

Cellules souches mésenchymateuses
 DPSCs
 SHEDs
 Régénération pulpaire

*Mesenchymal stem cells
 DPSCs
 SHEDs
 Pulp regeneration*

L'ingénierie pulpaire à partir des cellules souches de la pulpe

F. MANGIONE, S. VITAL

Dental pulp tissue engineering from pulp stem cells

FRANCESCA MANGIONE. Université Paris Descartes, EA 2496. Service odontologie d'Henri Mondor, AP-HP. SIBYLLE VITAL. Université Paris Descartes, EA 2496. Service odontologie Louis Mourier, AP-HP.

RÉSUMÉ

Depuis l'identification de cellules souches mésenchymateuses dans la pulpe dentaire, recréer une pulpe dentaire semble désormais plausible, révolutionnant par la même la thérapeutique endodontique. Le concept d'ingénierie tissulaire dentaire repose sur l'utilisation de ces cellules souches, isolées, triées et multipliées dans des boîtes de culture, en vue de l'obtention d'un nombre suffisant pour recréer le tissu dentaire manquant. Les cellules sont associées à une matrice, qui leur confère un environnement en trois dimensions mimant les conditions *in vivo*, pour l'adhésion et la croissance. L'ensemble matrice plus cellules est ensuite implanté en vue de la régénération. Pour autant, recréer un tissu connectif, à la fois innervé et vascularisé, capable de produire de la dentine, tout en assurant l'homéostasie et la sensibilité d'une dent est d'une complexité certaine. À cette prouesse, s'ajoutent les barrières biologiques et cliniques inhérentes à l'utilisation de cellules souches. Des équipes du monde entier conçoivent et évaluent des nouveaux protocoles *in vitro*, chez l'animal et très récemment chez l'homme.

L'ensemble de ces données est le gage d'un changement radical et imminent des thérapeutiques pulpaires.

ABSTRACT

Since mesenchymal stem cells have been identified in dental pulp, recreating dental pulp now seems possible and this is an actual revolution in endodontic therapeutics. The concept of dental tissue engineering is based on the use of these stem cells, isolated, sorted out and multiplied in Petri dishes in order to recreate the missing dental tissue. Cells are associated to a matrix which provides a three-dimensional environment reproducing in vivo conditions for adhesion and growth. The "matrix + cells" complex is then implanted to trigger the regeneration process. However, recreating connective tissue that must be innervated and vascularized, capable of producing dentin while providing homeostasis and restoring dental sensory properties, remains a complicated task. This challenge also involves biological and clinical barriers inherent to the use of stem cells. Teams from all over the world have been developing and assessing new in vitro protocols in animals and very recently in humans.

All these data are the promise of a radical and imminent change in dental pulp therapeutics.

Demande de tirés-à-part : sibylle.vital@parisdescartes.fr

Les cellules souches de la pulpe dentaire pourraient s'apparenter à la pierre philosophale de la dentisterie ; en effet, grâce à leurs propriétés, elles offrirait un potentiel de régénération aux tissus et pourraient recréer une vitalité de la dent. Toutefois, à l'inverse des pouvoirs prétendus conférés à la substance alchimique, ces promesses sont bien réelles et les recherches de laboratoire, plus que concluantes, laissent désormais la place aux expérimentations précliniques, chez des modèles animaux proches de l'homme et des débuts en recherche clinique humaine.

Les cellules souches mésenchymateuses de la pulpe dentaire ont été identifiées il y a 18 ans déjà par une équipe américaine du National Institute of Health (Gronthos et coll., 2000). Depuis cette révolution, près de 2000 articles ont été publiés sur leurs capacités à régénérer les tissus dentaires, osseux voire neuronaux (Vital et coll., 2016).

Ainsi les Dental Pulp Stem Cells (DPSC) ou leurs homologues des dents temporaires Stem Cells from Human Exfoliated Tooth (SHEDS) (Miura et coll., 2003), bien utilisées, constitueraient l'élixir de longue vie de la dent et de ses tissus environnants.

Parmi les voies de recherche sur les cellules souches de la pulpe dentaire, l'ingénierie de la pulpe elle-même représente la voie la plus évidente de leur utilisation. En associant, dans une combinaison idéale, des cellules souches mésenchymateuses et des molécules de signalisation dans une matrice, le défi est de produire un tissu de remplacement fonctionnel du tissu pulpaire nécrosé ou lésé.

Pour être considéré comme une réussite, le tissu régénéré doit présenter quatre caractéristiques :

- Être un tissu conjonctif de même structure et même architecture que la pulpe originelle.
- Être innervé, pour redonner ses compétences sensibles à la dent.
- Être vascularisé, avec des vaisseaux régénérés reliés aux tissus environnants.
- Être capable de produire de la dentine secondaire se déposant le long des parois dentinaires existantes, à un rythme lent et continu, sans minéralisation intra-canaulaire extensive.

CHOIX DES CELLULES

Les cellules souches mésenchymateuses peuvent provenir des dents temporaires ou des dents de sagesse. À partir de la pulpe d'une seule dent, des millions de cellules vont pouvoir être obtenues par mise en culture et expansion. Elles peuvent être cryoconservées et décongelées au moment de leur utilisation, sans perdre leur potentiel « souche » (Cordeiro et coll., 2008).

Il existe une difficulté dans le fait d'identifier une population cellulaire stable, dont la sélection peut être reproductible. En effet, la pulpe dentaire constitue en soi une population cellulaire hétérogène qui, en fonction des procédures d'isolement, de sélection et des conditions de culture, peut présenter des caractéristiques différentes et des degrés divers de caractères « souche » (Iohara et coll., 2006 ; Laino et coll., 2005).

Dental pulp stem cells could be like the philosopher's stone of dentistry; indeed, thanks to their properties, they could provide tissues with a considerable regeneration potential and could actually revitalize teeth. However, unlike the so-called properties of the alchemical substance, these promises are real and laboratory research - which brought highly conclusive results - now leaves room to preclinical experiences on animal species closely related to humans while human clinical research is also starting.

Mesenchymal dental pulp stem cells were identified 18 years ago by an American team from the National Institute of Health (Gronthos et al., 2000). Since this revolution, about 2000 articles have been published on their capacities to regenerate dental tissues - bone and even neural tissues (Vital et al., 2016).

Dental Pulp Stem Cells (DPSC) or their equivalents in temporary teeth, namely Stem Cells from Human Exfoliated Tooth (SHEDS) (Miura et al., 2003), when properly used, could thus be the "elixir of long life" of teeth and their surrounding tissues.

Among research paths on DPSCs, engineering of pulp tissue itself is the most obvious way to use them. By associating, in an ideal combination, mesenchymal stem cells and signaling molecules within a matrix, the challenge is to fabricate functional tissue in order to replace necrosed or damaged pulp tissue.

To be functional, regenerated tissue must have four specificities:

- *The new connective tissue must have the same structure and architecture than original pulp.*
- *It must be innervated in order to restore the sensory properties of the tooth.*
- *It must be vascularized, with regenerated blood vessels connected to surrounding tissues.*
- *It must be able to produce secondary dentin coating existing dentinal walls, slowly and continuously, with no extensive intra-canal mineralization.*

CHOICE OF CELLS

Mesenchymal stem cells can come from temporary teeth or from wisdom teeth. From the pulp of a single tooth, millions of cells will grow after seeding and culturing. They can be cryopreserved and thawed just before use, without losing their "stem" potential (Cordeiro et al. 2008).

However, it is not that easy to identify a stable cellular population that will be selected to be reproductible. Indeed, dental pulp is in itself a heterogeneous cell population which, according to isolation, selection and culture procedures, may have different specificities and various degrees of "stem cell" properties (Iohara et al., 2006; Laino et al., 2005).

À ce jour, aucun marqueur spécifique permettant une purification de progéniteurs pulpaire n'a été identifié, mais grâce à des processus de tri cellulaire de plus en plus performants, le tri se fait sur une combinaison de marqueurs. Il est ainsi possible d'enrichir les cellules pulpaire en progéniteurs sur l'expression de marqueurs de surface tels STRO-1, ou CD34 (Iohara et coll., 2006 ; Gronthos et coll., 2002).

CHOIX DE LA MATRICE

Il est indispensable que les cellules soient disposées à l'intérieur d'une matrice. Sans elle, il ne serait pas possible d'apporter les cellules jusqu'au lieu souhaité de leur action, d'une part. D'autre part, la culture en trois dimensions des cellules, leur permet d'exprimer toutes leurs potentialités et de sécréter une matrice extracellulaire.

Il existe de très nombreuses possibilités de matrice (Zhang et coll., 2006). Elles sont soit d'origine naturelle comme le collagène ou la fibrine, soit d'origine synthétique, comme les polymères ou les biocéramiques par exemple. Le biomatériau est sélectionné en fonction d'un certains nombres de critères, sachant qu'il doit impérativement être en trois dimensions et présenter une porosité compatible avec la culture des cellules. Il est bien sûr souhaitable que la matrice induise un degré d'inflammation minimal et qu'elle ne présente pas de toxicité. Sa nature doit permettre une répartition des cellules de manière homogène ; il doit également favoriser le dépôt de matrice et les interactions cellulaires. Afin d'être compatible avec la survie, la prolifération et la différenciation cellulaire, il doit permettre le transport des gaz, des nutriments, des facteurs de croissance et déchets.

Bien entendu, il doit être biodégradable, puisqu'il n'est pas envisageable de réintervenir pour l'éliminer. Son élimination doit se faire à un taux contrôlé, compatible avec la régénération tissulaire.

Enfin, il doit être manipulable et de consistance adaptée à son usage : petit ou gros défaut, injectable ou façonnable...

CHOIX DES MOLÉCULES DE SIGNALISATION

Les cellules souches pulpaire mises en place au niveau de l'endodonte doivent survivre dans des conditions hostiles, où l'apport de nutriments et d'oxygène est restreint. Il est donc proposé par bon nombre de chercheurs, de leur adjoindre des molécules de signalisation, afin de favoriser leur prolifération, leur différenciation et leur migration dans le lieu du défaut. Le SDF-1 (Stromal cell-derived factor-1) et la BMP-7 (Bone morphogenetic protein-7) sont fréquemment utilisés, car ils ont une action chimiotactique sur les cellules souches pulpaire (Suzuki et coll., 2011).

Il est également possible de faire subir des conditions de culture particulières aux cellules avant leur implantation ; ainsi, des SHEDs cultivées dans des conditions de privation d'oxygène, présentent un potentiel angiogénique décuplé (Gorin et coll., 2016).

CHOIX DU MODÈLE ANIMAL

Les modèles animaux indispensables à la validation des principes établis *in vitro* sont répartis entre des modèles murins et des modèles « précliniques » chez les gros animaux (chiens, porcs voire chèvres). Un grand nombre

Until now, no specific marker allowing the purification of dental pulp progenitor cells has been identified, but thanks to increasingly efficient cell sorting procedures, sorting is based on a combination of markers. Enrichment of pulp cells into progenitor cells is thus possible on the expression of cell surface markers such as STRO-1, or CD34 (Iohara et al., 2006; Gronthos et al., 2002).

CHOICE OF MATRIX

Cells must be properly arranged inside a matrix. With no matrix, it would be impossible to bring cells to the place where they need to be active. On the other hand, three-dimensional cell culture allows them to express their full potential as well as to create an extracellular matrix.

There are many types of matrix (Zhang et al., 2006). They are either made with natural materials such as collagen or fibrin, or with synthetic materials such as polymers or bioceramics for example. Biomaterials are selected according to several criteria: they must necessarily be in three dimensions and their porosity rate must be compatible with cell culture. Obviously, the matrix must generate the lowest degree of inflammation and must not be toxic. Its nature must generate a homogeneous distribution of cells; it must also stimulate the matrix deposit and cellular interactions. To be compatible with cell survival, proliferation and differentiation, it must allow the transport of gases, nutrients, growth factors and wastes.

Naturally, it must be biodegradable since re-intervention it is not possible to eliminate it. Its elimination must take place at a controlled pace, compatible with tissue regeneration.

Finally, it must be easily manipulable and its consistency must adapted to its purpose: small or big defect, injectable or moldable...

CHOICE OF SIGNALING MOLECULES

Pulp stem cells placed in endodontium must survive in a hostile environment, where nutrient and oxygen supply is restricted. For this reason, many researchers have suggested to add signaling molecules in order to stimulate their proliferation, their differentiation and their migration to the place of the defect. SDF 1 (Stromal cell-derived factor-1) and BMP-7 (Bone morphogenetic protein-7) are frequently used, because they have a chemotactic action on pulp stem cells (Suzuki et al., 2011).

It is also possible to set specific cell culture conditions before their implantation; for example, SHEDs cultivated in a low oxygen environment have a significantly higher angiogenic potential (Gorin et al., 2016).

CHOICE OF ANIMAL MODEL

Animal models required to validate in vitro protocols are distributed between murine models and "preclinical" models in bigger animals (dogs, pigs and even goats). A large number of studies are conducted in immuno-

d'études sont réalisées chez la souris immunodéprimée, offrant ainsi la possibilité d'utiliser des cellules souches humaines. En raison de leur taille, ce ne sont pas les dents qui sont utilisées mais des tranches de dent humaine (Cordeiro et coll., 2008) ou des racines (Dissanayaka et coll., 2015), qui sont implantées dans le dos de l'animal.

Il existe des études de régénération pulpaire partielle chez le rat, sur lesquels des pulpotomies ont été réalisées et des matrices contenant des cellules souches pulpaire de rat implantées dans la chambre pulpaire évidée. Au bout de trois semaines, un tissu conjonctif cellularisé, vascularisé et innervé a été régénéré (Souron et coll., 2014).

Bien qu'*in vivo*, ces modèles sont très loin de la réalité clinique humaine, ils permettent d'établir des preuves de concept et de valider des principes, mais ne peuvent suffire pour un transfert en clinique.

Seuls les modèles animaux présentant des similitudes avec l'homme, permettent d'aller plus loin et de valider des protocoles transférables en clinique. En ingénierie pulpaire, les modèles canins et porcins sont de loin les plus courants.

EXEMPLE D'UNE ÉTUDE SUR LA RÉGÉNÉRATION PULPAIRE CHEZ LE MINIPORC

Nous avons testé chez le miniporc, un modèle préclinique de régénération partielle pulpaire à partir des cellules pulpaire. Notre choix s'est arrêté sur le miniporc, car il présente de nombreuses similitudes avec l'anatomie et la physiologie humaine et que son utilisation est largement validée en recherche biomédicale orofaciale (Wang et coll., 2007). Le miniporc, tout comme l'homme, est diphodont, il possède deux dentitions successives. Le développement et l'éruption dentaires sont tout à fait semblables à ceux de l'homme (fig. 1).



suppressed mice, thus providing the possibility to use human stem cells. Because of their size, mice teeth cannot be used; slices of human tooth (Cordeiro et al., 2008) or roots (Dissanayaka et al., 2015) are implanted in the back of the animal.

We can find studies of partial pulp regeneration in rats: pulpotomies were performed and matrices containing rat pulp stem cells were implanted in the hollowed out pulp chamber. Three weeks later, a cellularized, vascularized and innervated connective tissue was regenerated (Souron et al., 2014).

Although conducted in vivo, these models are very far from human clinical reality; they allow to create proofs of concept and to validate principles, but cannot be applied to clinical practice.

Only animal models presenting similarities with humans can allow to dig deeper and to validate procedures transferable to clinical practice. In pulp tissue engineering, canine and porcine models are by far the most frequently used.

EXAMPLE OF A STUDY ON PULP TISSUE REGENERATION IN THE MINIPIG

We have tested in the minipig a preclinical model of partial pulp regeneration from pulp cells. We decided to carry out the study on the minipig because it has many similarities with human anatomy and physiology and also because its use is widely validated in orofacial biomedical research (Wang et al., 2007). Minipigs, just like humans, are diphodont: they have two successive sets of teeth. Dental development and eruption are completely similar to those of humans (fig. 1).

Fig. 1. Reconstruction tridimensionnelle d'une mandibule de miniporc de 12 mois. L'anatomie dentaire du miniporc présente des similitudes dimensionnelles et morphologiques avec celle de l'homme.

Fig. 1. Three-dimensional reconstruction of a 12-month-old minipig mandible. The minipig dental anatomy shows similarities in size and morphology with human dental anatomy.

Il possède 32 dents temporaires et 44 permanentes, de taille et morphologie très similaires aux dents humaines ; avec une anatomie interne grandement similaire à celle de l'homme, ce qui en fait un modèle de choix de nos travaux sur la pulpe.

Notre hypothèse principale était la possibilité de régénérer un tissu pulpaire fonctionnel, innervé et vascularisé, grâce à une greffe de cellules pulpaire autologues, dans un modèle d'exérèse partielle de la pulpe chez le miniporc.

They have 32 temporary teeth and 44 permanent teeth with a size and morphology very similar to human teeth; the internal anatomy is also very similar to human anatomy. For all these reasons, the minipig is the perfect model for our works on the pulp.

Our main hypothesis was the possibility to regenerate a functional, innervated and vascularized pulp tissue using an autologous pulp cell graft in a model of partial pulpotomy in the minipig.

Les cellules pulpaire implantées ont été obtenues à partir de cellules pulpaire non triées de dents de miniporc ensemencées dans des matrices d'hydrogel et implantées dans les prémolaires et molaires permanentes du même animal, après exérèse de la pulpe camérale et préservation des pédicules vasculaires radiculaires (fig. 2).

Les pulpotomies ont été réalisées dans des conditions proches de la clinique sous digue (fig. 3). Le choix d'un hydrogel injectable (PuraMatrix™) a été retenu, pour ses résultats significatifs avec des cellules souches pulpaire et pour sa facilité d'utilisation par injection (Cavalcanti et coll., 2013 ; Disaanayaka et coll., 2015). Un ciment tricalcique a ensuite été mis en place (Biodentine®, Septodont France), puis une restauration au composite. Afin de tester l'effet des cellules pulpaire sur la régénération, un protocole identique a été réalisé sur les dents collatérales, sans ajouter de cellules pulpaire dans les hydrogels.

The implanted pulp cells came from unsorted pulp cells of a minipig's teeth seeded in hydrogel matrices and implanted in the permanent premolars and molars of the same animal, after exeresis of the coronal pulp and preservation of the radicular vascular pedicles (fig. 2).

Pulpotomy was performed under conditions close to the clinical procedure performed under dam (fig. 3). An injectable hydrogel (PuraMatrix™) was selected for its relevant results with pulp stem cells and for its ease of use by injection (Cavalcanti et al., 2013; Disaanayaka et al., 2015). A tricalcic cement was then placed (Biodentin®, Septodont France) and finally a composite restoration. In order to test the action of pulp cells on regeneration, an identical protocol was carried out on adjacent teeth with no addition of pulp cells into hydrogels.

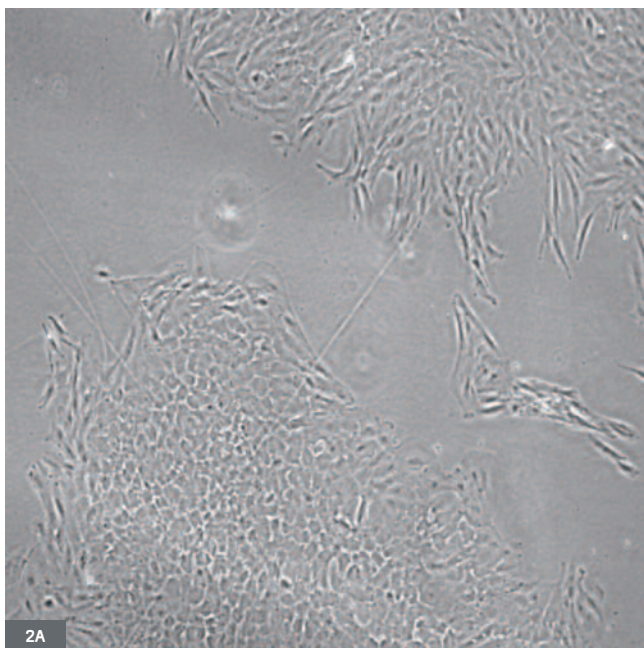
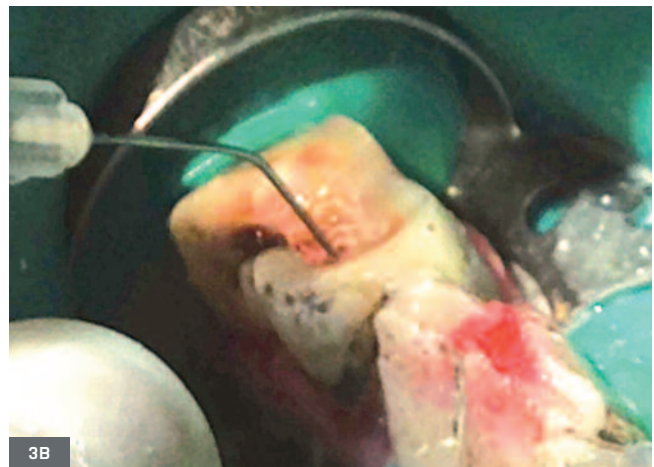


Fig. 2. A. Cellules pulpaire de miniporc cultivées en 2 dimensions. B. Puis dans un hydrogel (PuraMatrix™), avant leur implantation.

Fig. 2. A. Minipig pulp cells cultivated in 2 dimensions. B. And then in hydrogel (PuraMatrix™) before implantation (b).



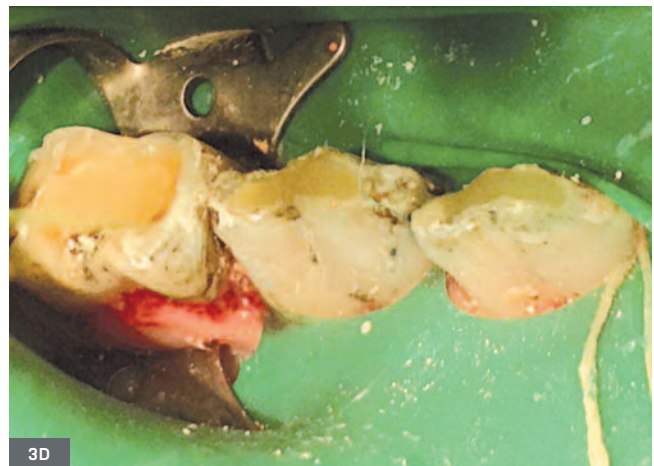
3A



3B



3C



3D

Fig. 3. Protocole d'implantation de cellules pulpaire autologues. A. Pulpotomie et hémostasie. B. Mise en place de l'hydrogel (PuraMatrix™) avec ou sans cellules pulpaire. C. Mise en place du ciment tricalcique (Biodentine). D. Mise en place d'un composite.

Fig. 3. Implantation procedure of autologous pulp cells. A. Pulpotomy and haemostasis. B. Placement of hydrogel (PuraMatrix™) with or without pulp cells. C. Placement of tricalcium cement (Biodentin). D. Placement of composite.

LES RÉSULTATS

Trois semaines après l'implantation, des analyses microCT des dents traitées ont mis en évidence la formation d'un pont dentinaire minéralisé au niveau des racines, indépendamment de la présence de cellules pulpaire dans les hydrogels (fig. 4 et 5). Des analyses volumétriques ont montré que les ponts dentinaires étaient localisés au niveau de chaque entrée canalaire, correspondant à la limite apicale de l'amputation pulpaire lors de la pulpotomie. Ce tissu néoformé, d'une épaisseur importante, épousait parfaitement l'anatomie interne, constituant une barrière minéralisée étanche.

RESULTS

Three weeks after implantation, microCT analyses of the treated teeth highlighted the formation of a dentin bridge that was mineralized in the roots area, independently of the presence of pulp cells in hydrogels (fig. 4 and 5). Volumetric analyses showed that dentin bridges were localized at each root canal entrance, relating to the apical limit of pulp amputation. The thick neoformed tissue perfectly fitted the internal anatomy, providing a tight mineralized barrier.

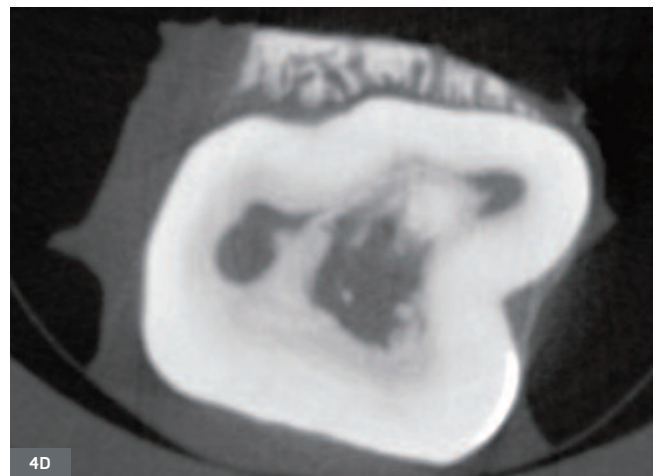
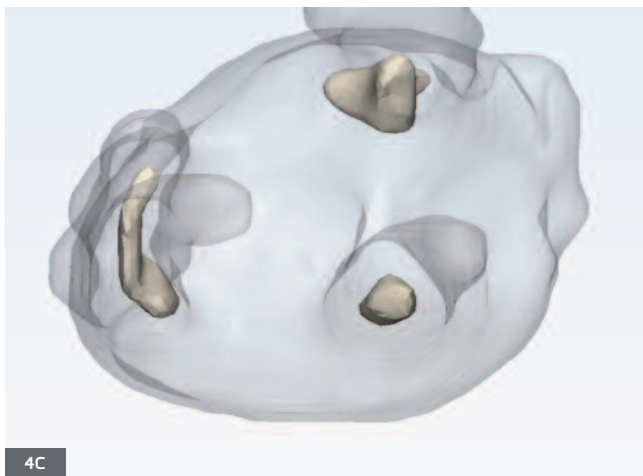
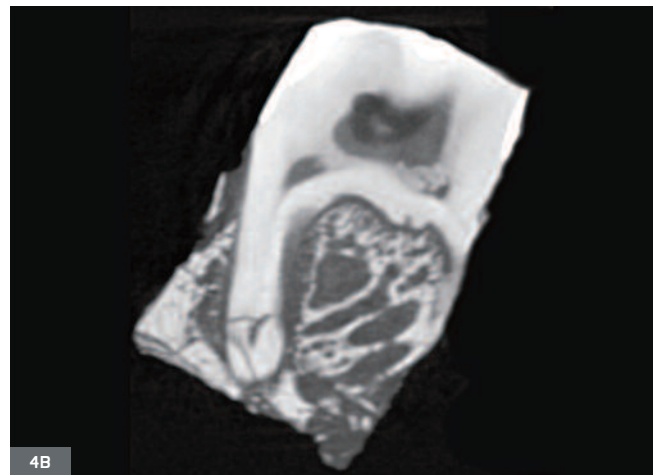
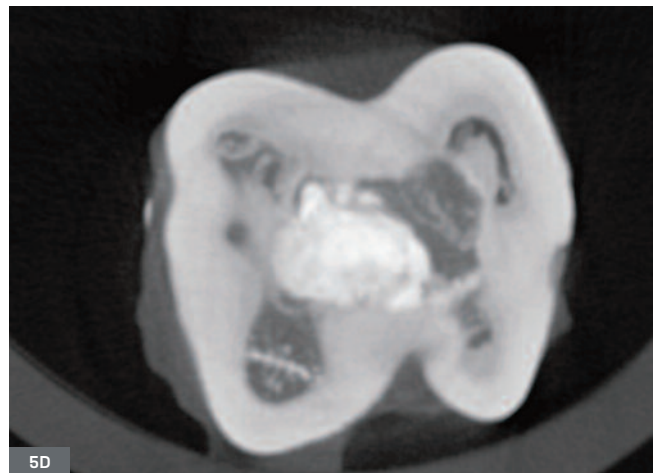
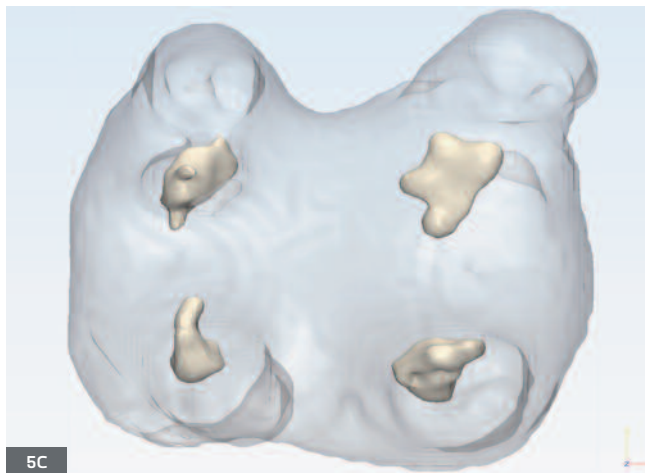


Fig. 4 A à D et 5 A à D. Analyses microCT et reconstructions tridimensionnelles d'une molaire avec et sans cellules pulpaire implantées. Un pont dentinaire individualisé est visible à l'entrée de chaque racine, indépendamment de la présence de cellules implantées.

Fig. 4 A to D and 5 A to D. MicroCT analyses and three-dimensional reconstruction of a molar with and without implanted pulp cells. A separate dentin bridge is visible at the entrance of each root, independently of the presence of implanted cells.





Grâce à une analyse des paramètres morphométriques, initialement développée pour les tissus osseux, nous avons pu mettre en évidence que les ponts formés en présence de cellules pulpaire dans les matrices présentaient un volume minéral inférieur, avec plus d'espaces connectés non minéralisés.

Nos résultats, n'ayant pas conduit à l'obtention d'un tissu conjonctif mais d'un tissu minéralisé, ont permis de souligner l'importance des modèles précliniques (Mangiose et coll., 2017). En effet, les modèles murins avaient présenté des résultats prometteurs (Souron et coll., 2014 ; Cavalcanti et coll., 2012).

Dans notre modèle, il est possible que les dents permanentes matures, sur lesquelles nous avons fait l'implantation, offraient un apport sanguin trop limité pour permettre la greffe des cellules implantées au tissu pulpaire radiculaire résiduel (Zheng et coll., 2012). Il pourrait être judicieux de tester ce protocole de régénération pulpaire dans des dents permanentes immatures.

Le second point mis en relief par nos résultats, concerne l'inflammation. Nous avons constaté une hyperhémie au niveau des pulpes radiculaires des dents traitées. Or, le processus d'inflammation est connu pour influencer négativement l'angiogenèse (Boyle et coll., 2014 ; Vidovic et coll., 2017) et pour promouvoir, lorsqu'elle est modérée la synthèse de dentine réparatrice (Goldberg et coll., 2015). La question de l'origine exacte de l'inflammation reste posée, elle peut être due à la pulpotomie elle-même et/ou à l'implantation des hydrogels.

Ainsi, comme toujours en recherche, l'expérimentation a permis de tester une hypothèse, tout en mettant en lumière de nouvelles voies de questionnement.

The analysis of morphometric parameters, initially developed for bone tissues, highlighted that bridges formed in presence of pulp cells in matrices had a smaller mineral volume, with more non mineralized connected spaces.

Our results – we did not obtain connective tissue but mineralized tissue – allowed to underline the importance of preclinical models (Mangiose et al., 2017). Murine models had indeed shown promising results (Souron et al., 2014; Cavalcanti et al., 2012).

In our model, it is possible that the mature permanent teeth on which the implantation was performed did not supply enough blood to allow the graft of implanted cells in residual radicular pulp tissue (Zheng et al., 2012). It might be relevant to test this pulp regeneration procedure in immature permanent teeth.

Inflammation is the second point highlighted by our results. We noticed hyperemia in radicular pulps of the treated teeth. Yet, the inflammation process is known to have a negative impact on angiogenesis (Boyle et al., 2014; Vidovic et al., 2017) and to stimulate, when it is moderate, the synthesis of reparative dentin. The actual origin of inflammation remains unknown: it may be due to the pulpotomy itself and/or to the use of hydrogels.

As usual as far as research is concerned, the experiment allowed to test one hypothesis, while raising new questions and highlighting new perspectives.

LES PERSPECTIVES

Une équipe a désormais franchi le pas des modèles animaux à l'expérimentation chez l'homme (Nakashima et coll., 2017). Ainsi, l'équipe de Nakashima, après ses travaux chez le miniporc et le chien, a très récemment publié une étude clinique pilote sur la régénération pulpaire totale sur cinq patients. Les patients présentaient tous une prémolaire ou une incisive devant être dépulpée, pour cause de pulpite irréversible sans atteinte périapicale et une troisième molaire devant être extraite, d'où les cellules souches pulpaire ont été isolées. Les DPSCs dans une matrice de collagène, avec du granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) comme molécule de signalisation ont été implantées dans les espaces endodontiques des dents dépulpées. Les tests de sensibilité se sont avérés positifs pour 4 patients sur 5 à 4 semaines. Les évaluations par IRM et cone beam ont montré des résultats compatibles avec la régénération tissulaire, notamment une formation de dentine secondaire pour 3 des 5 patients.

CONCLUSION

Les cellules souches pulpaire vont permettre de reconsidérer totalement l'approche thérapeutique des pathologies pulpaire, en régénérant le tissu lésé. Des dizaines d'équipe à travers le monde sont à pied d'œuvre pour permettre un jour prochain cette utilisation des cellules souches en clinique quotidienne. Le processus est long, jalonné d'étapes indispensables, mais le but est proche.

PERSPECTIVES

A team has finally decided to quit animal models and start human experiments (Nakashima et al., 2017). After working with dogs and minipigs, Nakashima's team recently published a clinical pilot study on complete pulp regeneration conducted on five patients. All the patients had a premolar or an incisor that had to be depulped due to irreversible pulpitis with no periapical lesion and the third molar needed to be extracted, from which pulp stem cells were isolated. DPSCs in a collagen matrix, with granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) as signaling molecule, were implanted in the endodontic spaces of the depulped teeth. Sensitivity tests were positive in 4 patients out of 5 at 4 weeks. MRI and cone beam evaluations showed results compatible with tissue regeneration, and particularly a formation of secondary dentin in 3 patients out of 5.

CONCLUSION

Pulp stem cells will allow to deeply reconsider the therapeutic approach of pulp pathologies, through the regeneration of damaged tissue. Dozens of teams around the world are working hard to introduce the use of stem cells in daily private practice in a near future. The process is long, dotted with crucial landmarks, but success is close.

Traduction : Marie Chabin

BIBLIOGRAPHIE

- BOYLE M., CHUN C., STROJNY C., NARAYANAN R., BARTHOLOMEW A., SUNDIVAKKAM P., ALAPATI S. – Chronic inflammation and angiogenic signaling axis impairs differentiation of dental-pulp stem cells. *PLoS One* 2014;9:e113419.
- CAVALCANTI B.N., ZEITLIN B.D., NOR J.E. – A hydrogel scaffold that maintains viability and supports differentiation of dental pulp stem cells. *Dent Mater* 2013;29:97-102.
- CAVALCANTI B.N., ZEITLIN B.D., NOR J.E. – A hydrogel scaffold that maintains viability and supports differentiation of dental pulp stem cells. *Dent Mater* 2012.
- CORDEIRO M.M., DONG Z., KANEKO T., ZHANG Z., MIYAZAWA M., SHI S., SMITH A.J., NOR J.E. – Dental pulp tissue engineering with stem cells from exfoliated deciduous teeth. *J Endod* 2008;34:962-969.
- DISSANAYAKA W.L., HARGREAVES K.M., JIN L., SAMARANAYAKE L.P., ZHANG C. – The interplay of dental pulp stem cells and endothelial cells in an injectable peptide hydrogel on angiogenesis and pulp regeneration *in vivo*. *Tissue Eng Part A* 2015;21:550-563.
- DISSANAYAKA W.L., ZHU L., HARGREAVES K.M., JIN L., ZHANG C. – *In vitro* analysis of scaffold-free prevascularized microtissue spheroids containing human dental pulp cells and endothelial cells. *J Endod* 2015;41:663-670.
- GOLDBERG M., NJEH A., UZUNOGLU E. – Is Pulp Inflammation a Prerequisite for Pulp Healing and Regeneration? *Mediators Inflamm* 2015;2015:347649.
- GORIN C., ROCHEFORT G.Y., BASCETIN R., YING H., LESIEUR J., SADOINE J. ET AL. – Priming Dental Pulp Stem Cells With Fibroblast Growth Factor-2 Increases Angiogenesis of Implanted Tissue-Engineered Constructs Through Hepatocyte Growth Factor and Vascular Endothelial Growth Factor Secretion. *Stem Cells Transl Med* 2016;5:392-404.
- GRONTHOS S., MANKANI M., BRAHIM J., ROBEY P.G., SHI S. – Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) *in vitro* and *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97:13625-13630.
- GRONTHOS S., BRAHIM J., LI W., FISHER L.W., CHERMAN N., BOYDE A., DENBESTEN P., ROBEY P.G., SHI S. – Stem cell properties of human dental pulp stem cells. *J Dent Res* 2002;81:531-535.
- IOHARA K., ZHENG L., ITO M., TOMOKIYO A., MATSUSHITA K., NAKASHIMA M. – Side population cells isolated from porcine dental pulp tissue with self-renewal and multipotency for dentinogenesis, chondrogenesis, adipogenesis, and neurogenesis. *Stem Cells* 2006;24:2493-24503.
- KODONAS K., GOGOS C., PAPADIMITRIOU S., KOUZI-KOLIAKOU K., TZIAFAS D. – Experimental formation of dentin-like structure in the root canal implant model using cryopreserved swine dental pulp progenitor cells. *J Endod* 2012;38:913-919.
- LAINO G., D'AQUINO R., GRAZIANO A., LANZA V., CARINCI F., NARO F., ET AL. – A new population of human adult dental pulp stem cells: a useful source of living autologous fibrous bone tissue (LAB). *J Bone Miner Res* 2005;20:1394-1402.
- MANGIONE F., EZELDEEN M., BARDET C., LESIEUR J., BONNEAU M., DECUP F., SALMON B., JACOBS R., CHAUSSAIN C., OPSAHL-VITAL S. – Implanted Dental Pulp Cells Fail to Induce Regeneration in Partial Pulpotomies. *J Dent Res* 2017;96:1406-1413.
- MIURA M., GRONTHOS S., ZHAO M., LU B., FISHER L.W., ROBEY P.G., SHI S. – SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:5807-5012.
- NAKASHIMA M., IOHARA K., MURAKAMI M., NAKAMURA H., SATO Y., ARIJI Y., MATSUSHITA K. – Pulp regeneration by transplantation of dental pulp stem cells in pulpitis: a pilot clinical study. *Stem Cell Res Ther* 2017;8:61.
- SOURON J.B., PETIET A., DECUP F., TRAN X.V., LESIEUR J., POLIARD A., LE GULUDEC D., LETOURNEUR D., CHAUSSAIN C., ROUZET F., OPSAHL VITAL S. – Pulp cell tracking by radionuclide imaging for dental tissue engineering. *Tissue Eng Part C Methods* 2014;20:188-197.
- SUZUKI T., LEE C.H., CHEN M., ZHAO W., FU S.Y., QI J.J., CHOTKOWSKI G. – Induced migration of dental pulp stem cells for *in vivo* pulp regeneration. *J Dent Res* 2011;90:1013-1018.
- VIDOVIC I., BANERJEE A., FATAHI R., MATTHEWS B.G., DYMENT N.A., KALAJZIC I., MINA M. – alpha SMA-Expressing Perivascular Cells Represent Dental Pulp Progenitors *In Vivo*. *J Dent Res* 2017;96:323-330.
- VITAL S.O., POLIARD A., CHAUSSAIN C. – La régénération tissulaire dentaire : vers un développement clinique. *Information Dentaire* 2016; 98:18-25.
- WANG Y.P., LEE J.J., WANG J.T., LIU B.Y., YU C.H., KUO R.C., CHIANG C.P. – Non-calcifying variant of calcifying epithelial odontogenic tumor with Langerhans cells. *J Oral Pathol Med* 2007;36:436-439.
- ZHANG W., WALBOOMERS X.F., VAN KUPPEVELT T.H., DAAMEN W.F., BIAN Z., JANSEN J.A. – The performance of human dental pulp stem cells on different three-dimensional scaffold materials. *Biomaterials* 2006;27:5658-5668.
- ZHENG Y., WANG X.Y., WANG Y.M., LIU X.Y., ZHANG C.M., HOU B.X., WANG S.L. – Dentin regeneration using deciduous pulp stem/progenitor cells. *J Dent Res* 2012;91:676-682.