

Revue / Review

## Les cellules souches de la pulpe dentaire

Emmanuelle Renard<sup>a</sup>, Séréna Lopez-Cazaux<sup>a,b</sup>, Jérome Guicheux<sup>b</sup>, Pierre Weiss<sup>a,b,c,d</sup>,  
Olivier Laboux<sup>a,c,d</sup>, Brigitte Alliot-Licht<sup>a,b,c,\*</sup>

<sup>a</sup> *CHU Nantes, pôle Odontologie, 1, place Alexis-Ricordeau, 44042 Nantes, France*

<sup>b</sup> *Inserm, U791, laboratoire d'ingénierie ostéo-articulaire et dentaire, LIOAD, 1, place Alexis-Ricordeau, 44042 Nantes, France*

<sup>c</sup> *Faculté de chirurgie dentaire, IFR 26, université de Nantes, 1, place Alexis-Ricordeau, 44042 Nantes, France*

<sup>d</sup> *ERT 10-51, 1, place Alexis-Ricordeau, 44042 Nantes, France*

Reçu le 16 mars 2007 ; accept e après révision le 9 juillet 2007

Disponible sur Internet le 13 août 2007

Pr esent e par Jean Rosa

### Résumé

Tout praticien rêve d'obtenir la régénération des organes détruits. Chez l'homme, la régénération de structures complexes est impossible. Néanmoins, le foie ou la moelle osseuse peuvent se régénérer grâce à la présence de cellules souches adultes. Les cellules souches possèdent deux propriétés primordiales : elles assurent leur autorenouvellement et elles ont la capacité de se différencier en plusieurs types cellulaires. à l'aide de marqueurs de surface spécifiques permettant d'identifier les cellules souches de la moelle osseuse, des cellules souches ont été observées dans la pulpe dentaire. L'origine, l'identification et la localisation de ces dernières restent encore mal connues, mais l'espoir que suscite actuellement la recherche sur les cellules souches permet de penser que l'étude des cellules souches d'origine dentaire aboutira peut-être à leur utilisation en thérapeutique. **Pour citer cet article : E. Renard et al., C. R. Biologies 330 (2007).**

  2007 Académie des sciences. Publié par Elsevier Masson SAS. Tous droits r eserv es.

### Abstract

**Stem cells of dental pulp.** Any clinician dreams to obtain the regeneration of the destroyed organ for his patient. In the human being, the regeneration of complex structures is not possible, except the liver and the bone marrow, which can be regenerated because of the presence of adult stem cells in these tissues. The stem cells have two principal properties: they ensure their self-renewal and they have the ability to differentiate into several cellular types. Using specific markers allowing the identification of the stem cells in bone marrow, stem cells were observed in dental pulp tissues. Although the origin, the identification, and the localization of these stem cells of dental pulp remain under consideration, the optimism in research on stem cells permits to believe that the knowledge on dental stem cells will lead to their use in therapeutics. **To cite this article: E. Renard et al., C. R. Biologies 330 (2007).**

  2007 Académie des sciences. Publi e par Elsevier Masson SAS. Tous droits r eserv es.

**Mots-clés :** Régénération ; Cellules souches ; Pulpe dentaire

**Keywords:** Regeneration; Stem cells; Dental pulp

\* Auteure correspondante.

Adresse e-mail : [brigitte.alliot-licht@univ-nantes.fr](mailto:brigitte.alliot-licht@univ-nantes.fr) (B. Alliot-Licht).

## Abridged English version

The study of the processes of cicatrisation in cold-blooded animals, in particular in the Amphibians, permits to understand the phenomena of regeneration of complex structures. Regeneration rather than repair is the process of cicatrisation that clinician dreams to obtain for his patients. Embryonic stem cells during the beginning of embryogenesis are the best candidates for regeneration, since one cell is able to reconstitute completely an entire body. Embryonic stem cells, derived from embryo after the seventh day, cannot reform an entire body, but they have the ability to contribute to the formation of all organs. However, embryonic stem cells raise many problems on ethical and scientific levels. Adult stem cells present in some tissues avoid these difficulties, but they are probably less powerful in their potential of regeneration. In fact, in the warm-blooded animals, including the human being, the regeneration of complex structures is impossible. Nevertheless, some organs, like liver or bone marrow, can be regenerated. This process of regeneration is possible because adult stem cells able to reform all of the components of the damaged organ persist in these tissues. Stem cells have two principal properties: they ensure their self-renewal maintaining, thus their cellular pool; moreover, they have the capacity to differentiate into several cellular types. In addition, specific markers of surface allow the identification of the stem cells. Interestingly, STRO-1, a specific marker of bone marrow stem cells, was observed in dental pulp tissues. With this marker, it is possible to isolate stem cells from dental pulp. These cells form colonies because of their self-renewal property. Moreover, these cells are able to differentiate into various cell types, like odontoblasts, but also osteoblasts, adipocytes, chondrocytes, and neuronal cells. These observations allow us to understand that dental pulp tissues contain adult stem cells able to regenerate the pulp dental complex, but also other tissues. However, the identification of stem cells of dental pulp remains unknown yet. The current statement is that these cells are localised around the blood vessels because they present a colocalisation with pericytes; however, other researchers have isolated and cultured dental pulp stem cells that do not express any markers of the pericytes. However that may be, the optimism in research on stem cells permits to believe that the knowledge on dental stem cells will lead to their use in therapeutics. These works should lead to the use of temporary teeth or third molars as an easily accessible source of adult stem cells for the regeneration of the dental tissues or other organs.

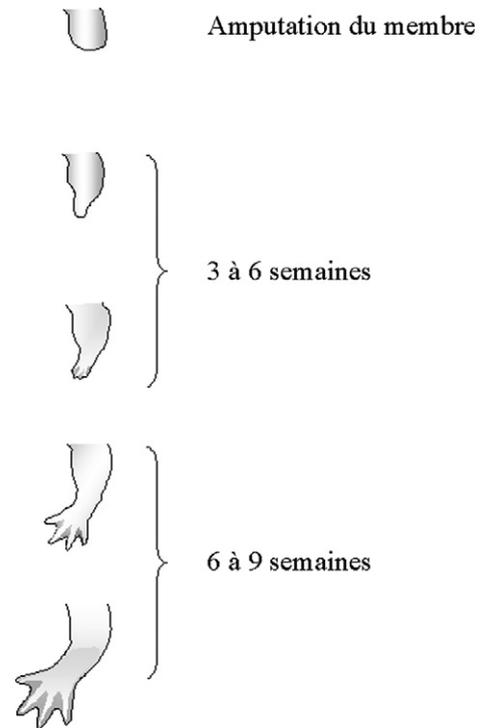


Fig. 1. Schéma montrant les différents stades de la régénération d'un membre chez un amphibien.

## 1. Introduction

Tout clinicien rêve d'obtenir un jour, pour ses patients, une régénération *ad integrum* des organes lésés.

L'étude des mécanismes de cicatrisation dans le monde animal nous permet d'observer, chez les animaux à sang froid, des phénomènes de régénération de structures complexes. Cette régénération existe chez les amphibiens, les reptiles et chez certains poissons. En effet, lorsqu'une salamandre perd un de ses membres, ou même une partie de sa tête ou de son cœur, cet amphibien de la famille des urodèles a la capacité de régénérer complètement l'organe perdu (Fig. 1). À la faveur de ces observations, un très grand nombre de laboratoires de recherche se sont intéressés à l'identification, à l'isolation de ces cellules souches et à leur utilisation en thérapeutique, espérant que ce type de régénération puisse un jour être possible chez l'homme. Devant la difficulté d'utilisation des cellules souches embryonnaires et sachant que les cellules embryonnaires ne pourront pas être des cellules du « soi » sans passer par le clonage, les recherches se sont orientées vers les cellules souches adultes. Actuellement, il a été montré que des cellules souches adultes mésenchymateuses peuvent être multipliées *in vitro* et régénérer, non seulement des tissus de type mésenchymateux, comme le tissu osseux, mais

aussi d'autres tissus, comme le tissu nerveux [1]. Au niveau dentaire, plusieurs équipes ont identifié des cellules souches adultes dans la pulpe dentaire et dans le ligament parodontal, permettant d'espérer pratiquer, un jour, des traitements biologiques et, ainsi, obtenir une régénération plutôt qu'une réparation de l'organe dentaire [2]. De plus, si les cellules souches adultes prouvent leur réelle utilité en thérapeutique régénératrice, il sera peut-être possible d'utiliser les cellules souches des dents temporaires ou des dents de sagesse pour régénérer du tissu osseux, du cartilage ou même du tissu nerveux. De nombreux chercheurs pensent que cet espoir est réellement fondé. En effet, aux États-Unis, des banques de cellules souches de pulpes dentaires existent déjà.

## 2. Mécanismes de régénération chez l'animal

Deux mécanismes de régénération sont possibles ; ils diffèrent par la persistance ou non de cellules souches. Après la perte d'un organe, les cellules souches situées à proximité de la lésion vont se différencier pour reformer tous les tissus nécessaires à la régénération : le tissu musculaire, le tissu osseux, le tissu vasculaire et le tissu nerveux. C'est ce qui se passe chez les hydres et les plathelminthes, mais aussi chez les mammifères, lors de la repousse saisonnière des bois du cerf.

La régénération peut se faire par un autre mécanisme, impliquant la capacité de dé-différenciation de certaines cellules qui siègent à proximité de la lésion. Ces cellules, en se dé-différenciant, prennent des caractéristiques de cellules souches et peuvent alors former un tissu différent de leur tissu d'origine. C'est le mécanisme qui préside à la néoformation des membres chez les amphibiens (Fig. 1).

## 3. Mécanismes de régénération chez l'homme

Il n'est pas possible pour l'homme de régénérer des structures complexes, comme le font les animaux à sang froid. Néanmoins, le foie, par exemple, possède la capacité de se régénérer lorsqu'il subi une lésion importante. De même, la moelle osseuse peut se régénérer après une aplasie dans les traitements des pathologies malignes des lignées sanguines.

D'où provient la capacité de régénération de ces tissus ? Persiste-t-il des cellules souches capables de différenciation et/ou possédons-nous des cellules capables de se dédifférencier et de se redifférencier, comme dans le modèle des salamandres ?

## 4. Les cellules souches embryonnaires

Les cellules embryonnaires humaines ont la capacité de s'autorenouveler et de se différencier, pour former tous les tissus qui constitueront l'organisme. Les cellules du blastocyste, jusqu'au septième jour de la vie embryonnaire, sont totipotentes. Après ce stade, elles perdent cette capacité de constituer un organisme entier. Néanmoins, les cellules souches embryonnaires, appelées alors « cellules souches embryonnaires germinales », conservent un potentiel de différenciation, qui leur permet de former tous les tissus de l'organisme, y compris ceux de la lignée germinale. Elles sont dites « pluripotentes » [3] (Figs. 2 et 3).

Ces cellules, prélevées sur les embryons humains issus de la fécondation *in vitro* ou par clonage, pourraient servir à l'avenir en thérapeutique pour régénérer des structures perdues après des traumatismes ou des cancers. Néanmoins, plusieurs obstacles se dressent aujourd'hui devant cette utilisation. En France, la législation

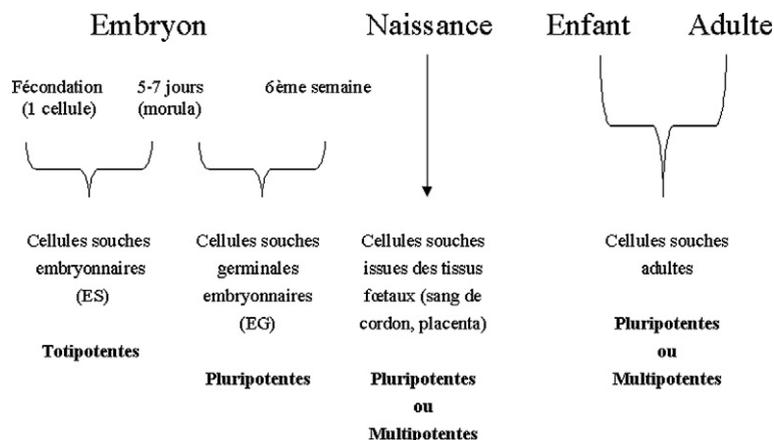


Fig. 2. Les différents types de cellules souches.

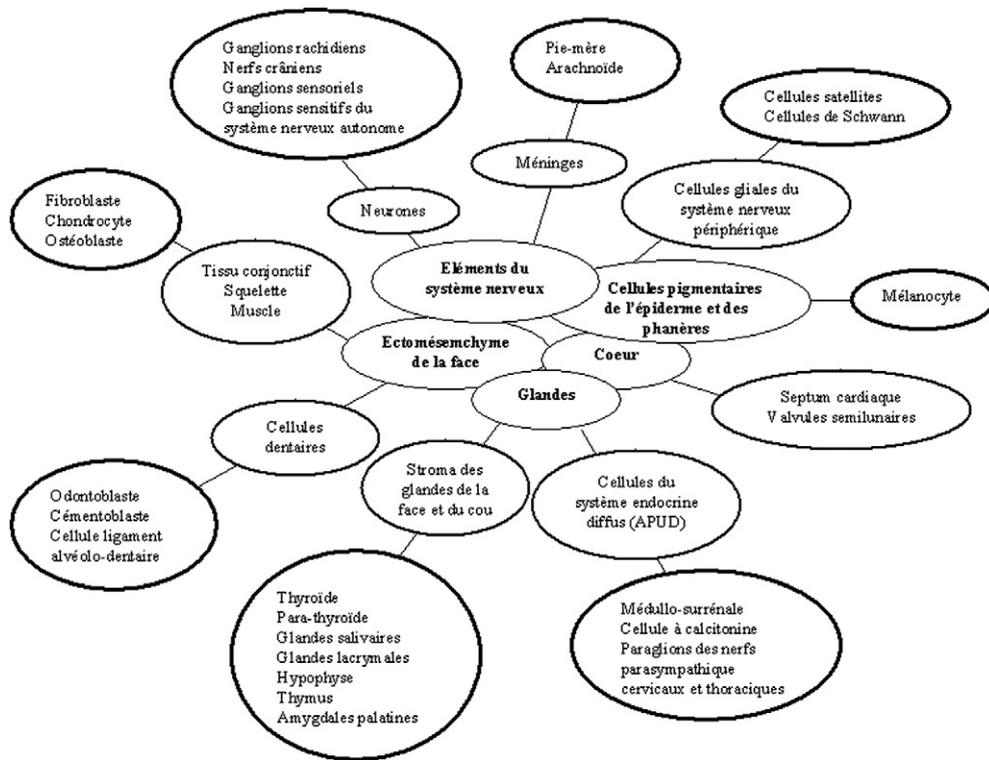


Fig. 3. Exemple de cellules souches embryonnaires pluripotentes : schéma récapitulatif résumant la capacité de différenciation des cellules des crêtes neurales.

et les lois bioéthiques relatives à la recherche sur l'embryon humain limitent considérablement la recherche sur ces cellules. Dans les pays anglo-saxons, notamment en Angleterre, le clonage de cellules humaines pour obtenir des cellules embryonnaires est admis, mais dans des conditions extrêmement contrôlées [4]. Le second problème concerne le risque de formation de tumeurs cancéreuses. Enfin, les risques de rejet des cellules par l'hôte sont importants. Ils sont de même nature que les réactions du receveur vis-à-vis du greffon (les cellules souches) [5].

C'est pour toutes ces raisons que les travaux de recherche se sont orientés vers l'étude des cellules souches adultes.

## 5. Les cellules souches adultes

Les cellules souches embryonnaires, au tout début de l'embryogenèse, sont les meilleures candidates pour la régénération, puisqu'elles sont capables de former le corps entier. Cependant, elles soulèvent de nombreux problèmes sur le plan éthique et scientifique. Les cellules souches adultes, présentes dans l'organisme, permettent d'éviter ces difficultés, mais sont probablement

moins performantes dans leur potentiel de régénération.

De nombreux tissus adultes contiennent des cellules souches capables d'assurer le renouvellement cellulaire. Ces cellules s'autorépliquent, permettant la conservation du *pool* cellulaire, et se différencient pour régénérer les tissus endommagés ou détruits par un traumatisme, une maladie, ou par le vieillissement. Presque tous les tissus de l'organisme sont concernés [6,7]. Le tissu dont on connaît le mieux le potentiel de régénération est probablement la moelle osseuse.

Les cellules souches de la moelle osseuse sont composées de deux types cellulaires :

- les cellules hématopoïétiques, qui donneront toutes les cellules de la lignée sanguine (les polynucléaires, les lymphocytes, les macrophages, les cellules dendritiques, les globules rouges et les plaquettes) ;
- les cellules mésenchymateuses (stromales), qui se situent dans le tissu de soutien des cellules hématopoïétiques. Ces cellules souches ont la capacité de se différencier et de former différents tissus de l'organisme, dont le tissu osseux, le tissu cartilagineux et le tissu graisseux [5,8].

L'étude des cellules souches de la moelle osseuse se fait par l'analyse, à l'aide d'anticorps, de marqueurs de surface. Ces marqueurs de surface sont hautement spécifiques de l'état de différenciation des cellules. On peut prendre pour exemple les marqueurs présents à la surface d'une cellule souche au cours de son processus de différenciation ostéoblastique. À l'aide d'anticorps spécifiques de protéines présentes sur les cellules non différenciées ou au tout début de leur différenciation ostéoblastique (par exemple STRO-1, CD31...), il est possible d'isoler les cellules souches mésenchymateuses de la moelle osseuse [9]. Ces cellules sont alors mises en culture, une ou deux par boîte (dilution limite) et, grâce à leur capacité d'autorenouvellement, elles forment des colonies de cellules identiques. Placées dans un milieu inducteur spécifique, ces cellules peuvent se différencier en un type cellulaire choisi. C'est pour ces capacités de différenciation en différents types de tissus que les cellules souches adultes sont dites « pluri- ou multipotentes » (Fig. 2).

## 6. Existe-t-il des cellules souches dans la pulpe dentaire ?

Les odontoblastes sont les cellules hautement différenciées responsables de la formation de la dentine. Les odontoblastes sont des cellules post-mitotiques, et cela implique qu'elles ne peuvent jamais s'autorenouveler par divisions cellulaires. Lors d'une agression dentino-pulpaire provoquant la dégénérescence des odontoblastes, les cellules de Höhl (situées dans la couche sous-odontoblastique) peuvent se différencier en odontoblastes, pour former de la dentine réactionnelle. Cependant, si l'agression est trop importante, lors d'une effraction pulpaire associée par exemple à un coiffage pulpaire, les cellules de Höhl disparaissent [10]. Dans ce cas, une première phase de néoangiogenèse induite par des facteurs de croissance (FGF-2 et VEGF) sécrétés par les fibroblastes pulpaires semble être une étape indispensable avant la sécrétion de dentine réparatrice [11]. Cette dentine réparatrice est sécrétée par des *odontoblast-like* issus de la différenciation des cellules progénitrices/cellules souches pulpaires [10,12–14]. Ce mécanisme de réparation pulpaire suggère donc qu'il existe des précurseurs/cellules souches dans la pulpe dentaire.

Afin de comprendre les mécanismes impliqués dans la formation de la dentine de réparation et d'identifier les précurseurs/cellules souches aptes à se différencier en *odontoblast-like*, la culture de cellules de la pulpe dentaire a largement été développée. En culture, les cellules de pulpe dentaire, obtenues par la tech-

nique d'explant ou par digestion enzymatique, acquièrent une morphologie qui s'apparente à celle des odontoblastes [15,16]. De plus, les protéines sécrétées sont les mêmes que celles qui constituent la matrice dentinaire : la sialoprotéine dentinaire (DSP), la phosphoprotéine dentinaire (DPP) et la protéine de la matrice dentinaire (DMP1) [17–20]. Enfin, ces cellules expriment une enzyme impliquée dans le processus de minéralisation, la phosphatase alcaline, et sont capables d'induire une minéralisation similaire à celle observée dans la dentine [17]. Lorsque des cellules de pulpe dentaire cultivées pendant 15 jours sont transplantées en sous-cutané chez des animaux immunodéprimés, un complexe dentino-pulpaire se développe [18], confirmant la présence des précurseurs odontoblastiques dans les cultures de cellules de la pulpe dentaire. Ces études montrent la capacité des cellules de la pulpe dentaire à se différencier et former de nouveaux odontoblastes, qui vont sécréter une matrice dentinaire *in vitro* et *in vivo*.

## 7. Identification et localisation des cellules souches dans les tissus dentaires

L'identification, dans la pulpe dentaire, de marqueurs spécifiques des cellules souches confirme les hypothèses émises à partir des observations cliniques et histologiques. À l'aide d'anticorps monoclonaux, la présence de marqueurs spécifiques, tels que STRO-1 (marqueur des cellules souches de la moelle osseuse), dans la pulpe dentaire a été démontrée à la surface d'environ 6% des cellules de la pulpe dentaire en culture [21], sur des cellules situées à proximité des vaisseaux sanguins et au niveau des périneurions sur des coupes de tissus pulpaires humains [21].

À la périphérie des vaisseaux sanguins, il existe des cellules appelées myofibroblastes ou péricytes ou cellules de Rouget. Ces cellules répondent aux propriétés des cellules souches : autorenouvellement et différenciation [22,23]. Elles sont caractérisées par des éléments dans leur cytosquelette, tels que l'alpha actine du muscle lisse ( $\alpha$ -SMA), et des marqueurs spécifiques, tels que CD146 et 3G5, que l'on retrouve dans les cultures de cellules de pulpe dentaire [19,21,24]. Une colocalisation du marqueur spécifique STRO-1 et de CD146 dans le tissu pulpaire fait suspecter fortement l'analogie entre les cellules souches pulpaires et les péricytes, et permettent de conclure que la niche de ces cellules souches est paravasculaire [21].

D'autres études consistent à isoler une population cellulaire dite *side population*, ou cellules SP, à l'aide d'un colorant fluorescent Hoechst 33342 lié à l'ADN [25]. Ces cellules ont été isolées à partir des

nombreux tissus contenant des cellules souches mésenchymateuses chez les mammifères [26]. Cette population, qui possède un grand potentiel d'autorenouvellement, a été caractérisée par de très nombreux marqueurs (récepteurs de la famille des SLAM, CD150, CD244, CD48), mais ne présente pas les marqueurs des péricytes (CD146 et  $\alpha$ -SMA) [25].

L'ensemble de ces travaux confirme la présence de cellules souches adultes dans la pulpe dentaire [27]. L'hybridation *in situ* et la microscopie électronique ont permis de localiser certains marqueurs associés aux cellules SP (CD31 et Bcrp1) dans la région périvasculaire de la pulpe dentaire [25]. Cependant, l'absence des marqueurs des péricytes sur les cellules SP suggère que la population de cellules souche de la pulpe dentaire isolées par Iohara [25] ne seraient pas les péricytes. Par ailleurs, cette population SP pourrait constituer une niche secondaire de cellules progénitrices [27].

## 8. Capacités de différenciation des cellules de la pulpe dentaire

Un nombre grandissant de travaux récents montre que, lorsqu'elles sont placées dans des milieux spécifiques, les cellules souches de la pulpe dentaire peuvent se différencier en d'autres types cellulaires que les odontoblastes et donc possèdent, outre leur capacité d'autorenouvellement, la capacité d'acquérir d'autres voies de différenciation.

Cette différenciation peut être ostéoblastique : les cellules pulpaires (SP ou STRO-1) mises en culture dans des milieux inducteurs spécifiques de la différenciation ostéoblastique, notamment les facteurs de croissance de la famille des BMP (protéines de la morphogénèse osseuse), ont la capacité de se différencier en ostéoblastes [25]. En 2004, Mina et Braut ont observé la capacité de différenciation des cellules de la pulpe dentaire d'une souris transgénique. Ils ont pu démontrer clairement que la pulpe dentaire contient des progéniteurs d'odontoblastes, mais aussi d'ostéoblastes [28]. Les cellules pulpaires seraient une source potentielle pour la réparation osseuse car, après un temps de culture ostéoinductive, ces cellules transplantées *in vivo* ont la capacité de se former du tissu osseux [29].

La différenciation peut être neuronale : des cellules de pulpe de dents temporaires transplantées dans le cerveau d'une souris immunodéprimée se sont différenciées et ont exprimé à leur surface certains marqueurs spécifiques des cellules neuronales [30]. Ces travaux ont été confirmés par la capacité de différenciation neurogénique des cellules SP de la pulpe dentaire [25].

La différenciation peut aussi être adipogénique : il a été montré l'agglutination de gouttelettes lipidiques après cinq semaines de culture des cellules souches pulpaires dans un milieu de culture contenant un cocktail adipogénique [31]. La capacité de différenciation adipocytaire est confirmée par la présence de PPAR $\gamma$ 2 (*peroxysome proliferator-activated receptor*  $\gamma$ 2) et de lipoprotéine lipase (LPL) [31]. De même, les cellules SP de la pulpe dentaire présentent une capacité de différenciation adipogénique [25].

Il peut s'agir enfin de différenciation chondrogénique : la culture de cellules de pulpe dentaire dans un milieu contenant de l'acide ascorbique-2 phosphate et du TGF- $\beta$ , avec ou sans dexaméthasone, met en évidence la présence de glycosaminoglycanes sulfatés présents en grande quantité dans le cartilage (aggrecan) et du collagène II, impliquant la différenciation en chondrocytes des cellules de la pulpe dentaire [32]. Les travaux de Iohara et al., en 2006 [25], ont aussi montré la capacité de différenciation chondrogénique des cellules SP de la pulpe.

L'ensemble de ces résultats démontre, de façon formelle, la présence de cellules souches dans la pulpe dentaire. Ces cellules peuvent être isolées à l'aide de différents marqueurs de surface, elles peuvent être amplifiées en culture et induites, soit en odontoblastes, soit en d'autres types cellulaires.

À la suite de la découverte des cellules souches dans la pulpe dentaire, Seo et al. (2004) ont mis en évidence la présence de cellules souches dans le desmodonte [13]. Ces cellules peuvent, si elles sont transplantées *in vivo*, produire un nouveau ciment et une nouvelle structure ligamentaire. Les perspectives de l'utilisation de ces cellules du ligament dans la régénération parodontale après une atteinte de l'os alvéolaire et des structures du parodonte sont fortement envisagées aujourd'hui.

## 9. Utilisation des cellules souches d'origine dentaire

Le très grand nombre d'articles publiés au cours des années 2006 et 2007 témoignent de l'intérêt porté aux cellules souches issues des dents et à leur utilisation potentielle en odontologie [2,4,7,15,33–40]. Différentes pistes d'applications cliniques sont à ce jour évoquées : la régénération pulpaire, l'endodontie et, ce qui est plus ambitieux, la régénération complète de l'organe dentaire.

De plus en plus d'équipes de recherche s'intéressent à l'utilisation des cellules souches pulpaires pour régénérer le complexe pulpo-dentinaire. Lors d'une atteinte carieuse ou traumatique atteignant la pulpe dentaire, les

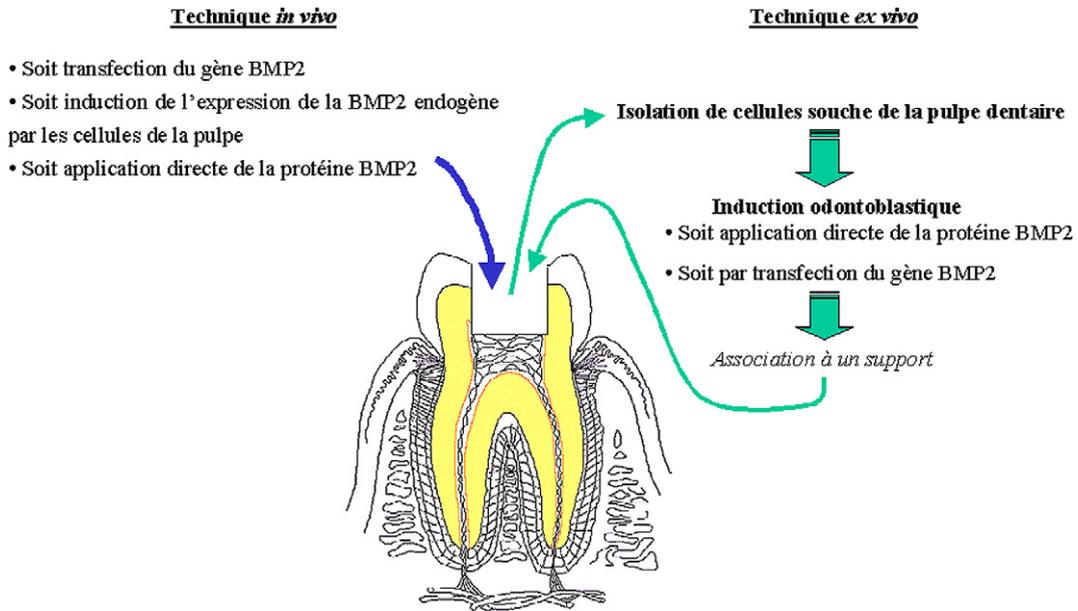


Fig. 4. Application clinique in vivo et ex-vivo du potentiel de régénération des cellules souches de la pulpe dentaire.

cellules souches de la pulpe seraient induites pour permettre leur différenciation odontoblastique et la création d'une nouvelle structure dentino-pulpaire comprenant de la dentine et de la pulpe vascularisée et innervée [3, 41–43]. Pour induire la différenciation des cellules pulpaires en odontoblastes, un facteur de croissance, la BMP2 (*Bone Morphogenetic Protein 2*) a été utilisé, soit directement, soit par thérapie génique.

Il existe deux méthodes principales pour induire la formation d'un complexe pulpo dentinaire : les méthodes in vivo et ex vivo (Fig. 4).

Dans la méthode in vivo, le potentiel de cicatrisation de la pulpe dentaire est induit par l'application directe sur la pulpe lésée, soit de la protéine BMP2, soit du gène de la BMP2, provoquant la production de dentine. Il est aussi possible de faire produire par les cellules pulpaires la BMP2 endogène [25,27,44].

Dans la technique ex vivo, les cellules souches de la pulpe dentaire sont tout d'abord isolées, puis induites en différenciation odontoblastique, soit directement par la BMP2, soit par transfection du gène de la BMP2. Le tout est ensuite associé à un support et réintroduit au niveau de la pulpe exposée [25,45].

Certains auteurs [46] ont mis en évidence l'intérêt de l'utilisation d'autres facteurs de croissance afin d'induire la formation de dentine réparatrice ou la minéralisation totale de la pulpe. Ces facteurs de croissance peuvent être le TGF $\beta$  (*Transforming Growth Factor*), l'IGF (*Insulin Growth Factor*) ou la protéine BSP (*Bone Sialo Protein*). Ils provoquent le recrutement de cellules

souches, lorsqu'ils sont placés au contact de la pulpe exposée. Une fois recrutées, les cellules entrent dans le stade de différenciation, et produisent alors une matrice qui minéralise ultérieurement. Actuellement, sont menées des recherches sur la capacité de régénération induite par l'amélogénine sur un clone de cellules souche issues de pulpe dentaire de souris transgéniques [4].

Une autre utilisation des cellules souches évoquée en pratique clinique dentaire est la régénération complète de l'organe dentaire, avec son ligament alvéolodentaire. Chez le rat, Duailibi et al. (2004) ont montré que les cellules du germe dentaire sont capables, en culture, de se réorganiser et de former une « mini-dent » [47]. Dans cette étude, l'objectif est de développer des rudiments de germes dentaires qui, une fois transplantés dans l'os alvéolaire, pourraient entamer un processus de développement et d'éruption pour former une dent. L'équipe de Pamela Robey propose d'appliquer les techniques de développement des greffes osseuses vascularisées, pour créer une dent viable. Cela suppose d'utiliser un moule de la couronne composé d'émail et rempli de cellules souches de pulpe dentaire et de HA/TCP (mélange d'hydroxyapatite et de phosphate tricalcique); le tout est inséré dans une zone très vascularisée, par exemple un site musculaire. Une fois la croissance terminée, la structure dentino-pulpaire peut être transférée dans la cavité buccale. Cette auteure propose d'utiliser des cellules du ligament alvéolodentaire pour reformer un ciment et un nouveau ligament [48]. À l'heure actuelle, il est prématuré de penser proposer à nos patients la ré-

génération de leur dents absentes ; néanmoins, tous les espoirs sont permis : Tim Mitsiadis en 2003 [49] n'a-t-il pas déjà créé une chimère de poule avec des bourgeons dentaires ?

D'un point de vue plus général, un nombre croissant de laboratoires travaille sur l'utilisation possible de la pulpe dentaire ou du ligament comme source de cellules souches adultes pour régénérer du tissu osseux, du cartilage, ou même du tissu nerveux. Au Texas, par exemple, une société a ouvert une « banque » de cellules souches provenant de la pulpe de dents temporaires, dans l'espoir qu'elles puissent servir un jour au traitement de maladies ou d'atteintes paralysantes de la moelle épinière. Néanmoins, il reste très prématuré d'espérer utiliser les cellules souches d'origine dentaire pour la thérapeutique des troubles neurologiques. Ces concepts, il y a peu de temps surréalistes, sont aujourd'hui de plus en plus pris au sérieux. Cela sera sûrement possible un jour ; la principale question est de savoir quand cela sera réalisable sans danger pour les sites d'implantation, sans risque de constitution d'une structure aberrante et de développement malin.

## 10. Conclusion

L'identification des cellules souches constitue une innovation majeure de la recherche en biologie. On en a pour preuve le nombre grandissant d'articles qui traitent des avancées de la recherche dans ce domaine depuis 2003. Il est fort probable, aujourd'hui, que nous soyons à l'aube de l'utilisation en clinique des cellules souches, grâce aux techniques d'ingénierie tissulaire. Cette technique nécessite un support approprié, qui permet l'induction des cellules souches dans la voie de différenciation choisie sous l'effet de facteurs d'induction adéquats.

La découverte de cellules souches dans la pulpe dentaire a permis de mieux comprendre la régénération dentinaire après coiffage pulpaire. Mais, de façon plus surprenante, il a été montré que, placées dans un milieu adéquat, les cellules souches pulpaires sont capables de se différencier en chondrocytes, adipocytes, ostéoblastes, cellules nerveuses et pourraient donc être utilisées dans de nombreux domaines qui dépassent le cadre de la dentisterie. Enfin, l'ingénierie tissulaire ouvre des perspectives sur la régénération complète de l'organe dentaire. Cependant, de nombreux travaux restent à réaliser avant de passer du rêve à la réalité.

Le projet présente un tel enjeu que certains chercheurs, et non des moindres, ont déjà conservé les dents temporaires de leurs enfants à des fins d'utilisation future !

## Références

- [1] M.F. Pittenger, A.M. Mackay, S.C. Beck, R.K. Jaiswal, R. Douglas, J.D. Mosca, M.A. Moorman, D.W. Simonetti, S. Craig, D.R. Marshak, Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells, *Science* 284 (1999) 143–147.
- [2] A.J. Sloan, A.J. Smith, Stem cells and the dental pulp: potential roles in dentine regeneration and repair, *Oral Dis.* 13 (2007) 151–157.
- [3] P.H. Krebsbach, P.G. Robey, Dental and skeletal stem cells: potential cellular therapeutics for craniofacial regeneration, *J. Dent. Educ.* 66 (2002) 766–773.
- [4] S. Lacerda-Pinheiro, N. Jegat, D. Septier, F. Priam, M. Bonnefoix, J. Bitard, O. Kellermann, K. Tompkins, A. Veis, M. Goldberg, A. Poliard, Early in vivo and in vitro effects of amelogenin gene splice products on pulp cells, *Eur. J. Oral. Sci.* 114 (Suppl. 1) (2006) 232–238; discussion 254–256, 381–382.
- [5] D. Zipori, Mesenchymal stem cells: harnessing cell plasticity to tissue and organ repair, *Blood Cells Mol. Dis.* 33 (2004) 211–215.
- [6] F.P. Barry, Biology and clinical applications of mesenchymal stem cells, *Birth Defects Res. C Embryo Today* 69 (2003) 250–256.
- [7] O. Trubiani, G. Orsini, S. Caputi, A. Piatelli, Adult mesenchymal stem cells in dental research: a new approach for tissue engineering, *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* 19 (2006) 451–460.
- [8] P. Bianco, M. Riminucci, S. Gronthos, P.G. Robey, Bone marrow stromal stem cells: nature, biology, and potential applications, *Stem Cells* 19 (2001) 180–192.
- [9] S. Gronthos, A.C. Zannettino, S.E. Graves, S. Ohta, S.J. Hay, P.J. Simmons, Differential cell surface expression of the STRO-1 and alkaline phosphatase antigens on discrete developmental stages in primary cultures of human bone cells, *J. Bone Miner. Res.* 14 (1999) 47–56.
- [10] D. Tziafas, A.J. Smith, H. Lesot, Designing new treatment strategies in vital pulp therapy, *J. Dent.* 28 (2000) 77–92.
- [11] L. Tran-Hung, S. Mathieu, I. About, Role of human pulp fibroblasts in angiogenesis, *J. Dent. Res.* 85 (2006) 819–823.
- [12] T.A. Mitsiadis, C. Rahiotis, Parallels between tooth development and repair: conserved molecular mechanisms following carious and dental injury, *J. Dent. Res.* 83 (2004) 896–902.
- [13] B.M. Seo, M. Miura, S. Gronthos, P.M. Bartold, S. Batouli, J. Brahimi, M. Young, P.G. Robey, C.Y. Wang, S. Shi, Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament, *Lancet* 364 (2004) 149–155.
- [14] D. Tziafas, G. Belibasakis, A. Veis, S. Papadimitriou, Dentine regeneration in vital pulp therapy: design principles, *Adv. Dent. Res.* 15 (2001) 96–100.
- [15] G.T. Huang, K. Shagramanova, S.W. Chan, Formation of odontoblast-like cells from cultured human dental pulp cells on dentin in vitro, *J. Endod.* 32 (2006) 1066–1073.
- [16] G.T. Huang, W. Sonoyama, J. Chen, S.H. Park, In vitro characterization of human dental pulp cells: various isolation methods and culturing environments, *Cell Tissue Res.* 324 (2006) 225–236.
- [17] M.L. Couble, J.C. Farges, F. Bleicher, B. Perrat-Mabillon, M. Boudeulle, H. Magloire, Odontoblast differentiation of human dental pulp cells in explant cultures, *Calcif. Tissue Int.* 66 (2000) 129–138.

- [18] S. Gronthos, M. Mankani, J. Brahimi, P.G. Robey, S. Shi, Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo, *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 97 (2000) 13625–13630.
- [19] B. Alliot-Licht, D. Hurtrel, M. Grégoire, Characterization of alpha-smooth muscle actin positive cells in mineralized human dental pulp cultures, *Arch. Oral Biol.* 46 (2001) 221–228.
- [20] S. Lopez-Cazaux, G. Bluteau, D. Magne, B. Lieubeau, J. Guicheux, B. Alliot-Licht, Culture medium modulates the behaviour of human dental pulp-derived cells: technical note, *Eur. Cell Mater.* 11 (2006) 35–42; discussion 42.
- [21] S. Shi, S. Gronthos, Perivascular niche of postnatal mesenchymal stem cells in human bone marrow and dental pulp, *J. Bone Miner. Res.* 18 (2003) 696–704.
- [22] M.J. Doherty, B.A. Ashton, S. Walsh, J.N. Beresford, M.E. Grant, A.E. Canfield, Vascular pericytes express osteogenic potential in vitro and in vivo, *J. Bone Miner. Res.* 13 (1998) 828–838.
- [23] C. Farrington-Rock, N.J. Crofts, M.J. Doherty, B.A. Ashton, C. Griffin-Jones, A.E. Canfield, Chondrogenic and adipogenic potential of microvascular pericytes, *Circulation* 110 (2004) 2226–2232.
- [24] B. Alliot-Licht, G. Bluteau, D. Magne, S. Lopez-Cazaux, B. Lieubeau, G. Daculsi, J. Guicheux, Dexamethasone stimulates differentiation of odontoblast-like cells in human dental pulp cultures, *Cell Tissue Res.* 321 (2005) 391–400.
- [25] K. Iohara, L. Zheng, M. Ito, A. Tomokiyo, K. Matsushita, M. Nakashima, Side population cells isolated from porcine dental pulp tissue with self-renewal and multipotency for dentinogenesis, chondrogenesis, adipogenesis, and neurogenesis, *Stem Cells* 24 (2006) 2493–2503.
- [26] A. Asakura, M.A. Rudnicki, Side population cells from diverse adult tissues are capable of in vitro hematopoietic differentiation, *Exp. Hematol.* 30 (2002) 1339–1345.
- [27] M. Nakashima, K. Iohara, L. Zheng, Gene therapy for dentin regeneration with bone morphogenetic proteins, *Curr. Gene Ther.* 6 (2006) 551–560.
- [28] M. Mina, A. Braut, New insight into progenitor/stem cells in dental pulp using Col1a1-GFP transgenes, *Cells Tissues Organs* 176 (2004) 120–133.
- [29] G. Papaccio, A. Graziano, R. d'Aquino, M.F. Graziano, G. Pirozzi, D. Menditti, A. De Rosa, F. Carinci, G. Laino, Long-term cryopreservation of dental pulp stem cells (SBP-DPSCs) and their differentiated osteoblasts: a cell source for tissue repair, *J. Cell. Physiol.* 208 (2006) 319–325.
- [30] M. Miura, S. Gronthos, M. Zhao, B. Lu, L.W. Fisher, P.G. Robey, S. Shi, SHED: Stem cells from human exfoliated deciduous teeth, *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 100 (2003) 5807–5812.
- [31] S. Gronthos, J. Brahimi, W. Li, L.W. Fisher, N. Cherman, A. Boyde, P. DenBesten, P.G. Robey, S. Shi, Stem cell properties of human dental pulp stem cells, *J. Dent. Res.* 81 (2002) 531–535.
- [32] K. Yamashita, J. Dennis, D.P. Lennon, H. Morimoto, S. Kitamura, I.A. Caplan, Dental pulp cells with multi-potential for differentiation to odontoblasts and chondroblasts, *J. Hard Tissue Biol.* 12 (2003) 49–55.
- [33] W. Zhang, X. Frank Walboomers, T.H. van Kuppevelt, W.F. Daamen, Z. Bian, J.A. Jansen, The performance of human dental pulp stem cells on different three-dimensional scaffold materials, *Biomaterials* 27 (2006) 5658–5668.
- [34] W. Zhang, X.F. Walboomers, S. Shi, M. Fan, J.A. Jansen, Multilineage differentiation potential of stem cells derived from human dental pulp after cryopreservation, *Tissue Eng.* 12 (10) (2006) 2813–2823.
- [35] J. Yu, Z. Deng, J. Shi, H. Zhai, X. Nie, H. Zhuang, Y. Li, Y. Jin, Differentiation of dental pulp stem cells into regular-shaped dentin-pulp complex induced by tooth germ cell conditioned medium, *Tissue Eng.* 12 (11) (2006) 3097–3105.
- [36] O. Tecles, P. Laurent, S. Zygouritsas, A.S. Burger, J. Camps, J. Dejoui, I. About, Activation of human dental pulp progenitor/stem cells in response to odontoblast injury, *Arch. Oral Biol.* 50 (2005) 103–108.
- [37] A. Stokowski, S. Shi, T. Sun, P.M. Bartold, S.A. Koblar, S. Gronthos, EphB/ephrin-B interaction mediates adult stem cell attachment, spreading, and migration: implications for dental tissue repair, *Stem Cells* 25 (2007) 156–164.
- [38] W. Sonoyama, Y. Liu, D. Fang, T. Yamaza, B.M. Seo, C. Zhang, H. Liu, S. Gronthos, C.Y. Wang, S. Shi, S. Wang, Mesenchymal stem cell-mediated functional tooth regeneration in Swine, *PLoS ONE* 1 (2006) e79.
- [39] H. Liu, S. Gronthos, S. Shi, Dental pulp stem cells, *Methods Enzymol.* 419 (2006) 99–113.
- [40] L. Casagrande, L.G. Mattuella, F.B. de Araujo, J. Eduardo, Stem cells in dental practice: perspectives in conservative pulp therapies, *J. Clin. Pediatr. Dent.* 31 (2006) 25–27.
- [41] M. Nakashima, A. Akamine, The application of tissue engineering to regeneration of pulp and dentin in endodontics, *J. Endod.* 31 (2005) 711–718.
- [42] M. Nakashima, Bone morphogenetic proteins in dentin regeneration for potential use in endodontic therapy, *Cytokine Growth Factor Rev.* 16 (2005) 369–376.
- [43] W. Zhang, X.F. Walboomers, J.G. Wolke, Z. Bian, M.W. Fan, J.A. Jansen, Differentiation ability of rat postnatal dental pulp cells in vitro, *Tissue Eng.* 11 (2005) 357–368.
- [44] R.B. Rutherford, BMP-7 gene transfer to inflamed ferret dental pulps, *Eur. J. Oral Sci.* 109 (2001) 422–424.
- [45] M. Nakashima, K. Iohara, M. Ishikawa, M. Ito, A. Tomokiyo, T. Tanaka, A. Akamine, Stimulation of reparative dentin formation by ex vivo gene therapy using dental pulp stem cells electroporated with growth/differentiation factor 11 (Gdf11), *Hum. Gene Ther.* 15 (2004) 1045–1053.
- [46] M. Goldberg, N. Six, F. Decup, K. Bourd, K. Palmier, E. Salihi, A. Veis, J.J. Lasfargues, Mineralization of the dental pulp: contributions of tissue engineering to tomorrow's therapeutics in odontology, *Pathol. Biol. (Paris)* 50 (2002) 194–203.
- [47] M.T. Duailibi, S.E. Duailibi, C.S. Young, J.D. Bartlett, J.P. Vacanti, P.C. Yelick, Bioengineered teeth from cultured rat tooth bud cells, *J. Dent. Res.* 83 (2004) 523–528.
- [48] P.G. Robey, Post-natal stem cells for dental and craniofacial repair, *Oral Biosci.* 2 (2005) 83–90.
- [49] T.A. Mitsiadis, Y. Chéraud, P. Sharpe, J. Fontaine-Perus, Development of teeth in chick embryos after mouse neural crest transplantations, *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 100 (2003) 6541–6545.