

①⑨ RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

①① N° de publication :
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

2 902 011

②① N° d'enregistrement national : **06 05190**

⑤① Int Cl⁸ : A 61 K 45/00 (2006.01)

①②

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②② Date de dépôt : 12.06.06.

③③ Priorité :

④③ Date de mise à la disposition du public de la
demande : 14.12.07 Bulletin 07/50.

⑤⑥ Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du
présent fascicule*

⑥① Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

⑦① Demandeur(s) : INSTITUT DE RADIOPROTECTION
ET DE SURETE NUCLEAIRE Etablissement public —
FR.

⑦② Inventeur(s) : TAMARAT RADIA et BENDERITTER
MARC.

⑦③ Titulaire(s) :

⑦④ Mandataire(s) : REGIMBEAU.

⑤④ UTILISATION DE FRACTIONS CELLULAIRES DU TISSU ADIPEUX POUR LA REGENERATION TISSULAIRE
POST IRRADIATION.

⑤⑦ La présente invention concerne l'utilisation de cellules
issues de la fraction du stroma vasculaire du tissu adipeux
extra médullaire, pour la favoriser la régénération tissulaire
à la suite de lésions causées par irradiation.

Plus particulièrement l'utilisation selon l'invention est
destinée à la préparation d'un médicament pour favoriser la
régénération de la peau, notamment pour réparer les plaies
cutanées causées par irradiation.

FR 2 902 011 - A1



La présente invention concerne l'utilisation de cellules issues de la fraction du stroma
5 vasculaire du tissu adipeux extra médullaire, pour favoriser la régénération tissulaire à
la suite de lésions causées par irradiation.

Le processus cicatriciel nécessite la mise en œuvre de mécanismes biologiques et
moléculaires complexes et parfaitement orchestrés, tels que la migration cellulaire, la
10 prolifération cellulaire, ou le dépôt de matrice extracellulaire. Une lésion induite
constitue le point de départ d'une cascade d'événements comprenant des interactions
entre des facteurs de croissances locaux, régionaux et systémiques, ainsi que la
participation au niveau cellulaire de différents acteurs dont les cellules souches de la
moelle osseuse. Une perturbation dans ces mécanismes complexes a des conséquences
15 invalidantes pour les sujets atteints, notamment des conséquences physiques ou sur
leur qualité de vie et peuvent même aller jusqu'à la mort. C'est le cas lorsque des
infections apparaissent et conduisent dans les cas les plus graves à des amputations de
membres, ou plus généralement à des interventions chirurgicales lourdes.

20 Dans le domaine des lésions cutanées, une blessure provoque une destruction plus ou
moins profonde des tissus, et une hypoxie qui conduit à une régulation de facteurs de
croissance, une activation de la dégradation de la matrice, et une stimulation de
l'angiogenèse. Après seulement quelques heures, la migration et la prolifération de
cellules épidermales et dermales constituent les facteurs déclenchant de la re-
25 épithélialisation. La formation d'un nouveau réseau vasculaire est également
nécessaire pour soutenir les tissus nouvellement formés. Toutefois, il a été démontré
que de nombreuses situations pathologiques conduisent à des dysfonctionnements
dans l'angiogenèse, à la perte de kératinocytes, et détériorent ainsi la régénération de la
peau.

30

Les thérapies actuellement utilisées font essentiellement appel à la chirurgie,
accompagnées parfois de l'administration de médicaments adaptés tels que des

antibiotiques. Des thérapies faisant appel à des facteurs de croissances ont aussi été envisagées, notamment avec l'administration de PDGF-BB et de bFGF, ou encore le recours à des thérapies cellulaires. Elles permettent de favoriser la réparation des plaies et peuvent être utilisées seules ou en complément d'autres thérapies ou chirurgies. Des techniques mettant en œuvre des cellules régénératrices ont connu un relatif succès. Elles consistent à utiliser l'habilité des cellules souches à s'auto-renouveler indéfiniment, et à se différencier en cellules et tissus matures spécialisés. Toutefois ces méthodes requièrent des technologies de pointe et engendrent des coûts très importants dus à la disponibilité des matières premières, à leur obtention et à leur purification. Elles sont également très dépendantes d'éventuels phénomènes de contamination par des micro-organismes et de délais relativement importants pour la préparation des matières premières. Ces thérapies cellulaires semblent être les plus prometteuses

Comme indiqué précédemment, différents états pathologiques perturbent les phénomènes de réparation des lésions. C'est le cas des irradiations qui modifient l'angiogenèse et la re-épithélialisation. Plusieurs études ont ainsi montré que des radiations pouvaient conduire à une desquamation sèche associée à une kératinisation atypique de la peau, ou bien à une perte d'épiderme accompagnée d'ulcération. Des changements vasculaires se produisent également, incluant des occlusions, des oedèmes, des thromboses, ou des pertes de vaisseaux. Par exemple, au niveau cutané, les lésions sont de natures différentes de celles que l'on observe dans le cas de blessures ou autres lésions pathologiques. Ces phénomènes se traduisent par un ralentissement du processus de cicatrisation.

Dans ce contexte post-irradiation, qu'il soit accidentel, ou provoqué par une radiothérapie, il est donc très important de pouvoir mettre en œuvre des mécanismes efficaces de réparation des lésions, notamment cutanées.

Pour la mise en œuvre de thérapies cellulaires, différentes sources de cellules souches ont été envisagées. Dans un premier temps les cellules souches ont été isolées à partir de tissus embryonnaires, mais récemment la présence de cellules souches pluripotentes a été mise en évidence dans différents tissus adultes tels que la moelle osseuse, la peau, le cerveau, les muscles, et le tissu adipeux. De telles cellules souches sont ainsi

plus facilement disponibles que des cellules embryonnaires, et leur utilisation ne comporte pas les mêmes problèmes éthiques. L'utilisation de cellules souches est limitée par leur faible nombre dans la plupart des tissus adultes, et par la difficulté de les extraire et de les purifier. De nouvelles voies d'accès ont été proposées (WO-
5 2005/035742) pour l'obtention de cellules souches, en particulier à partir du tissu adipeux.

Le tissu adipeux peut en effet constituer un réservoir important, dans lequel les cellules souches sont comparativement faciles à isoler, et en des quantités relativement
10 importantes. Elles permettent en outre de s'affranchir de l'existence d'un donneur compatible comme c'est le cas lors de l'utilisation de cellules provenant de la moelle osseuse. Elles permettent aussi d'envisager des « auto-greffes », évitant ainsi les échecs liés à d'éventuels rejets.

Le tissu adipeux existe sous différentes formes chez les mammifères. Le tissu adipeux blanc extramedullaire, principal organe de réserve de l'organisme, le tissu adipeux
15 blanc médullaire, et le tissu adipeux brun thermogénique. Le tissu adipeux blanc constitue une source abondante de cellules, faciles à obtenir. De plus son potentiel persiste tout au long de la vie. Il est constitué de deux fractions cellulaires : une fraction adipocytaire caractérisée par l'accumulation de triglycérides, et composée en
20 grande majorité d'adipocytes différenciés, et une fraction non-adipocytaire appelée fraction du stroma vasculaire (FSV) comprenant des cellules sanguines, des cellules endothéliales matures, des péricytes, des fibroblastes, et des cellules souches pluripotentes. La fraction du stroma vasculaire comprend, outre des progéniteurs adipocytaires, des progéniteurs hématopoïétiques et neurogéniques, ainsi que des
25 cellules souches mésenchymateuses capables de se différencier en lignées oestrogéniques, chondrogéniques, et myogéniques (WO-02/055678).

Le tissu adipeux blanc possède des propriétés angiogéniques ayant des applications en thérapie cellulaire autologue dans un contexte post-traumatique ou pathologique.
30 L'injection de tissus adipeux autologue est notamment pratiquée en chirurgie pour favoriser la re-vascularisation des greffes et la reconstruction des tissus mous. Des cellules issues de la FSV ont aussi été administrées pour favoriser l'angiogenèse dans

le traitement de pathologies ischémiques. Les cellules de la FSV représentent une population hétérogène de cellules entourant les adipocytes dans les tissus gras, et incluent des cellules endothéliales microvasculaires matures. Cette fraction a aussi été identifiée comme source importante de cellules pluripotentes capables de se différencier en phénotypes neurogéniques, cardiomyocytes, et plus récemment comme possédant une activité angiogénique. La FSV intervient dans la formation d'un modèle de matrigel et augmente la néovascularisation de tissus ischémiés (WO 2005/025584). De plus, des lignées cellulaires adipocytaires possèdent la capacité de libérer des facteurs pro-angiogéniques importants tels que le monobutryl, le facteur de croissance vasculaire endothélial (VEGF) et la leptine.

L'utilisation de cellules issues du FSV dans les thérapies cellulaires présente donc un intérêt majeur et reconnu. Ainsi elles ont été proposées dans le cadre du traitement des myopathies, des cardiopathies, et d'autres maladies dans lesquelles on observe une dégénérescence musculaire. Leur intérêt dans la reconstruction de réseaux vasculaires fonctionnels a aussi été étudié.

La Demanderesse a, de façon surprenante, mis en évidence que des cellules issues de la fraction du stroma vasculaire du tissu adipeux extra médullaire présentent un intérêt considérable dans le traitement de lésions dans un contexte précis de post-irradiations.

Ainsi la présente invention concerne l'utilisation de cellules issues de la fraction du stroma vasculaire du tissu adipeux extra médullaire, pour la préparation d'un médicament destiné à favoriser la régénération tissulaire à la suite de lésions causées par irradiation.

Dans un aspect avantageux, l'invention concerne l'utilisation de cellules issues de la fraction du stroma vasculaire du tissu adipeux extra médullaire, pour la préparation d'un médicament destiné à favoriser la régénération de la peau, et notamment des kératinocytes, à la suite de lésions causées par des irradiations. Plus particulièrement les lésions sont des plaies cutanées causées par irradiations.

Jusqu'alors, de nombreux travaux ont proposé de stimuler le processus de cicatrisation de manière pharmacologique, par l'administration d'agents pro-angiogéniques, ou de molécules pro-inflammatoires. Les méthodes cellulaires connues font appel à l'utilisation de cellules de la moelle osseuse, ou à des cellules du sang. Dans le
5 contexte de cicatrisation pathologique post-irradiation, des cellules issues du tissu adipeux n'ont jamais été utilisées.

Les lésions et plus particulièrement les plaies et/ou des brûlures cutanées causées par des irradiations, qu'elles soient accidentelles ou provoquées par des traitements de
10 radiothérapie, sont de nature différentes des traumatismes physiopathologiques. L'épiderme et les kératinocytes sont atteints, l'élasticité des tissus est diminuée et le processus de cicatrisation est considérablement ralenti.

L'utilisation de cellules issues de la FSV du tissu adipeux extra médullaire permet
15 d'agir en accélérant la fermeture des cicatrices, en agissant au niveau de la différenciation des kératinocytes, et/ou de la viscoélasticité de la peau en particulier par augmentation de la production de collagène. Elle présente l'avantage de pouvoir disposer d'une quantité de tissus et de cellules très importante et ne pose pas de problèmes éthiques particuliers. Il est en outre possible d'envisager des greffes
20 homologues ou hétérologues, et la capacité à traiter plusieurs personnes à partir d'un seul individu. La mise en œuvre de l'utilisation selon l'invention est grandement facilitée par la provenance des cellules utilisées. En effet il est possible de maintenir, multiplier, voire d'immortaliser les cellules in vitro dans un milieu défini. Il est envisageable de maintenir les cellules congelées et de constituer des stocks de cellules
25 disponibles.

Les lésions et plus particulièrement les plaies cutanées étant réparées beaucoup plus rapidement lors de l'utilisation selon la présente invention, les tissus sont plus rapidement protégés de tout agent pathogène extérieur.

30

Les avantages en terme de coût sont également importants. L'obtention des cellules souches est facilitée par leur provenance, et les protocoles sont plus simples et moins

coûteux. En effet beaucoup de prélèvements effectués notamment lors de liposuction ou de dermolipectomie sont d'habitude détruits. Les méthodes de prélèvement sont peu invasives, et les temps d'hospitalisation et de soins qui en découlent pour les patients s'en trouvent considérablement réduits. Tous ces facteurs contribuent à
5 diminuer le coût de la mise en œuvre des traitements évoqués ci-dessus.

Dans un autre aspect, la présente invention concerne l'utilisation de cellules issues de la fraction du stroma vasculaire du tissu adipeux extra médullaire pour favoriser la régénération tissulaire à la suite de lésions causées par irradiation, dans des tissus
10 choisis parmi la peau, les os, le cerveau, le cou, l'intestin, les seins, le cœur, les poumons, l'utérus et le rectum.

L'utilisation de cellules issues de la fraction du stroma vasculaire du tissu adipeux extra médullaire selon la présente invention trouve une application dans de nombreux
15 domaines. Les radiations responsables des lésions peuvent être accidentelles, ou bien causées par des traitements de radiothérapie. C'est en particulier le cas pour les patients atteints de cancer.

Les médicaments utilisés dans le cadre de la présente invention peuvent être utilisés à
20 titre préventif et administrés avant l'irradiation. Ils peuvent bien sûr aussi être utilisés à titre curatif, et administrés après l'irradiation.

Les cellules du tissu adipeux sont directement obtenues à partir de fragments de tissus adipeux prélevés sous anesthésie. Après digestion enzymatique de la matrice extra-
25 cellulaire, les différentes populations cellulaires sont sélectionnées par différence de densité ou par différence d'expression d'antigènes. La fraction du stroma-vasculaire utilisée pour la mise en œuvre de la présente invention ne contenant pas les adipocytes est ainsi isolée.

30 Selon un mode de réalisation avantageux de l'invention, les cellules sont obtenues par les étapes successives suivantes :

- prélèvement d'un échantillon de tissu adipeux extra-médullaire,

- isolement selon les procédés décrits par Bjorntorp et al (J.Lipid Res., 1978, 19, p. 316-324) de la fraction cellulaire du stroma vasculaire par digestion de la matrice par des enzymes protéolytiques, et par séparation selon le gradient de densité,
- 5 - purification des cellules par séparation physique et/ou par immunosélection.

La séparation physique est réalisée par différence d'adhésion sur un support solide, et l'immunosélection est réalisée à l'aide de plusieurs anticorps spécifiques des marqueurs exprimés par les précurseurs adipocytaires (CD 34+, CD45- et CD31-).

10

Les cellules issues de la FSV du tissu adipeux extra médullaire sont utilisées selon l'invention pour préparer un médicament se présentant sous la forme d'une composition pharmaceutique contenant les cellules issues de la fraction du stroma vasculaire du tissu adipeux extra médullaire, et au moins un véhicule et/ou support pharmaceutiquement acceptable. Cette composition pharmaceutique est adaptée à toute forme d'administration habituellement envisagée. Parmi les formes pharmaceutiques, on peut citer plus particulièrement celles qui conviennent à l'administration parentérale, per- ou transcutanée, les crèmes, les pommades, les sprays, les gels, les ampoules et/ou solutés injectables. La posologie varie avec l'âge et le poids du patient, la voie d'administration, ou les éventuels traitements associés.

20

Dans un aspect de l'invention, l'utilisation des cellules issues de la fraction du stroma vasculaire du tissu adipeux extra médullaire, est destinée à la préparation d'un médicament sous forme de spray, de gel, ou de soluté injectable. En particulier ces compositions pharmaceutiques peuvent se présenter sous forme d'aérosols.

25

Dans un autre aspect de l'invention les cellules issues de la fraction du stroma vasculaire du tissu adipeux extra médullaire sont utilisées pour la préparation de dermes équivalents, tel que l' INTEGRA[®], et destinés à favoriser la régénération tissulaire à la suite de lésions causées par irradiation. Ces dermes équivalents sont destinés à administrer les cellules dans une matrice de collagène que constitue l'INTEGRA[®]. Le support polymérique ou copolymérique est solide ou semi-solide

30

L'INTEGRA[®] est une peau artificielle, ou structure de régénération cutanée. C'est un système de membrane à double couche visant à un remplacement cutané. La couche de remplacement dermique est fabriquée notamment à partir d'une matrice poreuse de fibres de collagène de tendon bovin réticulées et d'un glycosaminoglycane dont la

porosité est contrôlée et la vitesse de dégradation définie lors de sa fabrication. Plus particulièrement, dans cet aspect, les Dermes équivalents sont utiles dans le traitement des brûlures causées par irradiation.

Les exemples suivants illustrent l'invention mais ne la limitent en aucune façon.

Description des figures :

Figure 1 : Observation de l'évolution de la cicatrice des souris dans un contexte pathologique, post-irradiation.

Figure 2 : Observation de l'évolution de la cicatrice des souris dans un contexte physiologique, sans irradiation.

Figure 3 : Histogrammes des mesures de l'ouverture de cicatrice restante à J 14 (Fig. 3A), et de la viscoélasticité à J 14 (Fig. 3B).

Exemple 1 : Obtention et préparation des tissus adipeux.

Un fragment de tissu adipeux est prélevé au niveau du tissu adipeux sous cutané chez la souris sous anesthésie. Après digestion de la matrice extra-cellulaire par des enzymes protéolytiques, à 37° C dans de la collagénase pendant 45 min, pour permettre la dissociation des cellules du tissu, les différentes populations cellulaires sont sélectionnées par différence de densité selon les procédés décrits par Bjornorp et al (J.Lipid Res., 1978, 19, p. 316-324) ou par différence d'expression d'antigènes. La fraction cellulaire qui ne contient pas les adipocytes correspond à la fraction du stroma vasculaire. Ces cellules sont marquées CD 34 +, CD 45- et CD 31.

Exemple 2 : Effet des fractions cellulaires selon l'invention sur la cicatrisation.

Une irradiation localisée de 20 Gy est réalisée sur la face dorsale de l'animal après avoir rasé et anesthésié les souris. Cette irradiation est réalisée avant l'application d'un punch.

- Modèle de cicatrisation :

On applique un punch de 0,8 mm de diamètre sur la face dorsale de souris mâles âgées de 8 semaines (C57B16, Iffa Creddo), afin de réaliser une plaie. Immédiatement après l'application du punch, les cellules obtenues à l'exemple 1 sont injectées en local (loc) ou par voie intra-veineuse (iv). Les animaux reçoivent 1×10^6 cellules et les contrôles reçoivent le solvant, du tampon phosphate salin.

Chaque groupe d'expérience est constitué de 5 individus.

Les expériences sont répétées sans irradiation préalable des souris.

- Evaluation de la technique de cicatrisation :

La diminution de la surface de la plaie est évaluée par observation directe à différents temps : J0, J4, J7, J10 et J14. L'évolution de la cicatrice des souris est suivie par photographie. Les résultats sont reportés à la figure 1 (IR, IR Loc, IR iv).

Ces observations sont comparées à l'évolution de la même cicatrice réalisée dans un contexte physiologique (CT, CT Loc, CT iv), c'est-à-dire sans irradiation préalable (voir figure 2).

Les mesures de surfaces sont réalisées à l'aide d'un logiciel d'analyse d'image (Histolab), dans les deux conditions de cicatrifications : physiologique et pathologique. Elles sont reportées dans le tableau (I) suivant qui donne les valeurs de l'ouverture de cicatrice restant à J14. Ces valeurs sont exprimées en pourcentage restant par rapport à J0 fixé comme étant 100 %.

Tableau I

Contexte Animaux	PATHOLOGIE IRRADIATION			PHYSIOLOGIE SANS IRRADIATION		
	Contrôle	I loc	I i.v	Contrôle	I loc	I i.v
1	24,9	7,7	11,9	6,3	0,7	1,5
2	55	3,7	8,6	23,8	0,3	6,2
3	31,5	10,59	6,7	10,5	0,3	3,2
4	44,9	7,34	5,3	4,7	0,8	1,4
5	44,15	45,1	34,8	11,1	0,8	5,7
Moyenne	37,4	14,8	13,4	11	0,58	3,6
Ecart type	5,3	7,6	5,4	4,3	0,1	1

5 Les histogrammes correspondant sont représentés figure 3A.

- Mesure de la qualité de la cicatrice par la technique du cutomètre :

Cette mesure a pour but de vérifier que la régénération tissulaire est associée à une amélioration de la qualité du tissu. En fin de processus cicatriciel, une sonde de 2 mm
 10 est appliquée pour aspirer la peau dorsale de l'animal et estimer le paramètre de viscoélasticité cutané au niveau du tissu régénéré. L'application de la sonde permet de réaliser une succion puis une relaxation de la peau. La déformation de la peau est estimée à l'aide d'un système de mesure optique qui permet de délivrer un graphique avec des mesures de l'élasticité et de la relaxation cutané. De la même façon que
 15 précédemment, les mesures sont réalisées en parallèle dans un contexte pathologique, sur des animaux ayant été irradiés, et dans un contexte physiologique, sur des animaux n'ayant pas subi d'irradiation préalable.

Les résultats des mesures de viscoélasticité sont reportés dans le tableau (II) ci-
 20 dessous, exprimés en unités arbitraires.

Tableau II

Contexte Animaux	PATHOLOGIE IRRADIATION			PHYSIOLOGIE SANS IRRADIATION		
	Contrôle	I loc	I i.v	Contrôle	I loc	I i.v
1	6,9	14,7	10,7	12,7	14,7	6,9
2	8,83	12,3	13,99	11,8	12,3	10,1
3	9,4	17,2	10	12,6	17,2	12
4	10	13,2	11,5	9	13,2	9,3
5	11,6	10,42	11,7	-	10,42	6,9
Moyenne	9,34	13,36	11,57	11,4	13,56	9,04
Ecart type	1,71	1,14	0,6	0,8	1,1	0,9

5 Les histogrammes correspondant sont représentés sur la figure 3B.

▪ Conclusion :

En l'absence de cellules de la FSV du tissu adipeux extra-médullaire, la réparation tissulaire dans un contexte post-irradiation se fait de manière tardive, et la reconstitution n'est que partielle. En effet en fin de processus, (J14) la surface d'ouverture de la plaie reste importante.

Les souris ayant reçu les cellules de la FSV du tissu adipeux extra-médullaire ont complètement reconstitué leur peau avec une fermeture complète de la plaie et une amélioration de la qualité de la peau, et plus précisément de sa viscoélasticité.

15

Le ralentissement observé lors de la fermeture de plaies causées dans un contexte post-irradiation est totalement supprimé par l'utilisation des cellules de la FSV du tissu adipeux extra-médullaire selon l'invention, et les valeurs observées montrent que l'accélération du processus de cicatrisation obtenue après l'administration des ces cellules dans un contexte d'irradiation permet d'obtenir une plaie comparable à se que l'on observe dans une situation de cicatrisation physiologique normale.

20

REVENDICATIONS

1. Utilisation de cellules issues de la fraction du stroma vasculaire du tissu adipeux
5 extra médullaire, pour la préparation d'un médicament destiné à favoriser la
régénération tissulaire à la suite de lésions causées par irradiation.
2. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle est destinée à
favoriser la régénération de la peau.
- 10 3. Utilisation selon la revendication 2, caractérisée en ce que le médicament est
destiné à favoriser la régénération des kératinocytes.
4. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que les lésions se situent au
15 niveau des tissus choisis parmi la peau, les os, le cerveau, le cou, l'intestin, les seins, le
cœur, les poumons, l'utérus et le rectum.
5. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisée en ce que les lésions
sont des plaies cutanées causées par irradiation.
- 20 6. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisée en ce que les lésions
sont causées par irradiation consécutive à une radiothérapie.
7. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 6, caractérisée en ce que les lésions
25 sont causées par irradiation accidentelle.
8. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 7, caractérisée en ce que le
médicament est administré à titre préventif, avant l'irradiation.
- 30 9. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 7, caractérisée en ce que le
médicament est administré à titre curatif, après l'irradiation.

10. Utilisation selon la revendication 6, caractérisée en ce que le médicament est destiné à être administré à des patients atteints de cancer.

5 **11.** Utilisation selon l'une des revendications 1 à 10, caractérisée en ce que le médicament se présente sous la forme d'une crème, d'une pommade, d'un spray, d'un gel, d'ampoules et/ou de solutés injectables.

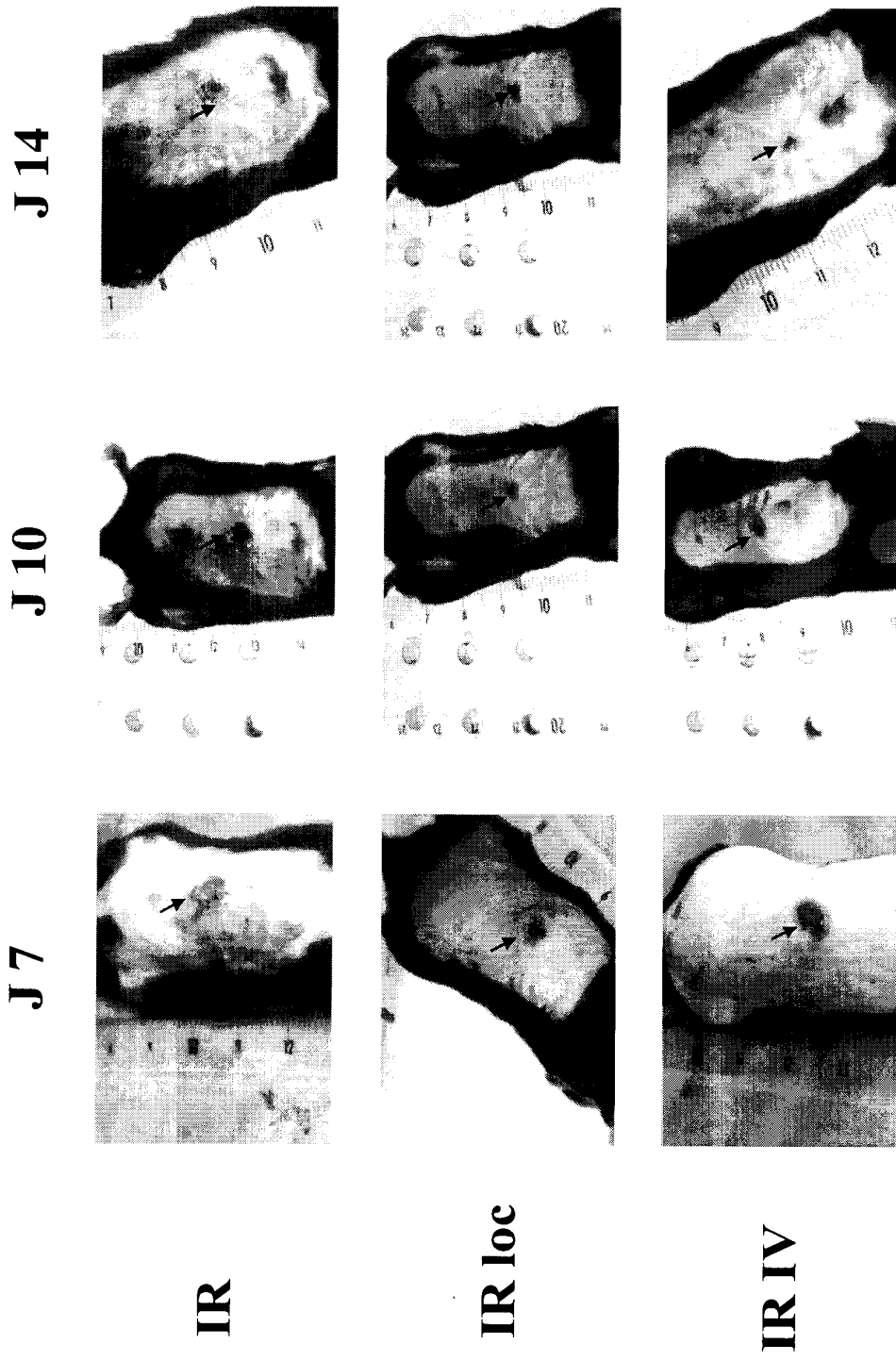
12. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 10, caractérisée en ce que le médicament se présente sous la forme de derme équivalent.

10

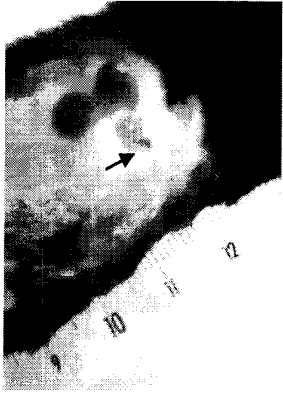
13. Utilisation selon la revendication 12, caractérisée en ce que le derme équivalent est destiné au traitement des brûlures causées par irradiation.

15

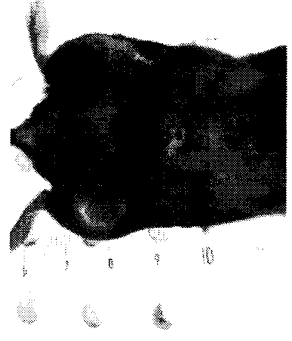
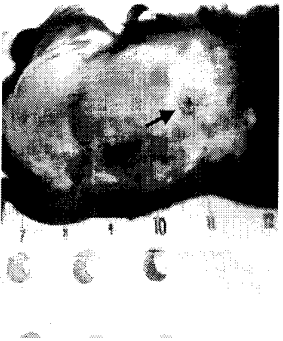
Figure 1



J 14



J 10



J 7



CT

CT IV

CT IIoc

Figure 2

Figure 3 A : Ouverture restante (J14)

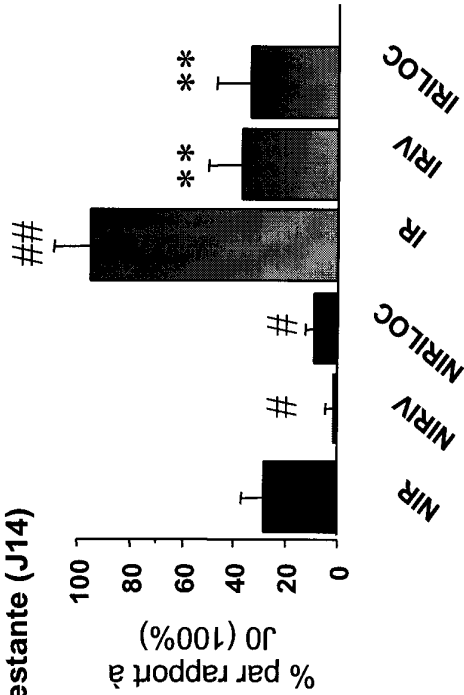
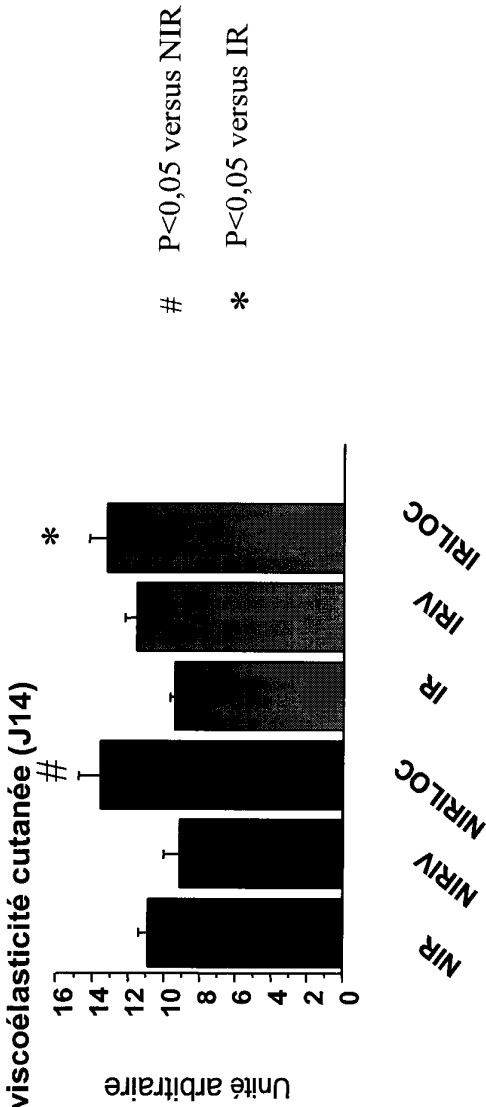


Figure 3 B : Mesure de la viscoélasticité cutanée (J14)





RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement
national

FA 683451
FR 0605190

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	US 2003/082152 A1 (HEDRICK MARC H [US] ET AL) 1 mai 2003 (2003-05-01) * revendications 4,13,16,18-22,25-27 * * alinéas [0055], [0059], [0062], [0064], [0065], [0107], [0117], [0126], [0128] * * exemple 7 *	1-13	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC) A61K A61P
X	FR 2 819 265 A1 (CENTRE NAT RECH SCIENT [FR]) 12 juillet 2002 (2002-07-12)	1,4	
A	* le document en entier *	2,3,6-13	
X	VRIES DE H J C ET AL: "STROMAL CELLS FROM SUBCUTANEOUS ADIPOSE TISSUE SEEDED IN A NATIVE COLLAGEN/ELASTIN DERMAL SUBSTITUTE REDUCE WOUND CONTRACTION IN FULLTHICKNESS SKIN DEFECTS" LABORATORY INVESTIGATION, UNITED STATES AND CANADIAN ACADEMY OF PATHOLOGY, BALTIMORE,, US, vol. 73, no. 4, 1995, pages 532-540, XP001041841 ISSN: 0023-6837 * le document en entier *	1-13	
A	GIMBLE J M: "ADIPOSE TISSUE-DERIVED THERAPEUTICS" EXPERT OPINION ON BIOLOGICAL THERAPY, ASHLEY, LONDON, GB, vol. 3, no. 5, août 2003 (2003-08), pages 705-713, XP009044158 ISSN: 1471-2598 * page 709; tableau 3 *	1-13	
A	FR 2 859 381 A (CENTRE NAT RECH SCIENT [FR]) 11 mars 2005 (2005-03-11) * le document en entier *	1-13	
-/-			
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
30 janvier 2007		Lemarchand, Aude	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant			



RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement
national

FA 683451
FR 0605190

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
A	CASTEILLA L ET AL: "Adipose tissue, plastic and reconstructive surgery: come back to sources" ANNALES DE CHIRURGIE PLASTIQUE ESTHETIQUE, EXPANSION SCIENTIFIQUE FRANCAISE, PARIS, FR, vol. 49, no. 5, octobre 2004 (2004-10), pages 409-418, XP004615058 ISSN: 0294-1260 * le document en entier * -----	1-13	
A	WO 01/62901 A2 (ARTECEL SCIENCES INC [US]; WILKISON WILLIAM O [US]; GIMBLE JEFFREY [US] 30 août 2001 (2001-08-30) * revendications 1-4,6-10 * -----	1-13	
			DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
30 janvier 2007		Lemarchand, Aude	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant			

ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE**RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 0605190 FA 683451**

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.

Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du **30-01-2007**

Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
US 2003082152 A1	01-05-2003	AUCUN	

FR 2819265 A1	12-07-2002	EP 1349919 A1	08-10-2003
		WO 02055678 A1	18-07-2002
		JP 2004524830 T	19-08-2004
		US 2004067218 A1	08-04-2004

FR 2859381 A	11-03-2005	CA 2537482 A1	24-03-2005
		EP 1663263 A1	07-06-2006
		WO 2005025584 A1	24-03-2005

WO 0162901 A2	30-08-2001	AU 3869501 A	03-09-2001
		CA 2400485 A1	30-08-2001
		EP 1261694 A2	04-12-2002
		JP 2003523767 T	12-08-2003
		US 2006228341 A1	12-10-2006
		US 2001033834 A1	25-10-2001
