

Ophthalmologie^{MD}

Conférences scientifiques

2011
Volume 8, numéro 6

COMPTE RENDU DES CONFÉRENCES
SCIENTIFIQUES DU DÉPARTEMENT
D'OPHTALMOLOGIE ET
DES SCIENCES DE LA VISION,
FACULTÉ DE MÉDECINE,
UNIVERSITÉ DE TORONTO

La technologie des cellules souches limbiques de la cornée : élargissement des options pour la culture et la greffe cellulaires

PAR HALL F. CHEW, M.D., FRCSC

L'utilisation de la technologie des cellules souches comme thérapie médicale est passionnante, et l'ophtalmologie ouvre la voie dans ce domaine. Avec nos connaissances anatomiques et histopathologiques, la visibilité de l'œil facilite l'évaluation des traitements par greffe de cellules souches comparativement à d'autres organes neurologiques et viscéraux du corps humain. La plupart des débats sur les cellules souches ophtalmiques porte sur les pathologies du segment antérieur, mais il reste beaucoup à apprendre sur la complexité de la différenciation des cellules rétinienne, leur innocuité et l'intégration appropriée de ces cellules dans les systèmes neuro-rétiniens extrêmement complexes¹. Étant donné que les cellules souches limbiques (CSL) de la cornée sont déjà bien définies et permettent une évaluation plus facile, la technologie des cellules souches ophtalmiques est principalement utilisée dans le traitement du segment antérieur depuis 1997². Dans le présent numéro d'*Ophthalmologie – Conférences scientifiques*, nous fournissons un aperçu des normes actuelles utilisées pour le traitement des affections associées à une déficience en cellules souches limbiques et examinons les technologies thérapeutiques récentes utilisant l'expansion *ex vivo* de CSL cultivées de la cornée.

Déficience en cellules souches limbiques de la cornée

Les cellules épithéliales de la cornée sont autorenouvelables : les cellules épithéliales squameuses se renouvellent tous les 7 jours. Les CSL de la cornée sont constituées d'un épithélium non kératinisé, squameux et stratifié et sont situées dans la couche basale de l'épithélium dans la zone de transition entre les cellules épithéliales cornéennes et conjonctivales. Les CSL empêchent l'épithélium conjonctival d'envahir l'épithélium cornéen. On pense également qu'elles sont une source de renouvellement de l'épithélium cornéen³.

Les symptômes cliniques de la déficience en CSL incluent une vision réduite, une photophobie, des larmoiements, un blépharospasme, une inflammation chronique et une hyperémie ainsi que des épisodes douloureux récurrents⁴. L'examen à la lampe à fente montre des anomalies épithéliales récurrentes et persistantes, du tissu cicatriciel, une calcification, une conjonctivalisation de la cornée, une néovascularisation superficielle de la cornée, une réduction de la production de mucine et de larmes aqueuses, la kératinisation de l'ensemble de la surface oculaire, une ulcération et une fonte stromale conduisant à la perforation⁴.

Une déficience en CSL peut être due à de nombreuses causes et sa sévérité peut varier de légère, comme on le voit dans l'usure créée par les lentilles de contact (Figure 1) à sévère, dans le cas par exemple de brûlures chimiques (Figure 2) et de pemphigoïde cicatricielle oculaire (PCO ; Figure 3). Les causes de la déficience en CSL sont les suivantes : aniridie, dysplasie ectodermique, toxicité due à des médicaments topiques, lésions chimiques ou thermiques, rayonnement, syndrome de Stevens-Johnson (SSJ), PCO, cryothérapie, chirurgies multiples, port de lentilles de contact, néoplasie intra-épithéliale de la conjonctive et kératite microbienne⁴.

L'évolution de la greffe de cellules souches limbiques

En 1965, Barraquer⁵ a décrit la première autogreffe de cellules souches utilisant de l'épithélium cornéo-limbo-conjonctival prélevé d'yeux sains de patients ayant subi des brûlures



FACULTY OF MEDICINE
University of Toronto



Département
d'ophtalmologie et des
sciences de la vision

Département d'ophtalmologie et des sciences de la vision

Jeffrey Jay Hurwitz, M.D., Rédacteur
Professeur et président

Martin Steinbach, Ph.D.
Directeur de la recherche

The Hospital for Sick Children

Elise Heon, M.D.
Ophtalmologiste en chef

Mount Sinai Hospital

Jeffrey J. Hurwitz, M.D.
Ophtalmologiste en chef

Princess Margaret Hospital

(Clinique des tumeurs oculaires)
E. Rand Simpson, M.D.
Directeur, Service d'oncologie oculaire

St. Michael's Hospital

Alan Berger, M.D.
Ophtalmologiste en chef

Sunnybrook Health Sciences Centre

William S. Dixon, M.D.
Ophtalmologiste en chef

University Health Network

Toronto Western Hospital Division
Robert G. Devenyi, M.D.
Ophtalmologiste en chef

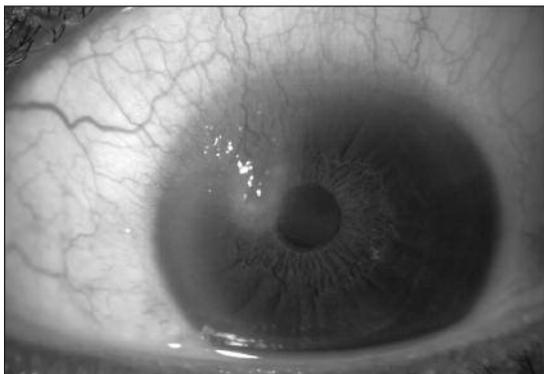
Département d'ophtalmologie et des sciences de la vision

Faculté de médecine
Université de Toronto
60 Murray St.
Bureau 1-003
Toronto (Ontario) M5G 1X5

Le contenu rédactionnel d'*Ophthalmologie – Conférences scientifiques* est déterminé exclusivement par le Département d'ophtalmologie et des sciences de la vision, Faculté de médecine, Université de Toronto.

Disponible sur Internet à : www.ophtalmologieconferences.ca

Figure 1 : Déficience partielle légère en cellules souches limbiques due au port de lentilles de contact. À noter la conjonctivalisation avec néovascularisation superficielle de la cornée à 11 heures.



chimiques unilatérales. La kératoépithélioplastie a été décrite par Thoft⁶ en 1984, celle-ci utilisant les lenticules cornéennes de globes oculaires entiers. La première greffe moderne de CSL a été décrite en 1989 par Kenyon et Tseng⁷ sur des patients présentant une atteinte unilatérale des CSL qui a permis la stabilisation de la surface oculaire dans 19 des 20 yeux. D'autres améliorations de cette technique ont permis d'optimiser le prélèvement et la greffe de plus grandes quantités de conjonctive et de CSL sur la surface oculaire de l'œil du receveur⁸⁻¹⁰. En 1997, Pellegrini et coll.² ont été les premiers à décrire l'utilisation avec succès d'épithélium cornéen autologue cultivé pour la restauration de la surface oculaire chez deux patients présentant des brûlures alcalines unilatérales sévères. Le succès de ces interventions a conduit aux progrès les plus récents réalisés dans la technologie des CSL avec l'expansion *ex vivo* de CSL de l'épithélium cornéen cultivées à des fins de greffe.

Traitement actuel de la déficience en CSL

La déficience partielle en CSL est définie comme une déficience de moins de 50 % de la population entière de

Figure 2 : Échec d'une kératoplastie pénétrante réalisée en raison d'une déficience subtotale en cellules souches limbiques due à une brûlure chimique.



Figure 3 : Déficience totale en cellules souches limbiques due à une pemphigoïde cicatricielle oculaire. Kératinisation complète de la surface oculaire avec perte des fornix.



CSL, la déficience subtotale en CSL est définie comme une déficience de plus de 50 % des CSL et la déficience totale en CSL est définie comme la perte de la population entière de CSL. Dans les cas de déficience partielle légère en CSL, où l'axe visuel central n'est pas touché et où le patient a conservé une bonne acuité visuelle, seule l'observation du patient est nécessaire. Des mesures conservatrices telles que la lubrification et l'élimination de toute cause responsable potentielle (i.e. port de lentilles de contact) doivent être prises. La déficience partielle symptomatique en CSL accompagnée d'irritation, de baisse de la vision et de signes de conjonctivalisation de la cornée, nécessite un débridement mécanique de l'épithélium conjonctival de la surface de la cornée avec des visites de suivi fréquentes¹¹. Ces mesures permettent à l'épithélium cornéen de guérir dans la région débridée.

Dans les cas de déficience sévère en CSL, il existe diverses interventions chirurgicales pour greffer des CSL, afin de former une nouvelle source d'épithélium cornéen après le débridement de l'épithélium irrégulier et de la néovascularisation à la surface de la cornée. En 1996, Holland et ses collaborateurs⁸ ont élaboré un système de classification pour le traitement chirurgical de l'atteinte sévère de la surface oculaire sur la base de 3 facteurs : la source de tissu utilisée, la réalisation d'une autogreffe ou d'une allogreffe et (s'il s'agit d'une allogreffe), si elle provient d'un donneur apparenté vivant ou d'un donneur décédé. La greffe de CSL nécessite également le prélèvement de tissu avec son support, étant donné qu'il est impossible de transplanter des CSL uniquement, d'où la nécessité de tissu conjonctival (greffe limbo-conjonctivale), de tissu cornéen (greffe kérato-limbique) ou les deux comme support pour les CSL⁴. Les quatre sections suivantes décrivent chaque groupe dans ce système de classification.

Autogreffe limbo-conjonctivale (AULC)

Dans l'AULC, le tissu limbique avec un support conjonctival est prélevé dans l'œil contro-latéral sain et est greffé dans l'œil déficient en CSL. Étant donné que c'est une autogreffe, un traitement immunosuppresseur systémique n'est pas nécessaire, ce qui est un immense avantage par rapport à l'allogreffe. L'AULC ne peut être

utilisée que dans les cas de déficience unilatérale en CSL comme dans les brûlures unilatérales. Il faut faire preuve de prudence en raison des risques pour l'œil donneur sain de développer une déficience iatrogène en CSL due au prélèvement de ses CSL aux fins d'une greffe¹². On ne peut avoir recours à l'AULC que lorsque l'œil donneur controlatéral a une surface oculaire saine sans risque de déficience future en CSL (p. ex. PCO ou SSJ asymétrique, ou antécédents de traumatisme de la surface oculaire).

Deux autogreffons limbo-conjonctivaux de forme trapézoïdale sont prélevés, chacun d'environ 6 mm au niveau du limbe, s'étendant sur 5 à 8 mm postérieurement dans la conjonctive bulbaire, avec une extension antérieure dans la cornée antérieurement aux palissades de Vogt. Ils sont généralement prélevés sur les méridiens de 12 heures et de 6 heures de l'œil donneur. L'attention est dirigée vers l'œil receveur. Une péritomie de 360° est réalisée avec l'excision de la conjonctive bulbaire qui s'étend postérieurement dans les quadrants supérieur et inférieur pour permettre le placement de deux autogreffons limbo-conjonctivaux de forme trapézoïdale. On effectue ensuite une kératectomie superficielle de l'ensemble de la surface cornéenne, en débrillant l'épithélium irrégulier et le pannus. Les autogreffons limbo-conjonctivaux sont ensuite suturés par des points séparés de filament de nylon 10-0^{13,14}.

Allogreffe limbo-conjonctivale provenant d'un donneur vivant apparenté (ALLC-DVA)

Dans l'ALLC-DVA, du tissu limbique sain avec son support conjonctival est prélevé chez un donneur vivant apparenté et greffé sur le patient. Chirurgicalement, la technique est similaire à l'AULC, mais deux interventions chirurgicales séparées sont nécessaires. Comparativement à l'allogreffe kérato-limbique (ALKL), l'ALLC-DVA qui utilise du tissu conjonctival convient aux patients présentant une atteinte de la conjonctive. L'avantage de l'ALLC-DVA comparativement à l'AULC est qu'on peut l'utiliser chez des patients présentant une déficience bilatérale en CSL, par exemple dans le SSJ et le PCO^{15,16}. Cependant, contrairement aux autogreffes, les allogreffes présentent un risque de rejet, et il est donc nécessaire d'administrer un traitement immunosuppresseur systémique ou topique aux patients¹⁷.

Les chirurgiens doivent sélectionner les patients receveurs et les donneurs sur la base de critères stricts. Le receveur doit être médicalement apte à recevoir, très probablement pour la vie, un traitement immunosuppresseur systémique. Le patient doit observer son traitement et se présenter aux consultations postopératoires avec le chirurgien ayant réalisé la greffe et les médecins chargés du suivi de la greffe, et doit également pouvoir se conformer à la surveillance et aux examens hématologiques postopératoires rigoureux. Les donneurs doivent être examinés à la recherche d'un risque potentiel de déficience iatrogène future en CSL. Seule une quantité limitée de CSL peut être prélevée sur le donneur et un moins grand nombre de CSL peut donc être greffé. Les patients présentant une déficience limitée en CSL sont donc plus aptes à recevoir une ALLC-DVA que ceux présentant une déficience totale en CSL^{13,14}.

Allogreffe kérato-limbique (ALKL)

Dans l'ALKL, le receveur reçoit du tissu limbique avec son support de tissu cornéen prélevé sur des yeux de donneur décédé. Ce type de greffe permet de greffer une plus grande quantité de CSL dans l'œil receveur. L'ALKL est idéale dans les cas de déficience bilatérale sévère en CSL, pour les patients présentant une déficience unilatérale en CSL n'étant pas désireux de risquer une déficience en CSL dans leur meilleur œil avec une AULC, ou chez les patients qui ne peuvent pas bénéficier d'ALLC-DVA provenant d'un donneur vivant apparenté désireux de faire don de ses cellules. L'ALKL est idéale pour des affections telles que l'aniridie et la déficience iatrogène en CSL avec atteinte conjonctivale légère ou modérée¹⁸. Cependant, l'ALKL seule ne doit pas être réalisée chez les receveurs présentant un film lacrymal inadéquat¹⁹, une inflammation active significative et/ou une atteinte conjonctivale avec kératinisation de la surface oculaire due à la perte de CSL et de cellules souches épithéliales conjonctivales²⁰. Comme nous l'avons mentionné précédemment, les allogreffes nécessitent un traitement immunosuppresseur systémique. La technique chirurgicale de cette intervention a été décrite en détail^{13,14,21}.

Allogreffe kérato-limbique et conjonctivale combinée (LGKL-C)

Dans l'ALKL-C, le receveur bénéficie d'une ALKL ainsi que d'une ALLC-DVA. C'est l'intervention de choix dans les cas d'atteinte de la surface oculaire entraînant la formation de tissu cicatriciel, telle que dans le SSJ, le PCO et les brûlures chimiques sévères. La greffe conjonctivale fournit des cellules calciformes fonctionnelles additionnelles pour améliorer la production de mucine dans la couche de larmes. Dans ces cas, la reconstruction du fornix conjonctival et des paupières est nécessaire. La collaboration avec un chirurgien oculoplasticien et possiblement un otorhinolaryngologiste (pour le prélèvement de muqueuse nasale à partir des cornets inférieurs) est nécessaire^{13,14}. Un traitement immunosuppresseur systémique doit être administré.

La technologie des cellules souches et la thérapie cellulaire épithéliale cornéenne

Il existe trois types de lignées de cellules souches : les cellules souches embryonnaires humaines (CSEh), les cellules souches pluripotentes induites (CSPi) et les cellules souches tissulaires. Les cellules souches initiales, les CSEh, proviennent de blastocystes humains et sont pluripotentes. Cependant, ces cellules sont associées à la tumorigénèse et à des problèmes de rejet immunologique. Les CSPi se sont différenciées des CSEh. Cependant, la culture de ces cellules produit un faible rendement avec des lignées cellulaires inconstantes. Les cellules souches tissulaires sont des cellules souches qui se sont à leur tour différenciées et qui sont des cellules progénitrices unipotentes ayant une tumorigénicité minimale et induisant une très faible réaction immunologique.

Les CSL de la cornée sont un exemple de cellules souches tissulaires qui ont été identifiées et utilisées avec succès pour réparer les atteintes de la surface oculaire. Les

CSL fournissent une source de renouvellement épithélial de la cornée. Elles sont constituées d'un épithélium non kératinisé, squameux et stratifié et sont situées dans la couche basale de l'épithélium dans la zone de transition entre les cellules épithéliales cornéennes et conjonctivales, appelée la niche de CSL. La microscopie confocale montre comment une lésion du limbe affecte la niche de CSL.

Expansion *ex vivo* des cellules souches limbiques de l'épithélium cornéen

La kératoplastie pénétrante est associée à un pronostic médiocre chez les patients présentant une déficience sévère en CSL. La greffe de CSL peut optimiser le taux de succès. Cependant, des risques sont associés à l'induction d'une déficience en CSL dans l'œil donneur et un traitement immunosuppresseur systémique est nécessaire si l'allogreffe provient d'un donneur vivant apparenté ou un donneur décédé.

En 1997, Pellegrini et ses collaborateurs² ont été les premiers à traiter avec succès deux patients présentant une déficience totale en CSL par la culture d'épithélium cornéen autologue. Une biopsie limbique de 1 mm² a été réalisée sur l'œil controlatéral sain des patients. Le tissu biopsique a été ensuite haché et traité avec de la trypsine, et les CSL ont été isolées et cultivées sur un plastique en utilisant une couche nourricière de fibroblastes 3t3 de souris irradiées à une dose létale. Les cellules progénitrices de l'épithélium cultivées ont été ensuite transplantées dans l'œil receveur en utilisant une lentille de contact souple comme support. Après un suivi de plus de deux ans, les chercheurs ont noté une réépithélialisation de l'ensemble de la cornée chez les deux patients. Cette étude de référence offre une nouvelle perspective pour le traitement de la déficience en CSL en réduisant le risque de morbidité chez le donneur et en maintenant une source autologue.

Dans les cas de déficience bilatérale en CSL telle que dans l'aniridie et le SSJ, une greffe allogénique de CSL, provenant d'un donneur vivant apparenté ou d'un donneur décédé, est nécessaire. Les rapports appuient cette technique, mais un succès à long terme n'a pas encore été établi^{23,24}.

Membrane amniotique et autres substrats-supports

La membrane amniotique humaine, la paroi interne du sac membraneux où se trouve l'embryon pendant la grossesse, est le substrat-support utilisé le plus fréquemment pour la culture et la greffe de CSL. La membrane amniotique fournit une niche favorable à la culture de CSL et assure leur survie et leur fonctionnalité. La membrane amniotique comprend des médiateurs anticicatrisants, anti-angiogéniques et anti-inflammatoires qui favorisent la réépithélialisation de la surface oculaire²⁵⁻²⁹. L'utilisation de la membrane amniotique simplifie la manipulation et la suture, tout en réduisant le risque d'infection potentielle associé à l'utilisation de cellules nourricières

(fibroblastes 3t3). La membrane amniotique joue également le rôle de membrane basale permettant la migration cellulaire.

La membrane amniotique est un substrat qui permet aux CSL de survivre et de proliférer. Cependant, son utilisation nécessite des examens coûteux chez le donneur, et la possibilité de la transmission d'une maladie virale existe. La membrane amniotique est également coûteuse, elle n'est pas facilement disponible et elle est semi-opaque, ce qui peut affecter la vision après l'intervention. Les méthodes de traitement de la membrane amniotique sont variables et peuvent rendre l'amnios inutilisable comme substrat pour la culture de CSL. On a noté que l'utilisation de glycérol comme agent cryoprotecteur lors du traitement de la membrane amniotique altère l'expansion des CSL, contrairement à uniquement employer d'une membrane amniotique congelée.

Divers autres substrats ou technologies ont été utilisés pour la greffe d'épithélium cornéen. Ceux-ci incluent : un substrat de fibrine ayant donné de bons résultats pendant un suivi de plus de 10 ans^{32,33} ; une nouvelle technologie de manipulation de feuillets cellulaires utilisant des boîtes de culture thermosensibles³⁴ ; la polymérisation par plasma d'acide acrylique pour recouvrir une lentille de contact pansement utilisée pour cultiver, transporter et immobiliser le tissu³⁵ ; des feuillets dépourvus de support utilisant une colle de fibrine commercialisée³⁶ ; et un sérum autologue incorporé dans le milieu de culture par une lentille de contact souple approuvée par la *Food and Drug Administration* américaine utilisée comme substrat, support et pansement pour protéger l'œil pendant la greffe et la guérison³⁷.

Autres sources de cellules épithéliales de la cornée pour les greffes

La greffe autologue de CSL et l'expansion *ex vivo* de CSL cultivées de l'épithélium cornéen ne nécessitent pas l'administration d'un traitement immunosuppresseur systémique. Cependant, dans les cas de déficience bilatérale totale en CSL où l'on ne peut pas prélever et cultiver pour leur expansion des CSL de l'épithélium cornéen autologue, il faut avoir recours à une allogreffe d'un donneur vivant apparenté ou d'un donneur décédé et administrer un traitement immunosuppresseur systémique à long terme. L'immunosuppression est associée à un risque accru de complications oculaires et systémiques graves.

D'autres sources de cellules épithéliales autologues ont été étudiées afin d'éviter la nécessité d'un traitement antirejet immunosuppresseur systémique chez des patients présentant une déficience bilatérale sévère en CSL. Les cellules épithéliales de la muqueuse buccale³⁸⁻⁴¹, les cellules souches mésenchymateuses⁴² et les cellules souches des follicules capillaires⁴³ pourraient être d'autres sources possibles.

La réplication *in vitro* de CSEh pluripotentes issues de blastocystes a été réalisée avec succès⁴⁴.

Cependant, leur utilisation à des fins thérapeutiques chez l'humain n'est possible que si l'on surmonte les problèmes de fonctionnalité, de rejet et d'éthique. Des CSPi ont été produites, mais des problèmes demeurent au niveau de la tumorigénicité, du rejet immunitaire, de l'identification plus précise d'une population de patients spécifique et de la définition d'un modèle approprié pour la réalisation d'études précliniques. L'adaptation de la technologie des CSEh et des CSPi à la thérapie humaine est un domaine passionnant qui continuera à évoluer et à se développer dans le futur.

Les défis posés par l'utilisation de la technologie des cellules souches limbiques de la cornée et le traitement au moyen de cette technologie

La technologie des SCL et l'utilisation de cette technologie à des fins thérapeutiques posent de nombreux défis. La plupart des méthodes d'expansion *ex vivo* des CSL nécessitent l'utilisation de produits animaux, de tissu/sérum humains étrangers et/ou de biomatériaux non approuvés, tous ces produits augmentant le risque potentiel d'infection xénobiotique. L'utilisation de CSEh est régie par des considérations éthiques de premier plan, étant donné qu'elles sont prélevées directement de blastocystes produits par fécondation *in vitro*. Les CSEh et les CSPi posent encore des problèmes tels que la tumorigénicité, le rejet immunitaire, l'identification plus précise d'une population de patients spécifique et la définition de modèles appropriés pour la réalisation d'études précliniques.

Il est difficile d'interpréter et de comparer l'efficacité de nombreuses études sur l'expansion *ex vivo* publiées en raison des variations existant entre ces études. Les principales variables sont les suivantes : techniques de culture utilisées ; sélection de patients receveurs pour le traitement (degré de déficience en CSL chez les receveurs) ; évaluation de l'efficacité du traitement (observation clinique *vs* cytologie par empreinte) ; absence de données sur les résultats obtenus (acuité visuelle non rapportée dans certaines séries) ; variation au niveau du suivi ; et utilisation combinée de greffes autologues et allogéniques dans certaines études^{23,47}. Malgré ces difficultés, les résultats sont positifs. Une revue récente résume les résultats de 15 études utilisant des autogreffes et révèle un taux de succès de 84 % dans 292 greffes ; dans 9 études utilisant des allogreffes, on a noté un taux de succès de 75 % dans 48 greffes⁴⁷. La réalisation d'autres études dont les variables ont été normalisées permettra d'interpréter plus facilement la technologie utilisée et l'issue thérapeutique.

Conclusion

La kératoplastie pénétrante est associée à un pronostic médiocre chez les patients présentant une déficience sévère en CSL. La greffe de CSL optimise le taux de succès, mais est associée au risque d'induire une déficience en CSL dans l'œil donneur, ainsi qu'à

la nécessité d'un traitement immunosuppresseur dans les cas d'une allogreffe réalisée à partir d'un donneur vivant apparenté ou d'un donneur décédé. L'utilisation clinique de l'expansion *ex vivo* de CSL autologues cultivées a été décrite pour la première fois en 1997². La modification de cette technique et son élargissement en utilisant une membrane amniotique et d'autres substrats (support) a facilité son utilisation comme traitement clinique.

La récente étude clinique de phase 1 de référence utilisant la technologie tissulaire pour produire une cornée biosynthétique a suscité un grand intérêt de la part des médias pour la technologie de la kératoplastie pénétrante⁴⁸. Une cornée biosynthétique minimise le risque de rejet, mais nécessite néanmoins de l'endothélium sain et des CSL chez le receveur, ce qui souligne l'importance de la technologie des SCL. Étant donné que la technologie des SCL et l'ingénierie tissulaire continuent à évoluer, les ophtalmologistes disposeront d'une pléthore d'options pour traiter les pathologies entraînant une déficience sévère en CSL, telles que les brûlures chimiques, le SSJ et le PCO sans la nécessité d'un traitement immunosuppresseur et de tissu de donneurs décédés.

Le D^r Chew est professeur adjoint dans le Département d'ophtalmologie et des sciences de la vision de l'Université de Toronto, et ophtalmologiste rattaché au Sunnybrook Health Sciences Centre de Toronto en Ontario.

Références

1. Lamba DA, Gust J, Reh TA. Transplantation of human embryonic stem cell-derived photoreceptors restores some visual function in Crx-deficient mice. *Cell Stem Cell*. 2009; 4(1):73-79.
2. Pellegrini G, Traverso CE, Franzl AT, Zingirian M, Cancedda R, De Luca M. Long-term restoration of damaged corneal surfaces with autologous cultivated corneal epithelium. *Lancet*. 1997;349(9057):990-993.
3. Tuli S, Goldstein M, Schultz GS. Modulation of corneal wound healing. In: Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ (eds.). *Cornea*, 2nd ed. Philadelphia (PA): Elsevier Mosby; 2005:133-150.
4. Dua HS, Azuara-Blanco A. Limbal stem cells of the corneal epithelium. *Surv Ophthalmol*. 2000;44(5):415-425.
5. Barraquer J. Special methods in corneal surgery. In King JH, McTigue JW, (eds.). *The Cornea World Congress*. Washington (DC): Butterworths; 1965:593-604.
6. Thoft RA. Indications for conjunctival transplantation. *Ophthalmology*. 1982;89(4):335-339.
7. Kenyon KR, Tseng SC. Limbal autograft transplantation for ocular surface disorders. *Ophthalmology*. 1989;96(5):709-722.
8. Holland EJ, Schwartz GS. The evolution of epithelial transplantation for severe ocular surface disease and a proposed classification system. *Cornea*. 1996;15(6):549-556.
9. Croasdale CR, Schwartz GS, Malling JV, Holland EJ. Keratolimbal allograft: recommendations for use, tissue procurement and preparation by eye banks, and standard surgical technique. *Cornea*. 1999;18(1):52-58.
10. Holland EJ, Djalilian AR, Schwartz GS. Management of aniridic keratopathy with keratolimbal allograft: a limbal stem cell transplantation technique. *Ophthalmology*. 2003;110(1):125-130.
11. Dua HS, Gomes JA, Singh A. Corneal epithelial wound healing. *Br J Ophthalmol*. 1994;78(5):401-408.
12. Jenkins C, Tuft S, Liu C, Buckley R. Limbal transplantation in the management of chronic contact-lens-associated epitheliopathy. *Eye*. 1993;7(Pt 5):629-633.

13. Holland EJ, Schwartz GS, Nordlund ML. Surgical techniques for ocular surface reconstruction. In: Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ (eds). *Cornea*, 2nd ed. Philadelphia (PA): Elsevier Mosby; 2005:1799-1812.
14. Biber JM, Holland EJ, Neff KD. Management of ocular stem cell disease. *Int Ophthalmol Clin*. 2010;50(3):25-34.
15. Daya SM, Ilari FA. Living related conjunctival limbal allograft for the treatment of stem cell deficiency. *Ophthalmology*. 2001;108(1):126-133.
16. Kwitko S, Marinho D, Barcaro S, et coll. Allograft conjunctival transplantation for bilateral ocular surface disorders. *Ophthalmology*. 1995;102(7):1020-1025.
17. Rao K, Rajagopal R, Sitalakshmi G, Padmanabhan P. Limbal allografting from related live donors for corneal surface reconstruction. *Ophthalmology*. 1999;106(4):822-828.
18. Schwartz GS, Holland EJ. Iatrogenic limbal stem cell deficiency. *Cornea*. 1998;17(1):31-37.
19. Shimazaki J, Shimmura S, Fujishima H, Tsubota K. Association of preoperative tear function with surgical outcome in severe Stevens-Johnson syndrome. *Ophthalmology*. 2000;107(8):1518-1523.
20. Tsubota K, Shimazaki J. Surgical treatment of children blinded by Stevens-Johnson syndrome. *Am J Ophthalmol*. 1999;128(5):573-581.
21. Lim LT, Bhatt PR, Ramaesh K. Harvesting keratolimbal allografts from corneoscleral buttons: a novel application of cyanoacrylate adhesive. *Br J Ophthalmol*. 2008;92(11):1550-1551.
22. Shortt AJ, Secker GA, Munro PM, Khaw PT, Tuft SJ, Daniels JT. Characterization of the limbal epithelial stem cell niche: novel imaging techniques permit in vivo observation and targeted biopsy of limbal epithelial stem cells. *Stem Cells*. 2007;25(6):1402-1409.
23. Shortt AJ, Secker GA, Notara MD, et coll. Transplantation of ex vivo cultured limbal epithelial stem cells: a review of techniques and clinical results. *Surv Ophthalmol*. 2007;52(5):483-502.
24. Daya SM, Watson A, Sharpe JR, et coll. Outcomes and DNA analysis of ex vivo expanded stem cell allograft for ocular surface reconstruction. *Ophthalmology*. 2005;112(3):470-477.
25. Tseng SCG, Prabhawat P, Barton K, Gray T, Meller D. Amniotic membrane transplantation with or without limbal allografts for corneal surface reconstruction in patients with limbal stem cell deficiency. *Arch Ophthalmol*. 1998;116(4):431-441.
26. Schwab IR, Reyes M, Isseroff RR. Successful transplantation of bioengineered tissue replacements in patients with ocular surface disease. *Cornea*. 2000;19(4):421-426.
27. Shimazaki J, Aiba M, Goto E, Kato N, Shimmura S, Tsubota K. Transplantation of human limbal epithelium cultivated on amniotic membrane for the treatment of severe ocular surface disorders. *Ophthalmology*. 2002;109(7):1285-1290.
28. Grueterich M, Espana E, Tseng SC. Connexin 43 expression and proliferation of human limbal epithelium on intact and denuded amniotic membrane. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2002;43(1):63-71.
29. Tsai RJ, Li LM, Chen JK. Reconstruction of damaged corneas by transplantation of autologous limbal epithelial cells. *N Engl J Med*. 2004;343(2):86-93.
30. Dua HS, Gomes JA, King AJ, Maharajan VS. The amniotic membrane in ophthalmology. *Surv Ophthalmol*. 2004;49(1):51-77.
31. Shortt AJ, Secker GA, Lomas RJ, et coll. The effect of amniotic membrane preparation method on its ability to serve as a substrate for the ex-vivo expansion of limbal epithelial cells. *Biomaterials*. 2009;30(6):1056-1065.
32. Rama P, Bonini S, Lambiase A, et coll. Autologous fibrin-cultured limbal stem cells permanently restore the corneal surface of patients with total limbal stem cell deficiency. *Transplantation*. 2001;72(9):1478-1485.
33. Rama P, Matuska S, Paganoni G, Spinelli A, De Luca M, Pellegrini G. Limbal stem-cell therapy and long-term corneal regeneration. *N Engl J Med*. 2010;363(2):147-155.
34. Nishida K, Yamato M, Hayashida Y, et coll. Functional bioengineered corneal epithelial sheet grafts from corneal stem cells expanded ex vivo on a temperature-responsive cell culture surface. *Transplantation*. 2004;77(3):379-385.
35. Notara M, Bullett NA, Deshpande P, Haddow DB, MacNeil S, Daniels JT. Plasma polymer coated surfaces for serum-free culture of limbal epithelium for ocular surface disease. *J Mater Sci Mater Med*. 2007;18(2):329-338.
36. Higa K, Shimazaki J. Recent advances in cultivated epithelial transplantation. *Cornea*. 2008;27(Suppl 1):S41-S47.
37. Di Girolamo N, Bosch M, Zamora K, Coroneo MT, Wakefield D, Watson SL. A contact lens-based technique for expansion and transplantation of autologous epithelial progenitors for ocular surface reconstruction. *Transplantation*. 2009;87(10):1571-1578.
38. Notara M, Alatza A, Gilfillan J, et coll. In sickness and in health: corneal epithelial stem cell biology, pathology and therapy. *Exp Eye Res*. 2010;90(2):188-195.
39. Nakamura T, Inatomi T, Sotozono C, Amemiya T, Kanamura N, Kinoshita S. Transplantation of cultivated autologous oral mucosal epithelial cells in patients with severe ocular surface disorders. *Br J Ophthalmol*. 2004;88(10):1280-1284.
40. Nishida K, Yamato M, Hayashida Y, et coll. Corneal reconstruction with tissue-engineered cell sheets composed of autologous oral mucosal epithelium. *N Engl J Med*. 2004;351(12):1187-1196.
41. Inatomi T, Nakamura T, Koizumi N, Sotozono C, Yokoi N, Kinoshita S. Midterm results on ocular surface reconstruction using cultivated autologous oral mucosal epithelial transplantation. *Am J Ophthalmol*. 2006;141(2):267-275.
42. Ye J, Yao K, Kim JC. Mesenchymal stem cell transplantation in a rabbit corneal alkali burn model: engraftment and involvement in wound healing. *Eye (Lond)*. 2006;20(4):482-490.
43. Blazejewska EA, Schlötzer-Schrehardt U, Zenkel M, et coll. Corneal limbal microenvironment can induce transdifferentiation of hair follicle stem cells into corneal epithelial-like cells. *Stem Cells*. 2009;27(3):642-652.
44. Ahmad S, Stewart R, Yung S, et coll. Differentiation of human embryonic stem cells into corneal epithelial like cells by in vitro replication of the corneal epithelial stem cell niche. *Stem Cells*. 2007;25(5):1145-1155.
45. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et coll. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*. 2007;131(5):861-872.
46. Park IH, Zhao R, West JA, et coll. Reprogramming of human somatic cells to pluripotency with defined factors. *Nature*. 2008;451(7175):141-146.
47. Ahmad S, Kolli S, Lako M, Figueiredo F, Daniels JT. Stem cell therapies for ocular surface disease. *Drug Discov Today*. 2010;15(7-8):306-313.
48. Fagerholm P, Lagali NS, Merrett K, et coll. A biosynthetic alternative to human donor tissue for inducing corneal regeneration: 24-month follow-up of a phase 1 clinical study. *Sci Transl Med*. 2010;2(46):46-61.

Divulgateur financier : Le Dr Chew n'a aucune divulgation à faire en association avec le contenu de cette publication.

Les avis de changement d'adresse et les demandes d'abonnement pour *Ophthalmologie – Conférences Scientifiques* doivent être envoyés par la poste à l'adresse C.P. 310, Succursale H, Montréal (Québec) H3G 2K8 ou par fax au (514) 932-5114 ou par courrier électronique à l'adresse info@snellmedical.com. Veuillez vous référer au bulletin *Ophthalmologie – Conférences Scientifiques* dans votre correspondance. Les envois non distribuables doivent être envoyés à l'adresse ci-dessus. Poste-publications #40032303

La version française a été révisée par le professeur Pierre Lachapelle, Montréal.

L'élaboration de cette publication a bénéficié d'une subvention à l'éducation de
Novartis Pharmaceuticals Canada Inc.

© 2011 Département d'ophtalmologie et des sciences de la vision, Faculté de médecine, Université de Toronto, seul responsable du contenu de cette publication. Édition : SNELL Communication Médicale Inc. avec la collaboration du Département d'ophtalmologie et des sciences de la vision, Faculté de médecine, Université de Toronto. ^{MD}*Ophthalmologie – Conférences scientifiques* est une marque déposée de SNELL Communication Médicale Inc. Tous droits réservés. L'administration d'un traitement thérapeutique décrit ou mentionné dans *Ophthalmologie – Conférences scientifiques* doit toujours être conforme aux renseignements d'ordonnance approuvés au Canada. SNELL Communication Médicale se consacre à l'avancement de l'éducation médicale continue de niveau supérieur.