

Les organes autoconstruits remplaceront-ils la transplantation d'organes ? Le poumon

Will transplantation be replaced by the use of bio-engineered organs from autologous cells? The lung

E Martinod [1, 2], Y Uzunhan [3], DM Radu [1, 2], A Seguin [1, 2], G Boddaert [1, 2], D Valeyre [3], C Planès [4], A Carpentier [2]

1. Service de chirurgie thoracique et vasculaire, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (AP-HP), CHU Paris - Seine Saint Denis, Hôpital Avicenne, Pôle hémato-onco-thorax, Faculté de médecine SMBH, Bobigny, Université Paris 13.

2. EA Laboratoire de recherches biochirurgicales, Université Paris Descartes, Fondation Alain Carpentier, AP-HP, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France.

3. Université Paris 13, PRES Sorbonne-Paris-Cité, EA2363, AP-HP, CHU Paris - Seine Saint Denis, Hôpital Avicenne, Pôle hémato-onco-thorax, Service de pneumologie, Bobigny, France.

4. Université Paris 13, PRES Sorbonne-Paris-Cité, EA2363, AP-HP, CHU Paris - Seine Saint Denis, Hôpital Avicenne, Pôle hémato-onco-thorax, Service de physiologie, explorations fonctionnelles et médecine du sport, Bobigny, France.

Mots clés

- ◆ Organes
- ◆ Transplantation
- ◆ Ingénierie tissulaire
- ◆ Autologue
- ◆ Poumon

Résumé

La transplantation pulmonaire est toujours le seul traitement curatif de l'insuffisance respiratoire chronique au stade terminal. Ses résultats restent néanmoins médiocres en raison du nombre insuffisant de donneurs, du rejet chronique et des complications liées aux immunosuppresseurs. La mise au point d'un poumon bio-artificiel régénéré à partir de cellules autologues pourrait apporter une solution majeure à ces problèmes non résolus. Nous avons démontré qu'il était possible d'obtenir une régénération in vivo épithéliale et cartilagineuse au niveau trachéobronchique en utilisant une matrice de tissu aortique. D'autres études ont permis une régénération trachéobronchique in vitro par ingénierie tissulaire ou in vivo après implantation hétérotopique d'une allogreffe. La problématique est encore plus complexe au niveau pulmonaire puisqu'il faut trouver une matrice élastique capable d'induire une régénération des différents éléments bronchiques, alvéolaires et vasculaires du poumon sur, de plus, une large surface permettant ainsi une ventilation, une perfusion et des échanges gazeux. Des études récentes ont démontré la possibilité de régénération des différents constituants du poumon in vivo et in vitro à partir de cellules autologues, en particulier de cellules souches. La recherche en ce domaine, qui en est à ses débuts, s'oriente aujourd'hui vers l'utilisation préférentielle d'une matrice pulmonaire décellularisée dont la recolonisation épithéliale et endothéliale in vitro est obtenue par utilisation de cellules autologues. L'implantation in vivo chez l'animal semble permettre l'obtention d'un poumon bio-artificiel fonctionnel. Ces premiers travaux laissent entrevoir une application chez l'homme dans 10 à 20 ans d'après les prévisions les plus optimistes.

Keywords

- ◆ Organs
- ◆ Transplantation
- ◆ Tissue engineering
- ◆ Autologous
- ◆ Lung

Abstract

Lung transplantation is still the only curative treatment of end-stage pulmonary diseases. The results remain however poor because of limited availability of lung donors, chronic rejection and complications related to immunosuppressive therapy. The use of a bio-artificial lung regenerated from autologous cells could offer a major solution to these unsolved problems. We demonstrated that in vivo epithelial and cartilage regeneration of the airways was possible with the use of matrix from aortic tissue. Other studies showed that in vitro or in vivo airway regeneration can be obtained respectively using bio-engineered techniques or after heterotopic implantation of allograft. A more complex challenge is represented by the regeneration of artificial lung. Indeed, it requires the use of an elastic matrix that can promote regeneration of the different lung elements (airways, alveoli, vessels) over a large surface area, this allowing ventilation, blood perfusion and gas exchange. Recent studies demonstrated the possibility of in vitro and in vivo regeneration of lung tissue from autologous cells, especially stem cells. This emerging research in the field of bio-artificial lung seems to give priority to the preferential use of decellularized lung matrix and to promote recellularization with autologous epithelial and endothelial cells. The implantation in animals of this recellularized matrix led to the achievement of a functional bio-artificial lung. These pioneering works would allow first human transplantation of bio-artificial lung from bio-engineering in the following 10-20 years.

Correspondance :

Emmanuel Martinod, Service de chirurgie thoracique et vasculaire, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (AP-HP), CHU Paris - Seine Saint Denis, Hôpital Avicenne, Pôle hémato-onco-thorax, Faculté de médecine SMBH, Bobigny, Université Paris 13.
E-mail : emmanuel.martinod@avc.aphp.fr

Problématique

Cinquante millions de malades environ vivent dans le Monde avec une insuffisance respiratoire chronique au stade terminal, toutes causes confondues. Le seul traitement de cette affection engageant le pronostic vital est, dans des cas bien sélectionnés, la transplantation pulmonaire dont la première réalisation a été rapportée en 1963 (1). Ses résultats restent néanmoins médiocres, principalement en raison du nombre insuffisant de donneurs, du rejet chronique et des complications liées aux immunosuppresseurs (2-8). On compte également parmi les facteurs limitant l'âge qui interdit à beaucoup de patients l'accès à ce traitement. Les nouvelles techniques explorées depuis quelques années (donneurs à cœur arrêté ou non battant, reconditionnement « ex-vivo » des greffons pulmonaires, donneurs vivants) posent encore des problèmes d'organisation, de législation et d'éthique, en particulier en France (2-8). Enfin, les systèmes d'assistance respiratoire par circulation extracorporelle ne représentent actuellement qu'une solution provisoire dans l'attente d'une transplantation ou d'une récupération dans le cadre de lésions pulmonaires aiguës (9, 10). Leur utilisation comme véritable poumon artificiel sur une longue durée ne semble pas, aujourd'hui, envisageable du fait de leur caractère externe, non implantable et du risque de thrombose. Dans l'avenir, la mise au point d'un poumon bio-artificiel régénéré à partir de cellules auto-logues pourrait, par contre, apporter une solution à ces nombreux problèmes.

Régénération trachéo-bronchique

À l'heure de la transplantation d'organes, la greffe trachéo-bronchique reste un véritable défi chirurgical et biologique. En effet, plus de cinquante années de recherche n'ont pas permis de trouver un substitut idéal aux voies aériennes. Des échecs successifs ont été observés avec les prothèses synthétiques, les bioprothèses, les allogreffes trachéales et les autogreffes (11). Nous avons proposé, à partir de 1997, l'évaluation du greffon aortique dans cette indication. Dans plusieurs études expérimentales, nous avons démontré que l'autogreffe aortique, l'allogreffe fraîche puis cryopréservée apportaient des résultats encourageants. Nous avons, en effet, observé une régénération tissulaire non seulement épithéliale mais aussi cartilagineuse, ces résultats ayant été confirmés par d'autres équipes (12-22). Nos travaux actuels tentent de démontrer que cette régénération d'un tissu trachéal à partir d'une matrice aortique se fait à partir de cellules souches issues de la moelle osseuse. La figure 1 illustre le potentiel de régénération trachéale à partir d'une matrice aortique (données personnelles, EM). Ces études ont conduit, chez l'homme, aux premières applications cliniques avec succès dans le cadre des cancers étendus de la trachée et de la chirurgie conservatrice du cancer pulmonaire (11, 23-25). Ces résultats apportent de nouvelles perspectives dans la compréhension des mécanismes de régénération tissulaire et dans le traitement chirurgical de malades en impasse thérapeutique. D'autres auteurs ont pu induire une régénération trachéo-bronchique in vitro par ingénierie tissulaire ou in vivo après implantation hétérotopique au niveau de l'avant-bras d'une allogreffe trachéale et une phase transitoire d'immunosuppression (26-28).

Régénération pulmonaire et cellules souches (29)*

Au niveau pulmonaire, plusieurs types de cellules progénitrices locales, participant à la réparation cellulaire, ont été décrits : les cellules basales présentes dans les voies aérien-

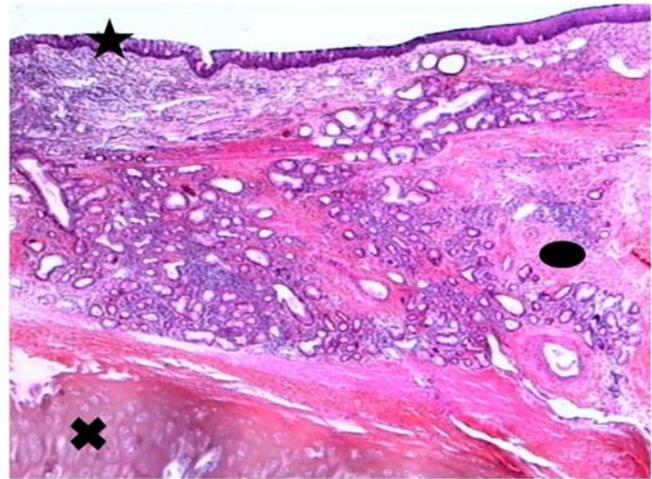


Figure 1. Régénération trachéale à partir d'une matrice aortique (ovale) après 6 mois d'implantation. La régénération tissulaire concerne non seulement l'épithélium (étoile) mais aussi le cartilage (croix). La régénération épithéliale se fait à partir des berges de la trachée native, la régénération cartilagineuse à partir de cellules souches en cours d'identification.

nes distales et non clonogéniques ainsi que les cellules de Clara, distribuées dans les petites voies aériennes, participant à la réparation des structures respiratoires et capables de sécréter des mucines (30, 31). D'autres cellules ont également été identifiées comme les cellules souches broncho-alvéolaires, exprimant aussi bien des marqueurs de cellules de Clara que de cellules épithéliales (32) de même que les pneumocytes de type II, cellules certes progénitrices des pneumocytes de type I, mais ayant un phénotype épithélial bien défini. Enfin, les cellules de la sous-population « *side population cells* » ont des marqueurs de différenciation in vitro mimant des cellules mésenchymateuses stromales. Le rôle de ces cellules dans la réparation tissulaire a été essentiellement mis en évidence dans des modèles animaux avec notamment une amélioration des lésions de fibrose observées après instillation intratrachéale de pneumocytes de type II syngéniques sur des rats soumis à la bléomycine (33).

Cellules souches pulmonaires résidentes

Kajstura et al. ont décrit pour la première fois l'existence de cellules souches pulmonaires résidentes, par définition multipotentes, capables d'autorenouvellement ainsi que de clonogénicité et dont ils fournissent la caractérisation phénotypique et fonctionnelle in vitro et in vivo (34). Identifiées par l'expression de c-kit, marqueur des cellules hématopoïétiques et des cellules souches cardiaques, ces cellules seraient distribuées en niches dans les voies aériennes distales avec une densité de 1/6 000 et 1/30 000 cellules respectivement dans les bronchioles et dans les alvéoles. Dans leur étude, ces cellules étaient extraites à partir de tissus pulmonaires humains issus de dons d'organes non retenus pour une greffe, par technique de digestion enzymatique et de tri cellulaire en cytométrie en flux. Elles étaient ensuite marquées (infection par un lentivirus porteur d'une fluorescence verte) et injectées dans le thorax d'une souris dans le même temps qu'une lésion pulmonaire était réalisée. Les auteurs rapportent non seulement une incorporation de ces cellules dans le tissu pulmonaire murin 10 à 14 jours après l'intervention, mais surtout une régénération du tissu lésé avec présence des cellules marquées dans les structures vasculaires, bronchiolaires et alvéolaires néoformées. Les cellules humaines c-kit positives issues de ce poumon de souris étaient ensuite récupérées par la même technique et réinstillées dans un autre poumon de souris, et cette opération était répétée 8 fois, confirmant une des propriétés essentielles des cellules souches, à savoir l'autorenouvellement. La partie régénérée du poumon de souris

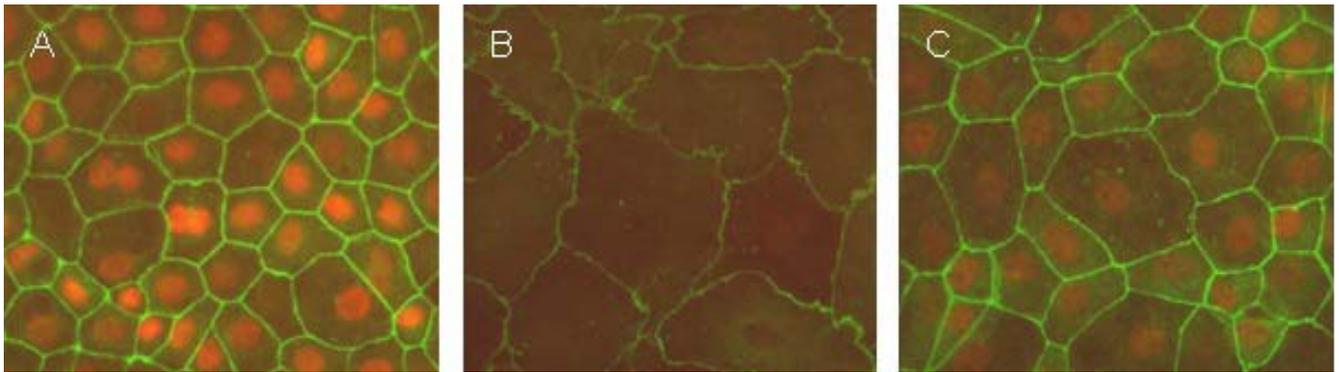


Figure 2. Co-immunomarquage ZO-1 / TTF-1 réalisé sur culture primaire de pneumocytes de rats en normoxie (A), en hypoxie (B) et en hypoxie en présence de cellules souches mésenchymateuses (C). Notez en hypoxie la modification de la taille des cellules avec la perte du facteur de transcription nucléaire TTF-1, marqueur de phénotype épithélial. En présence de cellules souches mésenchymateuses, les effets de l'hypoxie sont nettement atténués avec préservation des marqueurs épithéliaux. ZO-1 : protéine de jonction intercellulaire (Zonula Occludens- 1) ; TTF-1 : thyroid transcription factor - 1.

était composée de cellules alvéolaires humaines ainsi que de cellules bronchiolaires ou encore endothéliales humaines, caractérisées par un matériel chromosomique humain. Comme le soulignent les auteurs, la mise en évidence de ces cellules ne remet pas en question le rôle des cellules progénitrices locales dans les phénomènes de réparation épithéliale après lésion. Le rôle de ces cellules dans le défaut de réparation des tissus mériterait également d'être exploré. Harold Chapman (San Francisco, États-Unis), auteur de l'éditorial accompagnant cet article publié dans le *New England Journal of Medicine*, met en perspective cette découverte non seulement par rapport aux connaissances antérieures sur le développement pulmonaire, mais aussi et surtout par rapport aux potentiels offerts par ces cellules en termes de régénération pulmonaire et notamment de bio-engineering du poumon, possible future alternative à la transplantation (35).

Cellules souches mésenchymateuses résidentes et spécifiques

Le poumon contient, par ailleurs, des cellules souches mésenchymateuses résidentes et spécifiques, récemment décrites et bien caractérisées (36-38). Ces cellules ne participeraient pas directement au renouvellement épithélial mais elles établiraient une communication avec l'épithélium via des « gap-jonctions », assurant ainsi un rôle cytoprotecteur local.

Cellules souches mésenchymateuses issues de la moelle osseuse

Enfin, de nombreuses études chez l'animal ont montré le rôle bénéfique des cellules souches mésenchymateuses issues de la moelle osseuse. Les effets observés dans l'œdème pulmonaire lésionnel, le sepsis, la dysplasie bronchopulmonaire, l'hypertension pulmonaire, voire la fibrose pulmonaire idiopathique ou encore l'emphysème, ont conduit à des applications cliniques en cours d'évaluation (29). Les propriétés immunomodulatrices, anti-inflammatoires, anti-apoptotiques et angiogéniques des cellules mésenchymateuses placent en effet ces cellules au cœur de la réparation tissulaire. Contrairement à une hypothèse faite dans le passé, ces cellules ne semblent pas se différencier en cellules épithéliales alvéolaires et leur mode d'action ferait intervenir des mécanismes paracrines non encore tous élucidés. La figure 2 illustre l'effet protecteur des cellules souches mésenchymateuses issues de moelle osseuse sur le phénotype épithélial des cellules alvéolaires de rat en culture primaire soumises à l'hypoxie (données personnelles, YU et CP).

Le poumon bio-artificiel : un véritable défi

Nous disposons actuellement de deux articles originaux majeurs publiés par deux équipes différentes dans *Nature* (Ott HC, et al.) et *Science* (Petersen TH, et al.) en juillet 2010 au sujet du poumon bio-artificiel (39, 40).

- L'équipe du *Massachusetts General Hospital (Harvard Medical School, Boston, États-Unis)* menée par Joseph P. Vacanti, déjà bien connue pour ses travaux sur la régénération trachéale par ingénierie tissulaire, a mis au point un modèle de poumon bio-artificiel publié dans la revue *Nature* (39). Les auteurs ont décellularisé un poumon de rat par perfusion d'un détergeant afin d'obtenir une matrice. Cette méthode a pu être reproduite sur le poumon de la brebis, du porc et du babouin. Des cellules épithéliales et endothéliales ont été injectées dans la matrice pulmonaire puis une incubation a été réalisée pendant 5 jours dans un bioréacteur. Des études morphologiques retrouvaient un aspect proche de celui du poumon natif au niveau alvéolaire (volume, nombre, taille). Des études physiologiques in vitro montraient que les capacités ventilatoires et d'échanges gazeux étaient également préservées. Une implantation in vivo du poumon bio-artificiel permettait une ventilation spontanée pendant 6 heures. Au-delà de ce terme, un œdème pulmonaire apparaissait. Les auteurs concluaient en donnant plusieurs voies de recherche afin de potentialiser leurs résultats dans l'avenir : amélioration de la différenciation et de la maturation des cellules injectées, durée d'incubation en bioréacteur plus longue, optimisation de la ventilation postopératoire. Les auteurs proposaient également de mieux étudier quel est le niveau de maturation nécessaire avant implantation du poumon bio-artificiel mais aussi quelles sont les possibilités de régénération in vivo par l'individu lui-même afin de compléter le processus issu de l'injection de cellules et de l'incubation dans le bioréacteur.
- L'équipe de l'Université de Yale (*New Haven, États-Unis*) menée par Laura E. Niklason a mis au point un autre modèle d'ingénierie tissulaire pulmonaire publié dans la revue *Science* (40). Les auteurs ont décellularisé un poumon de rat par traitement chimique, en gardant seulement la charpente matricielle du poumon, c'est-à-dire l'architecture tridimensionnelle des voies aériennes, des vaisseaux ainsi que de la membrane basale comportant le collagène de type IV, la laminine et la fibronectine. Ce poumon décellularisé était placé dans un bioréacteur utilisé pour mimer les conditions physiologiques du thorax avec une pression négative et une perfusion vasculaire pulsatile. Des cellules épithéliales issues de rats nouveau-nés étaient instillées par voie trachéale et des cellules endothéliales par voie vasculaire. Au

terme de 4 à 8 jours d'incubation, ce poumon était greffé à un rat de la même espèce. Les mesures de compliance étaient sensiblement différentes entre le poumon natif, le poumon décellularisé et le poumon issu de la bio-ingénierie avec des pressions d'ouverture plus fortes, reflétant un surfactant moins fonctionnel dans ce dernier. Néanmoins, il n'y avait pas d'élément évocateur de rigidité de la matrice, écartant ainsi une évolution fibrosante. En histologie, une ré-épithélialisation avec une distribution spatiale des différents types cellulaires ainsi qu'une ré-endothélialisation comparable au poumon natif étaient observées. Les échanges gazeux étaient par ailleurs assurés, attestant du caractère fonctionnel de ce poumon. Ce protocole était par la suite appliqué à un poumon humain décellularisé par le même procédé. La ré-épithélialisation était alors réalisée à l'aide de cellules de la lignée A549 et la ré-endothélialisation assurée par des cellules endothéliales issues de sang de cordon. Ce travail confirmait la reproductibilité du modèle sur poumon humain. L'intégrité de la membrane basale était, selon les auteurs, un garant de la reconstitution de l'épithélium.

Ces premiers travaux ouvrent une voie prometteuse pour la mise au point d'un poumon bio-artificiel fonctionnel. Ils laissent entrevoir une application chez l'homme dans 10 à 20 ans d'après les prévisions les plus optimistes. Néanmoins de nombreuses interrogations demeurent.

- L'utilisation d'une matrice pulmonaire décellularisée est-elle la seule voie possible ?
- Quelles cellules doit-on privilégier pour la recellularisation ? Des cellules souches mésenchymateuses ? Des cellules pulmonaires résidentes ?
- L'utilisation de cellules souches autologues, en particulier résidentes pouvant participer à la pathogénie, ne risque-t-elle pas de pérenniser la maladie pulmonaire préexistante ?
- Quelle est la durée optimale d'incubation dans un bioréacteur pour le poumon ?
- Et enfin cette technique est-elle applicable au poumon humain dont la surface alvéolaire est très importante ?

Les prochaines étapes de la recherche devront répondre à ces questions fondamentales qui laissent entrevoir de nombreux domaines d'exploration pour le futur.

**Ce paragraphe est extrait en grande partie de la référence 29 publiée par le deuxième auteur (YU) de cet article.*

Questions/réponses

Question de J Battin (Académie nationale de médecine)

Chez l'enfant, le développement alvéolaire se poursuit intensément dans les premières années de vie. En serait-il de même avec vos néo-poumons ?

Réponse

Je vous remercie de cette question qui en pose une autre : quelles cellules doit-on privilégier pour ensemercer les matrices pulmonaires décellularisées ? L'idéal serait, bien sûr, d'utiliser des cellules embryonnaires (pluripotentes) à haut pouvoir de plasticité cellulaire mais les orientations éthiques actuelles nous orientent plutôt vers des cellules adultes (multipotentes). Ainsi, il ne semble pas évident que le poumon bio-artificiel soit, dans cette hypothèse, en capacité de croissance.

Questions de R Ardaillou (Secrétaire perpétuel Académie nationale de médecine)

Ne pensez-vous pas que les matrices d'origine humaine sont préférables à celles d'origine animale pour des questions de tolérance immunologique ?

La surface d'échange gazeux offerte par les membranes artificielles, mimant la barrière alvéolocapillaire, est-elle suffisante pour suppléer, même en partie, la fonction pulmonaire ?

Réponse

Je vous remercie également pour ces questions importantes. Pour répondre à la première, les matrices pulmonaires sont décellularisées et donc peu immunogènes, en dehors de réactions potentielles contre certaines protéines. Les matrices animales, en particulier après ensemencement par des cellules humaines dans un bioréacteur, devraient être ainsi bien tolérées chez l'homme d'un point de vue immunologique. De plus, l'utilisation de matrices d'origine animale fera disparaître le problème crucial de la disponibilité des greffons, ce qui ne serait pas le cas pour des matrices d'origine humaine sauf si elles étaient prélevées sur le cadavre à cœur arrêté. Pour répondre à la deuxième question, l'importance de la surface alvéolaire à recoloniser au niveau de la matrice pulmonaire sera, en effet, probablement l'une des grandes difficultés à surmonter pour obtenir un poumon bio-artificiel fonctionnel.

Commentaire de Y Chapuis

Je viens de vivre personnellement une séance exceptionnelle que nous devons à nos deux Présidents et aux communications remarquables de nos quatre orateurs. Cet hommage étant fait, je vais, au risque de contrarier, changer de débat.

Dans un avenir plus ou moins lointain, une échéance de 10 à 30 ans, la suppression de la fonction défaillante d'un organe, le contrôle de maladies dégénératives et métaboliques graves, des maladies d'origine génétiques, etc. va, dans les pays développés, augmenter et surtout permettre un vieillissement considérable de la population, à un coût probablement très élevé et surtout au prix de conséquences sociales, voire épigénétiques, qui inquiètent certains savants. C'est ainsi que Christian De Duve, membre associé étranger de l'ANM, prix Nobel de médecine, pose de façon aiguë la question des conséquences de ces progrès dans un livre récent intitulé *Génétique du péché originel* et nous interpelle - individus, médecins, sociétés savantes - en disant : « *N'est-il pas temps de réfléchir ?* ».

Or, ce courant existe ou s'instaure. C'est ainsi que le 9 décembre prochain se tiendra à l'Ecole normale supérieure, rue d'Ulm, sous l'égide de la Commission française pour l'Unesco, un séminaire ayant pour thème « Les scientifiques doivent-ils être responsables ? ». Responsables au plan éthique vis-à-vis de la Science, de leurs pairs mais aussi, et surtout, de la Société.

Alors tout en écoutant, admiratif et passionné, l'exposé de ces recherches vers un foie, un rein, un cœur, un poumon de remplacement neufs, je ne peux, dans le même temps, que m'interroger et vous en faire part.

Commentaire de JM Dubernard

Et la dimension économique ? Elle est encore très lointaine pour les organes autoconstruits ! Mais en ingénierie tissulaire (urètre, vessie, vagin, artère, cornée, ménisques), lorsqu'elle sera entrée dans la routine, et ce n'est pas si loin... qui fabriquera ces tissus à partir de fragments chez le même individu ? Il nous faut anticiper sur cette dimension, et je pense qu'une structure privée à fonds publics comme le LFB (Laboratoire français du Fractionnement et des Biotechnologies) devra y tenir une place significative.

Références

1. Hardy JD, Webb WR, Dalton ML Jr. Lung homotransplantations in man. JAMA 1963 ; 186 : 1065-72.
2. Stern M, Souillamas R, Tixier D, Mal H. Transplantation pulmonaire: la satisfaction des besoins en France. Rev Mal Respir 2008 ; 25 : 953-65.
3. Reynaud-Gaubert M, Boniface S, Métivier AC, Kessler R. Quand le pneumologue doit-il envisager la greffe pulmonaire pour un de ses patients adultes ? Indications, critères de sélection, préparation à la greffe. Rev Mal Respir 2008 ; 25 : 1251-9.

4. Mal H, Thabut G, Evrard P. Quand le pneumologue doit-il envisager la transplantation pulmonaire pour un de ses patients ? Critères d'inscription en liste d'attente : BPCO, fibrose pulmonaire idiopathique. *Rev Mal Respir* 2009 ; 26 : 183-90.
5. Philippe B, Dromer C, Mornex JF, Velly JF, Stern M. Quand le pneumologue doit-il envisager la greffe pulmonaire pour un de ses patients ? Critères d'inscription en liste d'attente : mucoviscidose, HTAP et maladies systémiques (sarcoïdose, histiocytose langerhansienne, lymphangioloïomyomatose et connectivites). *Rev Mal Respir* 2009 ; 26 : 423-35.
6. Dumonceaux M, Knoop C, Rondelet B, Estenne M. Complications de la transplantation pulmonaire : complications péri-opératoires, rejet aigu et chronique. *Rev Mal Respir* 2009 ; 26 : 639-53.
7. Knoop C, Dumonceaux M, Rondelet B, Estenne M. Complications de la transplantation pulmonaire : complications médicales. *Rev Mal Respir* 2010 ; 27 : 365-82.
8. Quétant S, Rochat T, Pison C. Résultats de la transplantation pulmonaire. *Rev Mal Respir* 2010 ; 27 : 921-38.
9. Ota K. Advances in artificial lungs. *J Artif Organs* 2010 ; 13 : 13-6.
10. Patroniti N, Bellani G, Pesanti A. Nonconventional support of respiration. *Curr Opin Crit Care* 2011 ; 17 : 527-32.
11. Martinod E, Seguin A, Radu D, Marquette CH, Carpentier A. Advances in tracheal surgery: are we close to finding the ideal tracheal substitute? *Rev Mal Respir* 2010 ; 27 : 554-64.
12. Martinod E, Aupecle B, Zegdi R, et al. Remplacement segmentaire de la trachée par une autogreffe aortique : la « trachée-artère ». *Presse Med* 1999 ; 28 : 1638.
13. Martinod E, Zakine G, Fornes P, Zegdi R, d'Audiffret A, et al. Metaplasia of aortic tissue into tracheal tissue. Surgical perspectives. *CR Acad Sci III* 2000 ; 323 : 455-60.
14. Martinod E, Zegdi R, Zakine G, Aupecle B, Fornes P, et al. A novel approach to tracheal replacement: the use of an aortic graft. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2001 ; 122 : 197-8.
15. Martinod E, Azorin J, Carpentier A. Tracheal replacement: new perspectives. *Rev Mal Respir* 2001 ; 18 : 639-43.
16. Martinod E, Seguin A, Pfeuty K, Fornes P, Kambouchner M, et al. Long-term evaluation of the replacement of the trachea with an autologous aortic graft. *Ann Thorac Surg* 2003 ; 75 : 1572-8.
17. Martinod E, Seguin A, Holder-Espinasse M, Kambouchner M, Duterque-Coquillaud M, et al. Tracheal regeneration following tracheal replacement with an allogenic aorta. *Ann Thorac Surg* 2005 ; 79 : 942-8; discussion 949.
18. Jaillard S, Holder-Espinasse M, Hubert T, Copin MC, Duterque-Coquillaud M, et al. Tracheal replacement with allogenic aorta in the pig. *Chest* 2006 ; 130 : 1397-404.
19. Seguin A, Martinod E, Kambouchner M, Campo GO, Dhote P, et al. Carinal replacement with an aortic allograft. *Ann Thorac Surg* 2006 ; 81 : 1068-74.
20. Seguin A, Radu D, Holder-Espinasse M, Bruneval P, Fialaire-Legendre A, et al. Tracheal replacement with cryopreserved, decellularized or glutaraldehyde treated aortic allografts. *Ann Thorac Surg* 2009 ; 87 : 861-7.
21. Makris D, Holder-Espinasse M, Wurtz A, Seguin A, Hubert T, et al. Tracheal replacement with cryopreserved allogenic aorta. *Chest* 2010 ; 137 : 60-7.
22. Radu D, Seguin A, Bruneval P, Fialaire-Legendre A, Carpentier A, Martinod E. Bronchial Replacement with arterial allografts. *Ann Thorac Surg* 2010 ; 90 : 252-8.
23. Wurtz A, Porte H, Conti M, Desbordes J, Copin MC, et al. Tracheal replacement with allogenic aorta. *N Engl J Med* 2006 ; 355 : 1938-40.
24. Wurtz A, Porte H, Conti M, Dusson C, Desbordes J, et al. Surgical technique and results of tracheal and carinal replacement with aortic allografts for salivary gland-type carcinoma. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2010 ; 140 : 387-93.e2.
25. Martinod E, Radu DM, Chouahnia K, Seguin A, Fialaire-Legendre A, et al. Human transplantation of a biologic airway substitute in conservative lung cancer surgery. *Ann Thorac Surg* 2011 ; 91 : 837-42.
26. Kamil SH, Eavey RD, Vacanti MP, Vacanti CA, Hartnick CJ. Tissue-engineered cartilage as a graft source for laryngotracheal reconstruction : a pig model. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2004 ; 130 : 1048-51.
27. Macchiarini P, Jungebluth P, Go T, Asnaghi MA, Rees LE, et al. Clinical transplantation of a tissue-engineered airway. *Lancet* 2008 ; 372 : 2023-30.
28. Delaere P, Vranckx J, Verleden G, De Leyn P, Van Raemdonck D. Tracheal allotransplantation after withdrawal of immunosuppressive therapy. *N Engl J Med* 2010 ; 362 : 138-45.
29. Uzunhan Y. Les cellules souches en pneumologie : de la thérapie cellulaire au bio-engineering du poumon. *Rev Mal Respir* 2011,3 : 8-14. In Press.
30. Coraux C, Roux J, Jolly T, Birembaut P. Epithelial cell-extracellular matrix interactions and stem cells in airway epithelial regeneration. *Proc Am Thorac Soc* 2008 ; 5 : 689-94.
31. Maoche K, Polette M, Jolly T, Medjber K, Cloëz-Tayarani I, et al. Alpha 7 nicotinic acetylcholine receptor regulates airway epithelium differentiation by controlling basal cell proliferation. *Am J Pathol* 2009 ; 175 : 1868-82.
32. Kim CF, Jackson EL, Woolfenden AE, Lawrence S, Vogel S, et al. Identification of bronchioalveolar stem cells in normal lung and lung cancer. *Cell* 2005 ; 121 : 823-35.
33. Serrano-Mollar A, Nacher M, Gay-Jordi G, Closa D, Xaubet A, Bulbena O. Intratracheal transplantation of alveolar type II cells reverses bleomycin-induced lung fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2007 ; 176 : 1261-8.
34. Kajstura J, Rota M, Hall SR, Hosoda T, D'Amario D, et al. Evidence for human lung stem cells. *N Engl J Med* 2011 ; 364 : 1795-806.
35. Chapman HA. Toward lung regeneration. *N Engl J Med* 2011 ; 364 : 1867-68.
36. Badri L, Walker NM, Ohtsuka T, Wang Z, Delmar M, et al. Epithelial interactions and local engraftment of lung-resident mesenchymal stem cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2011 ; 45 : 809-16.
37. Chistiakov DA. Endogenous and exogenous stem cells: a role in lung repair and use in airway tissue engineering and transplantation. *J Biomed Sci.* 2010 ; 17 : 92.
38. Roomans GM. Tissue engineering and the use of stem/progenitor cells for airway epithelium repair. *Eur Cell Mat* 2010 ; 19 : 284-99.
39. Ott HC, Clippinger B, Conrad C, Schuetz C, Pomerantseva I, et al. Regeneration and orthotopic transplantation of a bioartificial lung. *Nat Med* 2010 ; 16 : 927-33.
40. Petersen TH, Calle EA, Zhao L, Lee EJ, Gui L, et al. Tissue-engineered lungs for in vivo implantation. *Science* 2010 ; 329 : 538-41.