



1- Un dépistage à la carte pour le cancer primitif du foie: le ton est donné !

L'incidence et le mode de présentation de la principale tumeur primitive du foie, le carcinome hépatocellulaire, peuvent varier selon la maladie hépatique causale, son contrôle et la présence de comorbidités associées. Les études issues de collaborations étroites entre différentes cohortes, soutenues par l'Agence Nationale de Recherche sur le Sida et les Hépatites (ANRS), présentées dans la présente Newsletter, confortent cette hypothèse.

Le principe d'un dépistage personnalisé pour ce type de cancer se solidifie, ...

Bonne lecture

Jean-Charles Duclos-Vallée

2- Après le séminaire Bioprinting et Cell Patterning

L'univers de la construction d'organes par bio-ingénierie bouge. Il s'agit probablement d'un domaine où l'évolution est l'une des plus rapides de la science dans le domaine de la Santé. Surtout, les réunions internationales s'enchaînent, regroupant une petite confrérie de fanatiques, chercheurs académiques et développeurs industriels, à la pointe des dernières découvertes. Ces réunions internationales témoignent d'ailleurs d'un nouveau monde d'organisation des échanges, entre les mains non plus de sociétés savantes mais d'organismes privés tels SelectBio dans le domaine des innovations. Plus de comité de sélection grincheux, plus de retard dans l'information mais les résultats immédiats des recherches les plus récentes, du moins celles que les entreprises veulent bien communiquer. Ce séminaire a permis de faire le point sur les nouveaux aspects de la bio-ingénierie de tissus et d'organes et de mieux voir la place des techniques de micropatterning et de bio-impression. Alors qu'on a pensé qu'il était simple de construire des organes par des techniques de décellularisation/recellularisation de scaffolds ou par la bio-impression couches par couches d'organes complexes, la réalité est probablement plus complexe. L'avenir semble reposer sur l'assemblage de composants élémentaires, de briques : réseaux vasculaire, tranches (sheets) de tissus organisés et maturés, sphéroïdes où le micropatterning et la bioimpression prennent toute leur place. Ces organes ne ressembleront probablement plus à ceux que nous avons connus. Fini le foie « figue ». En même temps que la complexité de ces processus s'accroît, la nécessité d'interagir avec les sciences les plus fondamentales est plus évidente. CellSpace accueille ainsi de nouveaux collaborateurs dont les objectifs initiaux n'étaient pas forcément tournés vers la bio-construction (voir dans la même Newsletter le travail de Bruno Le Piouffle et Olivier Français à l'ENS Cachan). La majorité des acteurs de la bioconstruction appartiennent d'ailleurs au domaine de l'ingénierie, des biomatériaux, des mathématiques et de la robotique, ne laissant qu'une petite place aux médecins et aux chercheurs des cellules souches.

Il y a encore de la place pour l'innovation de rupture dans la bioconstruction. Heureusement car cela laisse de la place pour de nouveaux brevets en dehors de ceux qui ont été capitalisés ces dernières années par un petit nombre de structures académiques comme l'université de Wake Forest ou celle du Missouri ou privées comme Organovo. Restons dans la course.

Dominique Franco

3- Microfluidique et Ingénierie tissulaire: vers l'intégration de fonctions électriques

La technologie microfluidique est elle en passe de devenir un outil incontournable pour la médecine, la pharmacologie, la toxicologie?

Depuis la dernière décennie, nous voyons apparaître dans les laboratoires de recherche, des microdispositifs permettant la reconstitution d'assemblages tissulaires complexes. Pour témoins les travaux du groupe de S. Takeuchi à l'Université de Tokyo où sont reconstruits sur une puce microfluidique des fibres cellulaires fonctionnelles (nerveuses, musculaires, pancréatiques,..) qui sont ensuite implantées in vivo (Onoe et al, Nature material 2013). Les fibres (d'une longueur atteignant le mètre) sont générées de manière continue par succession d'injection de couches cellulaires, de couches protéiques de la matrice extra cellulaire et de gel en flots laminaires concentriques, mettant à profit les faibles nombres de Reynolds de l'écoulement à ces échelles micrométriques. De tels outils, parmi d'autres, montrent les prémices d'une révolution pour la médecine régénératrice.

De manière pragmatique, la microfluidique permet également de reproduire sur puce des fonctions physiologiques particulières : le groupe de D.E. Ingber de l'Université d'Harvard reproduit des fonctions pulmonaires dans un dispositif microfluidique (D. Huh et al, Science 2010) tandis qu'un consortium français (ENS Cachan, INTS, Pitié-Salpêtrière) mime la fonction de séquestration de globules rouges parasités dans la rate (Picot et al, American Journal of Hematology 2015). De telles approches, plus ciblées sur le mimétisme d'une fonction cellulaire que sur la reconstruction d'organes, sont particulièrement prometteuses pour la pharmacologie et toxicologie. Elles comptent parmi les outils du futur pour le criblage thérapeutique.

Ces technologies microfluidiques permettent aussi d'envisager l'intégration d'autres fonctions (cette fois non mimétiques de fonctions naturelles) telles que des fonctions électriques, mécaniques ou optiques. Cette instrumentation des puces microfluidiques pour la culture de cellules ou de tissus permet de caractériser et de contrôler l'état des cellules, par une mesure de bio-impédance par exemple, ou par l'application de sollicitations électriques pour perméabiliser ou induire une différenciation cellulaire. Chaque type cellulaire a sa propre signature électrique, ce qui permet de le distinguer et d'effectuer un tri en flux sur puce ou de caractériser l'évolution de sa différenciation, ou encore son évolution vers un type cancéreux.

Parallèlement l'utilisation des bioMEMS (bio-Micro-Electro-Mechanical Systems) ouvre la voie pour concevoir des puces permettant de caractériser mécaniquement les cellules, ou d'appliquer sur ces dernières des sollicitations mécaniques avec une grande résolution spatiale, capable d'induire une différenciation cellulaire localisée (cf Masuda et al, J Biotechnology 2008, sur la différenciation localisée de chondrocytes).

Enfin l'intégration de fonctions optiques, notamment de capteurs d'image dans ces dispositifs microfluidiques, couplée à l'utilisation de traitements d'images permettant d'atteindre des résolutions subcellulaires, sera à terme un atout considérable pour l'ingénierie tissulaire sur puce, puisqu'elle permettra de caractériser en temps réel la culture cellulaire dans un incubateur, sans besoin de microscope optique classique (Zheng et al, PNAS 2011).

L'ensemble de ces nouvelles fonctionnalités issues des progrès récents dans le domaine des micro-nanotechnologies, intégrées sur des supports microfluidiques dédiés à l'ingénierie cellulaire, va permettre d'assister la reconstruction de tissus complexes, de fonctions biomimétiques, pour le bénéfice de la médecine régénérative, de la recherche thérapeutique et du criblage de médicaments.

Bruno Le Pioufle et Olivier Français

4- Recherche translationnelle: succès de pharmacothérapie ciblée par 7-phénylbutyrate chez 4 patients atteints de cholestase fibrogène familiale de type 2 (PFIC2)

La cholestase intrahépatique familiale progressive de type 2 (PFIC2 pour Progressive Familial Intrahepatic Cholestasis type 2) est une maladie autosomique récessive du foie, due à des mutations du gène *ABCB11* codant BSEP (Bile Salt Export Pump), le transporteur canalculaire responsable de la sécrétion biliaire des acides biliaires. C'est une maladie rare dont l'incidence est estimée à environ 1/100000 naissances. Chez les enfants souffrant de PFIC2, le déficit de BSEP entraîne une diminution majeure de la sécrétion biliaire des acides biliaires qui induit une diminution du flux biliaire (cholestase) et une accumulation des acides biliaires dans l'hépatocyte, responsable de lésions fibrosantes et de dysplasie (effet détergent des acides biliaires). L'immunomarquage canalculaire de BSEP est le plus souvent anormal. Les acides biliaires, dont la concentration dans la bile est effondrée, s'accumulent dans le sérum des patients et participent probablement au prurit. Des traitements par l'acide ursodésoxycholique (AUDC) et par la rifampicine permettent parfois d'améliorer la cholestase et de diminuer l'intensité du prurit. Cependant, la moitié des patients sont transplantés avant l'âge adulte du fait de la sévérité de la cholestase, d'une insuffisance hépatique ou d'un carcinome hépatocellulaire. Chez les patients, de nombreuses mutations du gène *ABCB11* ont été identifiées. La corrélation entre le génotype et le phénotype n'est pas encore bien établie, mais il semblerait que les mutations non-sens (ou stop) soient responsables d'une maladie plus sévère, et que les patients avec au moins une mutation faux sens aient une tendance à mieux répondre au traitement par l'AUDC. Des études *in vitro* ont montré que certains mutants faux sens de BSEP sont retenus dans le réticulum endoplasmique où ils sont dégradés par le protéasome et que certaines drogues chaperones pourraient permettre de corriger, au moins partiellement, l'adressage de ces mutants au canalicule. Nous avons étudié *in vitro* l'effet du 4-phénylbutyrate (4PB) sur l'expression canalculaire de certains mutants faux sens de BSEP. Cette drogue aux propriétés chaperones est utilisée, pour ses propriétés hypoammoniémiantes et dans le cadre d'une AMM, chez les patients atteints de déficit du cycle de l'urée.

Des mutations faux sens de BSEP identifiées chez des malades atteints de PFIC2 ont été reproduites par mutagenèse dirigée dans un plasmide (pEGFP-N1) contenant le cDNA de BSEP. Les plasmides mutés ont été transfectés de manière transitoire dans la lignée hépatocellulaire polarisée Can 10 puis les cellules ont été traitées avec le 4-PB et/ou l'AUDC. Après traitement, l'expression de la protéine de fusion BSEP-GFP mutée était étudiée par microscopie à épifluorescence et confocale et le pourcentage de mutants BSEP correctement adressés au canalicule était quantifié. Nous avons observé *in vitro* que le 4-PB ainsi que l'AUDC augmentaient l'expression canalculaire des mutants de BSEP. Cette propriété chaperone de l'AUDC n'était pas décrite dans des cellules hépatiques. Enfin, nous avons observé un effet additif lors de l'association des traitements par AUDC et 4PB.

Sur la base de ces résultats, nous avons traité 4 malades (déjà traités par AUDC), porteurs d'au moins une mutation faux sens étudiée *in vitro*, par le 4-PB. Au cours du traitement, la cholestase clinique (prurit) et biologique diminuait chez tous les malades et les tests hépatiques se normalisaient. La sécrétion biliaire des acides biliaires évaluée après collection de bile par CPRE augmentait chez 2 malades étudiés. Une expression canalculaire de BSEP, absente avant traitement, était détectée chez 2 malades. Ces effets se maintiennent dans le temps chez 3 enfants traités depuis 24 à 48 mois. Ce travail, mis en avant par un éditorial dans le même numéro de février d'*Hepatology*, apporte une preuve de concept de la faisabilité d'une pharmacothérapie ciblée dans la PFIC2 et constitue un exemple de recherche translationnelle aboutie. Dans ce contexte de médecine personnalisée, la recherche de nouvelles drogues, utilisables chez les patients, aux propriétés chaperones, constitue un champ de recherche majeur. En effet, un traitement médical efficace permettant de surseoir à -ou de différer- la transplantation hépatique représenterait une avancée considérable pour les enfants atteints de PFIC2. Des mutations de BSEP étant impliquées dans d'autres pathologies (cholestase récurrente bénigne (BRIC2), cholestase gravidique (ICP2), cholestase médicamenteuse (DIC), lithiase biliaire et cholestase néonatale transitoire (TNC)), les applications potentielles de ce travail s'étendent au-delà de la PFIC2.

Emmanuel Gonzales et Emmanuel Jacquemin

5- Le dépistage du carcinome hépatocellulaire chez les patients cirrhotiques co-infectés par le VIH et le VHC n'est pas efficient !

La prévalence des pathologies hépatiques, de la cirrhose au carcinome hépatocellulaire (CHC) a nettement augmenté ces 15 dernières années chez les patients co-infectés VIH-VHC (virus de l'immunodéficience humain-virus de l'hépatite C) en raison de l'efficacité des traitements anti-viraux combinés ayant permis une amélioration de la survie des patients VIH. Nous avons donc centré notre étude sur l'impact de la co-infection VIH chez des patients ayant une cirrhose post-hépatite C sur le morphotype en imagerie du CHC et sur son pronostic au moment du diagnostic radiologique. Dans ce but, 35 patients cirrhotiques VIH-VHC ont été inclus à partir de cohortes multicentriques prospectives et comparée à un groupe contrôle de 35 patients cirrhotiques mono-infectés par le VHC. Tous les patients inclus étaient surveillés tous les 6 mois par échographie selon les recommandations actuelles du dépistage du CHC. Au moment du diagnostic en imagerie du CHC par scanner ou IRM, la forme infiltrative associée à une thrombose porte tumorale n'a été trouvée que chez les patients co-infectés VIH-VHC et représentait 23% des cas ($p=0,002$). Les autres CHC étaient de type nodulaire avec des nodules de taille similaire entre les deux groupes. Cette forme infiltrative de CHC avec thrombose porte tumorale était responsable d'une survie significativement plus courte chez les patients VIH-VHC que chez les patients VHC (médiane de 17,2 mois vs 54,7 mois, respectivement) ($p=0,004$). Le temps de survie des patients était clairement dépendant du morphotype en imagerie du CHC avec une probabilité de mort à 12 mois de 87% en cas de CHC infiltrant, de 32 % en cas de CHC multinodulaire et de 5% en cas de CHC uninodulaire ($p<0,001$). De plus, la forte corrélation retrouvée entre le taux de CD4 dans les formes infiltrantes et la survie ($r^2=0,92$) démontrait que la maladie était trop avancée au moment du diagnostic pour permettre une tentative de modification du processus fatal. En conclusion, notre étude montre qu'en raison de l'agressivité de la forme infiltrative du CHC chez les patients cirrhotiques co-infectés par le VIH-VHC, une nouvelle politique de dépistage plus précoce et plus efficace par IRM serait souhaitable. Cela permettrait une détection plus précoce du CHC et ainsi d'améliorer l'accès au traitement curatif de ce groupe à risque de patient.

Maïté Lewin

6- La cohorte ANR CO12 CirVir: un héritage de Jean-Claude Trinchet

L'étude ANRS CO12 CirVir, initiée par Jean-Claude Trinchet (Hôpital Jean Verdier AP-HP), financée depuis 2005, a pour objectif de suivre prospectivement une cohorte de patients atteints de cirrhose d'origine virale B et/ou C non compliquée. Les critères d'inclusion étaient l'existence d'une cirrhose, non compliquée et histologiquement prouvée ayant au moins pour origine une infection par le virus de l'hépatite B et/ou C. Les patients sont suivis prospectivement tous les 6 mois. Tous les événements (hépatiques ou extra-hépatiques) sont prospectivement enregistrés, permettant ainsi la détermination de leurs incidences et facteurs prédictifs selon des analyses de risques compétitifs. Enfin, des prélèvements biologiques sont effectués à l'inclusion et tous les 12 mois afin de constituer une sérothèque, une plasmathèque et une DNathèque.

Les inclusions se sont déroulées entre 2006 et 2012 dans 35 centres français. L'étude enregistre 1822 patients dont 1672 analysables (VHC 1323, VHB 318, co-infectés VHB-VHC 31). Après un suivi médian de 55 mois, le nombre important d'événements hépatiques [cancers primitifs du foie (CPF) 196, décompensations hépatiques 203] et extra-hépatiques (infections bactériennes 213, accidents cardio-vasculaires 138, cancers extra-hépatiques 82) permet les conclusions suivantes :

- 1) L'incidence de toutes ces complications est plus importantes en cas de cirrhose virale C du fait d'une plus grande prévalence des co-morbidités à l'inclusion et d'un moins bon contrôle virologique [réponse virale soutenue (RVS): 40% vs. contrôle virologique chez les patients VHB : 93% à la date de point].
- 2) Parmi les 164 décès enregistrés, la moitié est de cause extra-hépatique. L'impact de la survenue d'une première infection bactérienne dans cette population de patients compensés est majeur sur la survie à 5 ans.

3) Chez les patients VHC, l'obtention d'une SVR s'accompagne d'une diminution par un facteur 4 à 6 des complications hépatiques (CHC, décompensation) et extra-hépatiques (infections bactériennes, accidents cardio-vasculaires). Elle se traduit également par une baisse importante de la mortalité globale et spécifique.

La description de ces résultats fait l'objet depuis 2013 de communications régulières aux congrès français (JFHOD, AFEF) et internationaux (ILCA, EASL, AASLD) ainsi que de trois publications (Lewin et al. Radiology 2015, Trinchet et al. Hepatology 2015, Boursier et al. Clin Research Hepatology Gastroenterology 2012). Outre la description de la cohorte, de nombreux projets ancillaires sont en cours sur la biothèque (génétique, bio-marqueurs, virologie...) et dans le cadre de collaborations inter-cohortes.

Cet héritage collectif que Jean-Claude nous laisse témoigne de ses qualités visionnaires à l'heure de la création de cohortes de patients ayant des maladies chroniques du foie s'intensifie et constitue déjà un atout majeur pour la recherche en Hépatologie.

Pierre Nahon

7- SAVE THE DATE: Les journées du Centre Hépatobiliaire les 12 et 13 juin 2015

Journées du Centre Hépatobiliaire
VENDREDI 12 & SAMEDI 13 juin 2015

Chirurgie Hépatologie Infirmières Radiologie

Chirurgie
12 - 13 juin
Organisateurs :
R. Adam, D. Castaing, D. Cherqui,
A. Sa Cunha, E. Vibert

Hépatologie
12 juin
Organisateur :
D. Samuel

Infirmières
12 juin
Organisateurs :
G. Berthelot
E. Pasdeloup

Radiologie
13 juin
Organisateurs :
M.F. Bellin, F. Kunstlinger,
M. Lewin

**Inscription au titre du Développement Professionnel Continu
plus d'infos sur www.journees-CHB.fr**

ORGANISATEUR SCIENTIFIQUE
Centre Hépatobiliaire
Hôpital Paul Brousse
14, avenue Paul Vaillant Couturier
91404, Villejuif Cedex
+ 33 (0)1 45 59 34 11
chb.congres@pbr.aphp.fr
www.chb.aphp.fr

INSCRIPTION
+ 33 (0)1 70 94 65 22
inscription@lepublicsysteme.fr

ORGANISATION
+ 33 (0)1 70 94 65 19
info@journees-chb.fr

CAP 15
13 quai de Grenelle,
Paris 15

SECRETARIAT D'ORGANISATION
 lepublicsystemepco
organisateur professionnel de congrès
38, rue Anatole France
F-92594 Levallois-Perret Cedex

Bien amicalement, l'équipe HEPATINOV

hepatinov@gmail.com

Secrétariat: Laurence Desperies-Baille: 01.45.59.34.33

laurence.desperies-baille@pbr.aphp.fr