atteinte de multiples organes et tissus dont une atteinte des glandes salivaires (44%) et lacrymales (12%), des adénopathies profondes (76%), une néphrite interstitielle (44%), une pneumopathie interstitielle (12%), une pancréatite (52%), une fibrose rétropéritonéale (32%), une aortite (24%), voire une thyroïdite de Riedel, une atteinte orbitaire, une infiltration hypophysaire. Dans une série européenne, au cours des cholangites à IgG4, les principales atteintes extra-biliaires étaient pancréatique (87%), rénale (9%), rétropéritonéale (3%), salivaire (18%), ganglionnaires (43%), pulmonaire (6%). Le diagnostic de la cholangite à IgG4 est évoqué lors de la présence d'une (de) sténose(s) biliaire(s). Le diagnostic est certain lorsque l'histologie pancréatique ou biliaire est typique ou qu'une pancréatite auto-immune typique en imagerie est associée à un niveau d'IgG4 >1400mg/L. Le diagnostic est par ailleurs probable lorsque 2 éléments ou plus sont présents parmi : IgG4 >1400 mg/L, une autre atteinte d'organe, une histologie typique lors d'une biopsie endobiliaire ou papillaire (ou duodénale), une imagerie pancréatique suggestive de pancréatite auto-immune.

Le clinicien doit se rappeler que la sensibilité et la spécificité du dosage des IgG4 ne sont pas de 100%. En effet, certains patients avec une cholangite à IgG4 ont un niveau normal d'IgG4. Inversement, 15% des patients avec une cholangite sclérosante primitive et certains patients avec un cancer du pancréas ou un cholangiocarcinome peuvent avoir des IgG4>1350 mg/L.

Une rémission spontanée se verrait dans 10% des cas. Le traitement de première intention est une corticothérapie systémique à 40 mg/j pendant 4 semaines suivie d'une décroissance de 5mg par semaine avec 11 semaines de traitement au total. Une rémission est observée de façon complète dans 60% des cas et partielle dans 40% des cas. Le suivi de cohortes montrait cependant une rechute fréquente, dans 54%, le plus souvent les mois suivants le sevrage en corticoïde. Le traitement des patients rechuteurs repose sur une reprise des corticoïdes éventuellement associé à de l'azathioprine ou au mycophénolate mofétil. Des rechutes sont possibles chez 8% des patients sous azathioprine. Dans les cas les plus sévères, l'utilisation du rituximab a été proposée. Dans une cohorte britannique, 10% de décès était observé. Les causes de ces décès étaient liées à un cancer, une insuffisance hépatique terminale, une angiocholite ou l'évolution de la maladie à IgG4 (atteinte cérébrale ou pulmonaire).

Rodolphe Anty

6- SAVE THE DATE: Séminaire Bioprinting et Cell patterning du DHU HEPATINOV le 6 mai 2015 à partir de 14h00, organisé par Alexandra Fuchs, Cécile Legallais et Dominique Franco.....

Inscriptions auprès de: laurence.desperies-baille@pbr.aphp.fr ou hepatinov@gmail.com

Bien amicalement, l'équipe HEPATINOV

hepatinov@gmail.com

Secrétariat: Laurence Desperies-Baille: 01.45.59.34.33 laurence.desperies-baille@pbr.aphp.fr