

## Une cornée artificielle

La cornée est la première fenêtre à recevoir la lumière qui nous parvient à travers l'œil mais aussi la première barrière entre l'extérieur et l'intérieur de notre œil. Elle doit donc remplir plusieurs conditions: tout d'abord la transparence pour permettre la vision et aussi protéger l'intérieur de notre œil contre les traumatismes chimiques, environnementaux, et physiques. La cornée est constituée de trois couches cellulaires superposées: la couche externe composée de cellules épithéliales, la couche médiane ou stromale riche en collagène, qui contient les kératocytes, et la couche interne formée de cellules endothéliales. La cornée étant avasculaire, ce sont les cellules endothéliales de la couche interne, communiquant avec l'humeur aqueuse, qui assurent le transport de l'eau et des nutriments et permettent le maintien d'un équilibre hydroélectrolytique à l'intérieur des trois couches cellulaires.

Les études fondamentales et toxicologiques sur la cornée sont principalement conduites sur des modèles animaux, notamment le lapin. Cependant, les réactions cellulaires et cicatricielles des cornées de lapin sont très différentes de celles qui sont observées aussi bien *in vivo* qu'*in vitro* chez l'homme [1]. De plus, l'étude des cornées humaines est limitée par la difficulté de leur obtention, car elles sont principalement utilisées pour les greffes. La description récente, par des équipes américaine et canadiennes, de la construction d'une cornée artificielle *in vitro* pourrait donc représenter un atout majeur pour ces études [2].

Nous avons réussi à agencer, à partir de cellules humaines, les trois couches successives de la cornée tout en préservant la transparence et la résistance, et en conservant les propriétés physiologiques, biochimiques et morphologiques de chacune de

ces couches. Des lignées de cellules humaines immortalisées ont été développées à partir de cellules isolées de chaque couche de la cornée, puis leurs propriétés, notamment électrophysiologiques [3], ont été comparées à celles de cellules fraîchement isolées. Seules les lignées épithéliales, endothéliales et kératocytaires se rapprochant le plus des cellules normales ont été utilisées pour la reconstruction de cornée *in vitro*. La matrice tissulaire utilisée est constituée de collagène et de chondroïtine sulfate. Brièvement, la construction suit les étapes suivantes: une fine couche de cellules endothéliales est d'abord mise en culture, puis un mélange de cellules stromales et de protéines de support est étalé sur cette couche cellulaire, et enfin les cellules épithéliales recouvrent le tout. Lorsque cette dernière couche est confluite, les cellules

sont soumises constamment à une interface air-liquide afin d'imiter *in vitro* l'humidification par les larmes lors des mouvements des paupières. Après quinze jours de culture, cette cornée artificielle a gardé sa propriété de transparence (figure 1). L'examen en microscopie électronique montre que les cellules sont actives sur le plan métabolique, avec de nombreuses mitochondries et un réticulum endoplasmique abondant. Comme dans une cornée humaine normale, la création d'une lésion de la cornée reconstruite induit une réaction cicatricielle avec augmentation de l'expression de certains gènes comme *c-fos* et de ceux codant pour l'IL-1, l'IL-6, le bFGF, le VEGF et le collagène de type I. De même, l'exposition à des agents irritants comme les détergents entraîne une opacification de la cornée reconstruite.

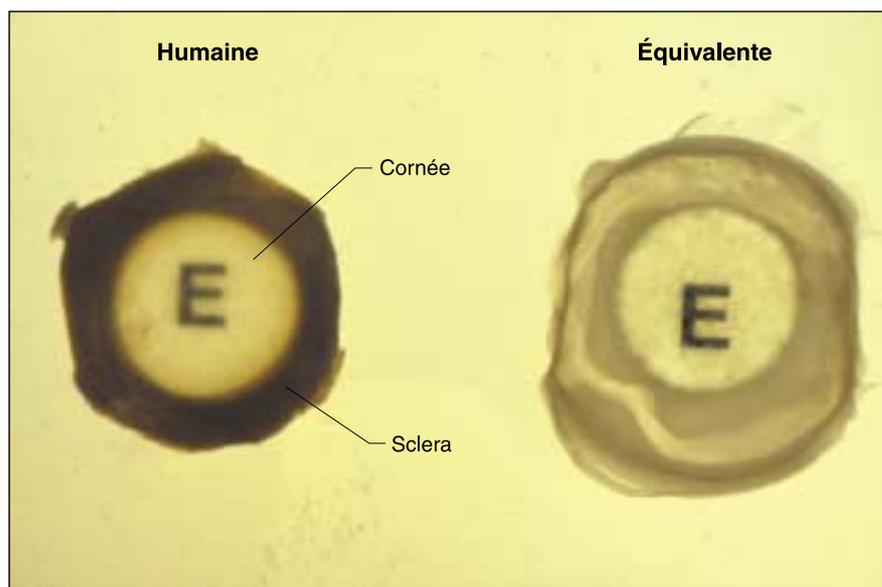


Figure 1. **Équivalent cornéen.** L'équivalent cornéen reconstruit *in vitro* (à droite) présente de nombreuses caractéristiques d'une cornée humaine normale (à gauche), en particulier la transparence comme en témoigne la visibilité de la lettre « E » placée au-dessous de chaque cornée.

Ces résultats montrent donc que l'équivalent cornéen humain présente de nombreuses caractéristiques d'une cornée normale. Si cette cornée artificielle est loin d'être disponible pour des greffes, elle devient un outil très utile pour étudier les effets des produits comme les cosmétiques, les toxiques, les lessives, les savons, et les médicaments avant leur utilisation humaine, et pourrait donc représenter une alternative intéressante à l'expérimentation animale. Elle ouvre de plus la voie à des études fondamentales plus approfondies sur la régénération de la cornée

après une blessure de l'œil. La possibilité de reconstruire des cornées complètes à partir de quelques cellules prélevées chez un patient ne sera peut-être plus un rêve inaccessible...

1. Patel HC, Duca JS, Hopfinger AJ, Glendening CD, Thompson ED. Quantitative component analysis of mixtures for risk assessment: application to eye irritation. *Chem Res Toxicol* 1999; 12: 1050-6.
2. Griffith M, Osborne R, Munger R, et al. Functional human corneal equivalents constructed from cell lines. *Science* 1999; 286: 2169-72.
3. Bockman CS, Griffith M, Watsky MA. Properties of whole-cell ionic currents in cultured human corneal epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998; 39: 1143-51.

#### Charles J. Doillon

*Institut des biomatériaux du Québec. Pavillon Saint-François-d'Assise, Centre hospitalier et universitaire de Québec, Québec G1L 3L5, Canada.*

#### May Griffith

*University of Ottawa Eye Institute and Department of Cellular and Molecular Medicine, University of Ottawa, Ottawa Hospital-General, Campus, Ottawa, Ontario K1H 8L6, Canada.*

## ■■■■ BRÈVES ■■■■

■■■■ **Les puces au secours de la vieillesse.** L'analyse du processus du vieillissement suscite beaucoup d'intérêt (et d'espoir!) et plusieurs données récentes, expérimentales (le clonage de Dolly) ou tirées de l'étude de maladies génétiques humaines (syndrome de Hutchinson Gilford, syndrome de Werner [*m/s* 1999, n°1, p. 131]) suggèrent que le vieillissement peut être induit « prématurément ». Quelle est donc la base génétique de ce processus ? (*m/s* 1999, n°3, p. 392). Grâce aux puces à ADN, le groupe de R. Lerner et P. Schultz du Scripps Research Institute [1] révèle dans *Science* que le vieillissement induit des modifications de l'expression de gènes qui contrôlent la mitose, et notamment la séparation des chromosomes. Cette étude confirme qu'il n'y a pas, dans les fibroblastes cultivés à partir de la peau de sujets âgés, un dérèglement massif de l'expression des gènes, puisque moins de 1% de ceux qui

ont été étudiés (61 sur 6300) ont un niveau d'expression significativement modifié. Un travail récent [2], évoqué dans ces colonnes (*m/s* 1999, n°11, p. 1292), abordait la même question, mais en partant de cellules musculaires quiescentes, alors que R. Lerner et P. Schultz utilisent des fibroblastes de peau de sujets sains d'âge différent et aussi de patients atteints de progeria. Les deux études s'accordent sur le petit nombre de gènes affectés, mais ceux qui sont atteints dans les deux études sont en revanche très différents, comme si les cibles du processus de vieillissement variaient en fonction du type cellulaire. Schématiquement, dans les fibroblastes des sujets âgés (et dans ceux des patients atteints de progeria), deux catégories de gènes sont atteintes : ceux qui codent pour des composants de la matrice extracellulaire (essentielle dans la structure de la peau) (31%), et ceux qui contrôlent le cycle mitotique (25%), que

ce soient la transition G2/M ou la ségrégation des chromosomes. Dans ce dernier groupe, il s'agit d'une diminution d'expression. Le dysfonctionnement de gènes contrôlant les divisions cellulaires pourrait entraîner une instabilité génétique et des aberrations chromosomiques qui expliqueraient certaines pathologies caractéristiques des sujets âgés. Une pléiade d'autres gènes sont aussi concernés, par exemple ceux intervenant dans le métabolisme osseux et articulaire, comme l'ostéoprotégérine, très à la mode (*m/s* 1999 n°8/9 p. 890)... Prudence cependant car cette étude ne concerne qu'un seul type de cellules, les fibroblastes, de plus cultivés *in vitro* pendant plusieurs générations.

[1 Ly DH, et al. *Science* 2000; 287: 2486-92.]

[2 Lee CK, et al. *Science* 1999; 285: 1390-4.]