

MÉDECINE RÉGÉNÉRATIVE

Des cellules souches comme s'il en pleuvait

Les thérapies de médecine régénérative qui utilisent des cellules souches pluripotentes induites (IPS) sont prometteuses. Mais pour les rendre accessibles, encore faut-il disposer de cellules IPS de qualité et en grand nombre, ce qui n'est pas le cas aujourd'hui. La spin-off Treefrog Therapeutics développe une technologie capable de produire les milliards de ces cellules nécessaires au traitement des malades.

Remplacer des cellules malades par des cellules flambant neuves, telle est la promesse des thérapies cellulaires. Or, pour pouvoir utiliser des cellules saines en quantité suffisante et les administrer à un patient avec un bénéfice thérapeutique, il faut disposer d'une bonne source d'approvisionnement en cellules souches ! Et pas n'importe lesquelles : des cellules souches pluripotentes, c'est-à-dire capables de se transformer en tout type de cellules du corps. En produire en grande quantité en conservant leur qualité n'est pas une mince affaire... Celles qui proviennent d'embryons surnuméraires obtenus par fécondation in vitro soulèvent des questions éthiques, par exemple. Un problème majeur, auquel ne sont pas soumises les cellules souches pluripotentes induites (ou IPS, pour *induced pluripotent stem cells*), générées à partir de n'importe quelle cellule d'un organisme adulte. Cependant, la production actuelle d'IPS est lente et coûteuse, en raison de leur grande fragilité.

Mais cela devrait changer dans un proche avenir : c'est le défi que s'est lancé Treefrog Therapeutics, start-up créée en 2018. Sa technologie brevetée permet en effet de produire



👤 Maxime Feyeux (à gauche) et Erwan Bézard (à droite), deux des cofondateurs de Treefrog Therapeutics

© Inserm/François Guénet

en masse des cellules souches pluripotentes induites, capables de se multiplier et de se différencier dans tous les types de cellules du corps (neurales, cardiaques, sanguines...). C'est justement à l'occasion de travaux sur la différenciation de cellules souches en neurones que la graine entrepreneuriale a germé au sein de l'Institut des maladies neurodégénératives (IMN) et de l'Institut optique d'Aquitaine de Bordeaux – en particulier auprès d'**Erwan Bézard**, directeur de recherche Inserm à l'IMN, et l'un des cofondateurs de Treefrog.

De la neurodégénérescence au renouveau

Biologiste, Erwan Bézard* s'intéresse à la maladie de Parkinson de longue date. En 1998, il boucle sa thèse. « *Je travaillais sur les phénomènes compensatoires dans la maladie, c'est-à-dire que je cherchais à comprendre pourquoi les symptômes se révélaient aussi tard dans la vie des patients, et quels étaient les réseaux neuronaux en cause* », détaille le chercheur. Il réalise ensuite son post-doctorat à l'université de Manchester en Angleterre, où il s'illustre avec des recherches sur les effets secondaires du traitement de référence de la maladie de Parkinson, à savoir la lévodopa. En 2001, il rejoint l'Inserm. Six ans plus tard, il est responsable de l'équipe Physiopathologie des syndromes parkinsoniens. En 2010, le chercheur crée l'Institut des maladies neurodégénératives à Bordeaux, où il s'ingénie à

comprendre les mécanismes qui entraînent la mort des neurones dans la maladie. C'est à l'IMN que les parcours d'Erwan Bézard et de Maxime Feyeux, futur cofondateur et directeur scientifique de Treefrog, se croisent. Ce dernier a réalisé sa thèse sur les cellules IPS à l'**Institut des cellules souches pour le traitement et l'étude des maladies monogéniques (I-STEM)** d'Évry. Lors de son post-doctorat à l'université de Genève, il rencontre Kévin Alessandri, physicien et autre futur co-fondateur de la spin-off. Au fil de leurs travaux, les scientifiques envisagent de développer ensemble la technologie de culture et de différenciation des cellules IPS. À partir de 2015, Maxime et Kévin cherchent un cadre propice à la valorisation de leurs recherches. « *Nous sommes venus à Bordeaux rencontrer Erwan Bézard, ainsi que Laurent Cognet et Pierre Nassoy, chercheurs au CNRS et spécialistes des environnements dans lesquels les cellules se développent. Ils nous ont offert un cadre académique pour poursuivre nos travaux, qui concernaient la production de cellules neurales à partir de cellules IPS, afin de les greffer chez les patients atteints de la maladie*

* voir S&S n° 32, Têtes chercheuses. À l'honneur « Une vie entière dévouée aux malades », p. 20-21

Erwan Bézard : unité 5293 CNRS/Université de Bordeaux

I-stem : unité 861 Inserm/Université d'Évry-Val-d'Essonne/Genopole d'Évry

de Parkinson », explique Maxime Feyeux. « Dès le départ, nous avons déterminé que le projet était tourné vers la valorisation. Nous faisons venir ces deux jeunes scientifiques avec le potentiel de devenir de futurs créateurs d'entreprise », commente Erwan Bézard, qui voit dans ce mode de production cellulaire une véritable rupture technologique.

Un peu de douceur dans le bioréacteur

L'écosystème de valorisation bordelais se met en branle pour financer ce projet à hauteur de 1,5 million d'euros. Cette somme permet de poursuivre le développement de la technologie de production des cellules IPS, à partir de cellules de sang de cordon ombilical – qui ont l'avantage de ne pas avoir été exposées à des facteurs environnementaux stressants. « Avec les méthodes classiques, les cellules souches pluripotentes sont généralement cultivées sur des surfaces en plastique, auxquelles elles adhèrent. Ce mode de culture est très éloigné des conditions physiologiques, et induit une mort cellulaire importante, explique Maxime Feyeux. Dans le corps, ces cellules souches se développent en 3D, dans des microenvironnements qui favorisent les interactions entre les cellules. C'est ce que notre technologie propose : mimer précisément ce qui se passe dans le corps humain. » Les chercheurs ont ainsi mis au point un pro-

cédu qui encapsule les cellules souches dans des microgouttelettes d'alginate, polymère issu d'algues, avant qu'elles intègrent un bioréacteur^{❖❖}, dans lequel elles vont se multiplier et être différenciées. Ces microgouttelettes forment un environnement 3D qui laisse pénétrer les nutriments et, surtout, protège les cellules des chocs dus au système d'agitation du bioréacteur. À partir de 2016, cinq brevets académiques sont venus couronner cette invention. Le projet est remarqué et remporte le grand prix national du concours i-Lab^{❖❖} en 2018.

Soutenus de toutes parts

En novembre de cette même année, Treefrog est créée par Maxime Feyeux, Kévin Alessandri, Erwan Bézard, Laurent Cognet, Pierre Nassoy et Jean-Luc Treillou, un entrepreneur expérimenté dans le domaine des biotechnologies. Pour mettre au point son premier prototype de système d'encapsulation, baptisé C-Stem, l'entreprise lève une somme importante dès le mois de mai 2019. Elle reçoit en effet 7,1 millions d'euros de la part de fonds d'investissement privés mais également publics (région Nouvelle-Aquitaine, Bpifrance, ministère de l'Enseignement supérieur, de la Recherche et de l'Innovation). Deux ans plus tard, Treefrog compte plus d'une soixantaine de salariés et, preuve de la bonne avancée de son développement, annonce en septembre 2021 une seconde levée de fonds de 65 millions d'euros. Cet argent devrait permettre de finaliser les

études précliniques en cours et d'atteindre un premier essai chez l'être humain.

« Notre objectif est de pouvoir lancer un premier essai clinique en 2024 », dans le cadre de la maladie de Parkinson, indique le directeur scientifique. « Nous utiliserons la technologie C-Stem pour produire des boules de neurones à partir de cellules IPS et les injecter dans une partie du cerveau impliquée dans les mouvements involontaires, le striatum. Ces nouveaux neurones produiront alors la dopamine^{❖❖} qui manque aux malades de Parkinson », détaille Erwan Bézard. Si Treefrog vise la production de cellules IPS pour les différencier en neurones, l'entreprise travaille en parallèle au développement de cellules cardiaques, sanguines, immunitaires... et à d'autres applications dont les fondateurs doivent conserver la confidentialité. Mais il est clair qu'avec des cellules IPS produites et différenciées en masse, les applications en thérapies cellulaires sont vertigineuses.

Pascal Nguyen

❖❖ **Bioréacteur.** Appareil qui permet de cultiver des cellules ou tissus en conditions contrôlées

❖❖ **Concours i-Lab.** Concours national ouvert aux projets français de création d'entreprise les plus innovants

❖❖ **Dopamine.** Hormone sécrétée par certains neurones, dits dopaminergiques, impliquée dans le contrôle de la motricité, la maladie de Parkinson ou encore les addictions

⬇️ Coupes d'un cerveau de rat parkinsonien greffé avec des cellules souches encapsulées sur une lame de microscopie



RETOUR SUR...

PEP-Therapy à l'essai

Depuis notre rencontre avec la spin-off PEP-Therapy, quelques mois seulement après sa création en janvier 2014, la société a fait du chemin. Le 3 novembre dernier, elle a lancé son premier essai clinique de phase I pour évaluer l'activité antitumorale de son premier peptide – un polymère d'acides aminés. Nommé PEP-010, il a été testé chez les patients atteints de tumeurs solides récurrentes et/ou métastatiques, notamment dans le cancer du sein et celui de l'ovaire. Cet essai est mené en partenariat avec l'institut Curie à Paris et fait suite à des essais précliniques aux résultats prometteurs sur son innocuité et son efficacité antitumorale.

* voir S&S n° 22, Entreprendre « Des stratégies innovantes contre l'hépatite B et la grippe », p. 40-41