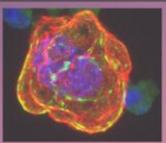


Les plaquettes de culture: Un outil de biothérapie

Catherine Strassel

« BLOOM » Team
Blood Platelet Production and
Megakaryopoiesis
Catherine Strassel (PI)



PhD, PI, Directrice adjointe de
l'UMR_S1255

EFS GEST, Strasbourg, France

Du concept aux défis technologiques...



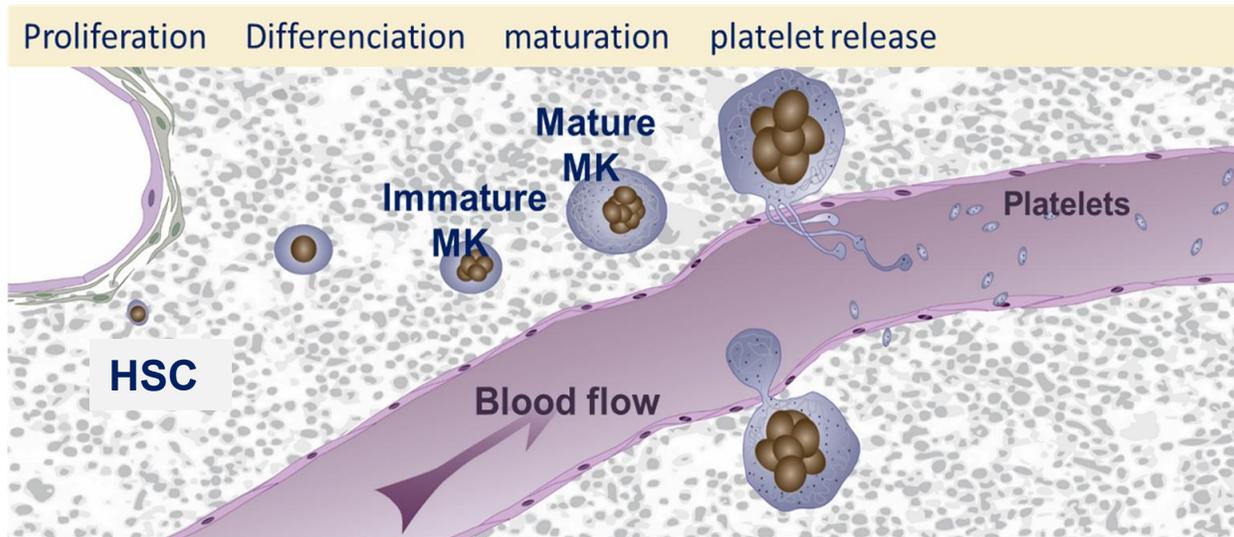
• SOCIÉTÉ FRANÇAISE DE THROMBOSE ET D'HÉMOSTASE
2 OCTOBRE 2025



La recherche fondamentale au service de la recherche appliquée

❖ La production de plaquettes à grande échelle est aujourd'hui possible

- Accumulation des connaissances des mécanismes moléculaires et cellulaires qui sous-tendent la biogénèse des plaquettes



- Développement Biotechnologiques

Bioreacteur => Facilite la production de PC à grand échelle

Edition de gènes => favorise la diversité d'application de l'utilisation des PC

Les plaquettes de culture : un nouvel outil de biothérapie

Les applications possibles

1. Transfusion

Les concentrés plaquettaires sont sujets à des tensions logistiques

❖ Pourquoi des tensions logistiques sur les CP

- **Veillesment de la population**
(chimiothérapie, radiothérapie...)
- **Conservation limitée des CP : 7 js**
- **Tensions saisonnières** : congés scolaires, pandémie...

❖ Emergence d'un nouvel argument en soutien d'une production de PC

- **Demande croissante en CP phénotypés** => vers une transfusion personnalisée

Les concentrés plaquettaires sont sujets à des tensions logistiques

❖ Pourquoi des tensions logistiques sur les CP

- **Veillissement de la population** (chimiothérapie, radiothérapie...)
- **Conservation limitée des CP : 7 js**
- **Tensions saisonnières** : congés scolaires, pandémie...

❖ Emergence d'un nouvel argument en soutien d'une production de PC

- **Demande croissante en CP phénotypés** => vers une transfusion personnalisée

Des plaquettes de culture pour toutes les indications transfusionnelles?

Les concentrés plaquettaires sont sujets à des tensions logistiques

❖ Pourquoi des tensions logistiques sur les CP

- **Veillesement de la population** (chimiothérapie, radiothérapie...)
- **Conservation limitée des CP : 7 js**
- **Tensions saisonnières** : congés scolaires, pandémie...

❖ Emergence d'un nouvel argument en soutien d'une production de PC

- **Demande croissante en CP phénotypés** => vers une transfusion personnalisée

Des plaquettes de culture pour toutes les indications transfusionnelles?
=> **Non** : coût d'un CP issu de plaquettes de culture est 6X> aux CP issus de donneurs

Les concentrés plaquettaires sont sujets à des tensions logistiques

❖ Pourquoi des tensions logistiques sur les CP

- **Veillesement de la population** (chimiothérapie, radiothérapie...)
- **Conservation limitée des CP : 7 js**
- **Tensions saisonnières** : congés scolaires, pandémie...

❖ Emergence d'un nouvel argument en soutien d'une production de PC

- **Demande croissante en CP phénotypés** => vers une transfusion personnalisée

Des plaquettes de culture pour toutes les indications transfusionnelles?
Non : coût d'un CP issu de plaquettes de culture est 6X> aux CP issus de donneurs

=> Utilisation des PC circonscrite aux impasses transfusionnelles : ER et thrombopénies néonatales

Les concentrés plaquettaires sont sujets à des tensions logistiques

❖ Pourquoi des tensions logistiques sur les CP

- **Veillissement de la population** (chimiothérapie, radiothérapie...)

- **Conservation limitée des CP : 7 js**

- **Tensions saisonnières : congés scolaires**

❖ Des arguments nouveaux pour la production de PC

- **Demande croissante des PC** => vers une transfusion personnalisée

Des plaquettes de culture pour toutes les indications transfusionnelles?
Non : coût d'un CP issu de plaquettes de culture est 6X> aux CP issus de donneurs

=> Utilisation conscrète des PC aux impasses transfusionnelles : ER et thrombopénies néonatales

Les plaquettes de culture : un nouvel outil de biothérapie

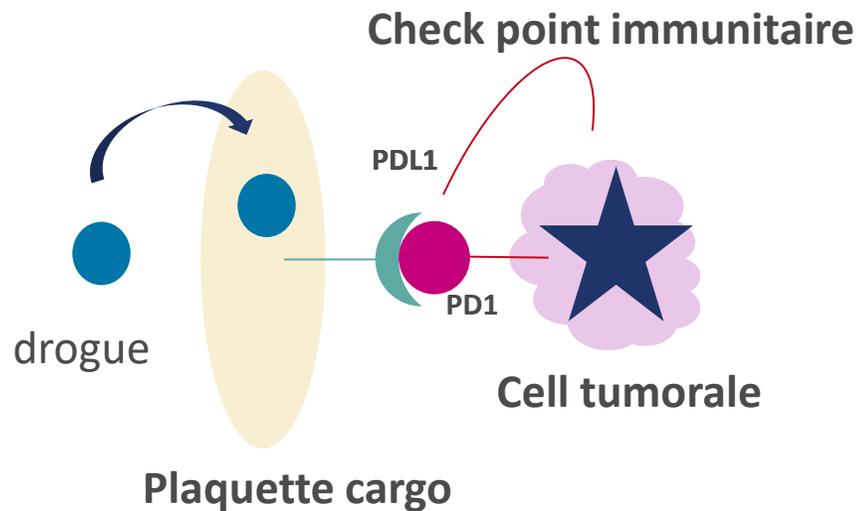
Les applications possibles

1. Transfusion
2. Cargo

Les plaquettes cargo : une alternative innovante

- ❖ **Plaquettes cargo : manipulation génétique des MKs pour produire des plaquettes génétiquement modifiées**
- ⇒ **Expression de protéines spécifiques pour des applications thérapeutiques**

Ex: des plaquettes « anti-tumorales »

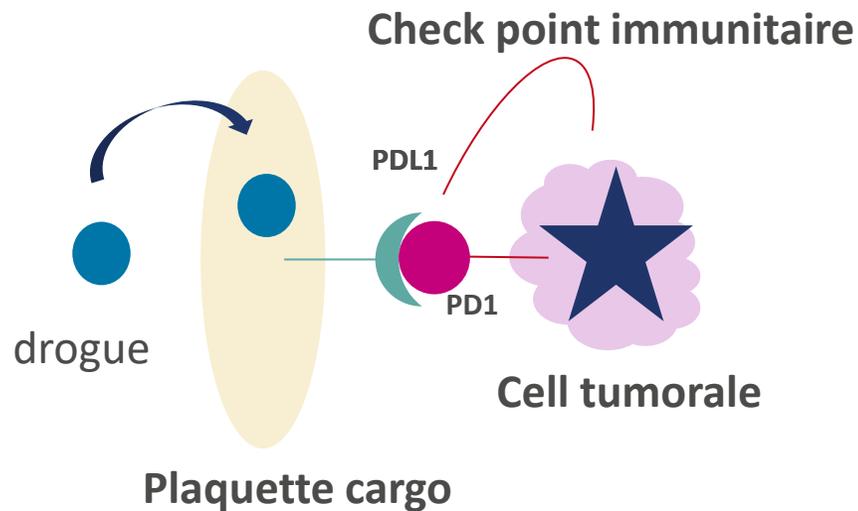


(Zhang X, Adv Mat, 2020)

Les plaquettes cargo : une alternative innovante

- ❖ **Plaquettes cargo : manipulation génétique des MKs pour produire des plaquettes génétiquement modifiées**
- ⇒ **Expression de protéines spécifiques pour des applications thérapeutiques**

Ex: des plaquettes « anti-tumorales »



**Les plaquettes cargo :
quelles opportunités thérapeutiques?**

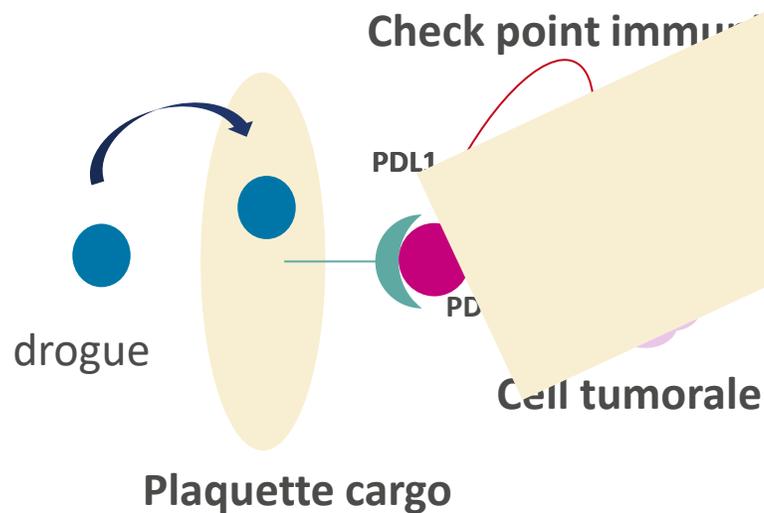
Cancer
Maladies neurologiques
Maladies auto-immunes

(Zhang X, Adv Mat, 2020)

Les plaquettes cargo : une alternative innovante

- ❖ **Plaquettes cargo : manipulation génétique des MKs pour produire des plaquettes génétiquement modifiées**
- ⇒ **Expression de protéines spécifiques pour des applications thérapeutiques**

Ex: des plaquettes anti-tumorales



Les plaquettes cargo : quelles opportunités thérapeutiques?

Cancer
Maladies neurologiques
Maladies auto-immunes

(Zhang X, Adv Mat, 2020)

Les plaquettes de culture : un nouvel outil de biothérapie

Les applications possibles

1. Transfusion
2. Cargo
3. Nanoparticules recouvertes de membranes plaquettaires

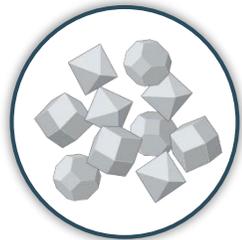
Des nanoparticules recouvertes de plaquettes pour des thérapies ciblées

❖ Nanoparticules avec biointerface plaquettaire

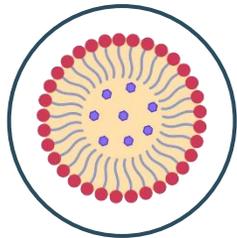
Prolongation de la durée de vie

Biocompatibilité : éviter la clairance médiée par les cellules immunes

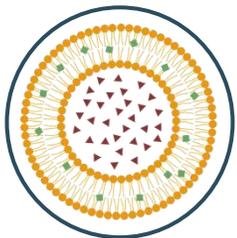
Meilleur ciblage => + manipulations génétiques



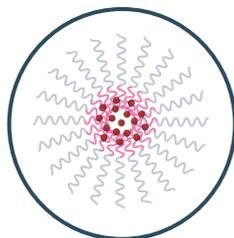
nanoparticles



Nanoemulsion



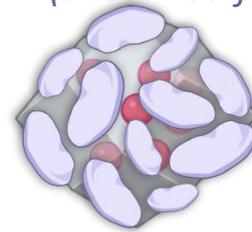
Liposome



Micelle



*Nano Particules + membrane plaquettaire
(avec modif génétique)*



Drug delivery

**Nanoparticules avec biointerface plaquettaire :
quelles opportunités thérapeutiques?**

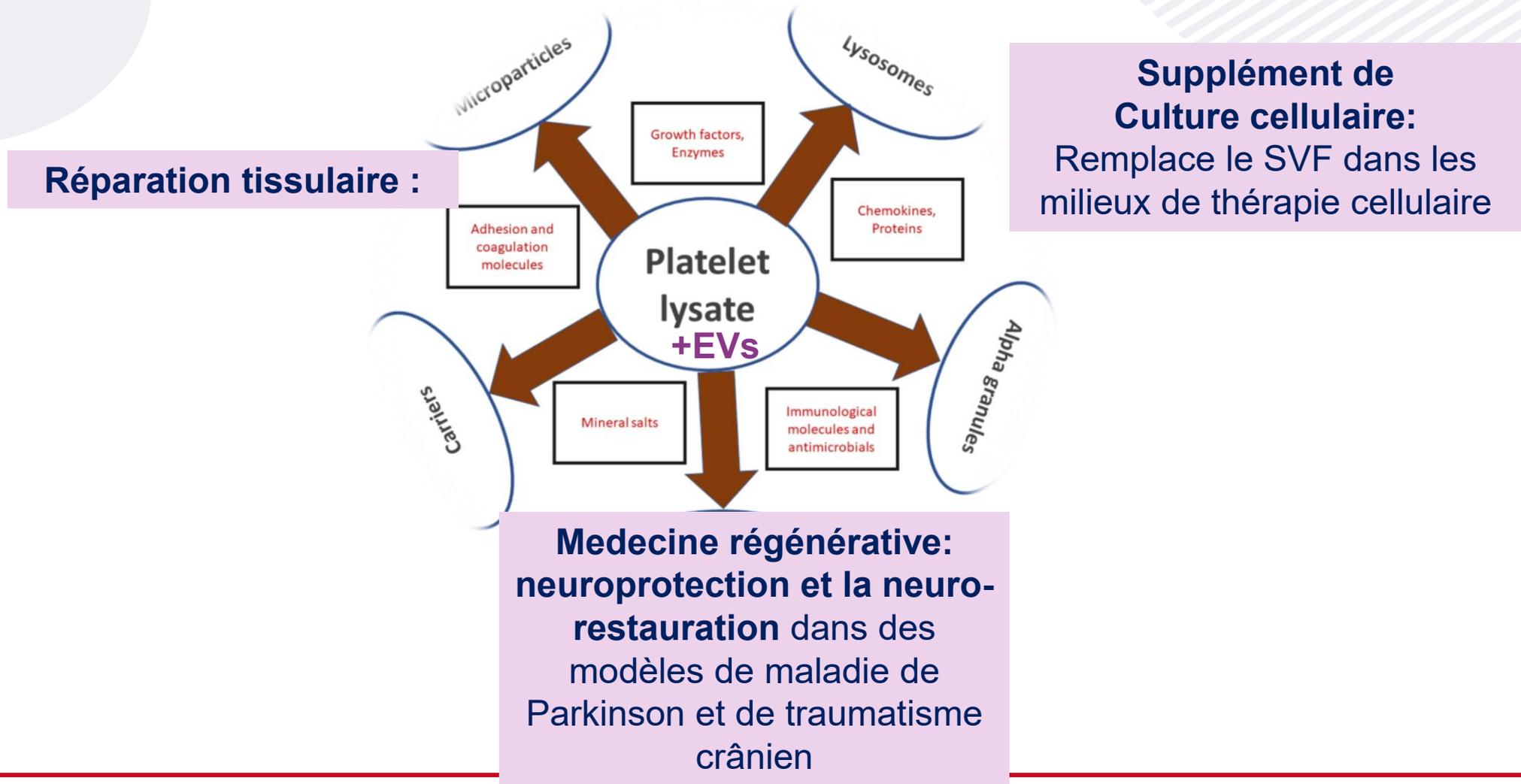
Thérapies
anti-inflammatoires
anti-thrombotiques
Anti-tumorales

Les plaquettes de culture : un nouvel outil de biothérapie

Les applications possibles

1. Transfusion
2. Cargo
3. Nanoparticules recouvertes de membranes plaquettaires
4. Lysats/PRP/EVs

Des lysats plaquettaires pour quelles applications?



Des lysats plaquettaires pour quelles applications?

Réparation tissulaire :

Start_up
Hemostod/ Adiposeeds/
Dewcell

Medecine régénérative:
neuroprotection et la neuro-
restauration dans des
modèles de maladie de
Parkinson et de traumatisme
crânien

Supplément de
culture cellulaire:
le SVF dans les
thérapie cellulaire



Accéder aux applications utilisant des plaquettes de culture

=

Produire des plaquettes *in vitro*

Etape 1 : identifier des sources de cellules

- ❖ **Les iPSCs : adaptées à la production à grande échelle** (source inépuisable, prolifération ++, efficacité de reprogrammation, modification du génome)

2 avancées majeures : Plaquettes universelles:

HLA-1KO=> immunocompatibilité (Liu et al, 2015)

MK immortalisés :

iMK => c-MYC+ BMI1, BCL-XL (Nakamura et al, 2014)

iFop => Surexpression GATA-1, FLI1 et TAL1 (Moreau et al, 2016)

Etape 1 : identifier des sources de cellules

- ❖ **iPSCs** : adaptées à la production à grande échelle (source inépuisable, prolifération ++, efficacité de reprogrammation, modification du génome)

2 avancées majeures : Plaquettes universelles:

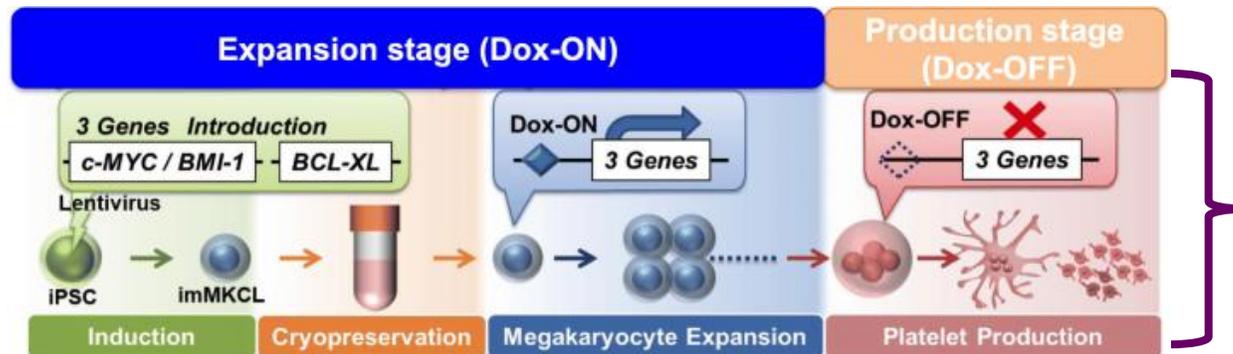
HLA-1KO => immunocompatibilité (Liu et al, 2015)

MK immortalisés :

iMK => c-MYC+ BMI1, BCL-XL (Nakamura et al, 2014) => **Megakaryon**

iFop => Surexpression GATA-1, FLI1 et TAL1 (Moreau et al, 2016)

Les iMK : des cellules adaptées à une production de plaquettes à grande échelle



Avantages:

- Simplification des process
- Gain de temps
- Réduction des coûts

Etape 1 : identifier des sources de cellules

❖ **CD34+**: moins adaptées à la grande échelle, mais **bonne capacité de différenciation**

alternatives : immortalisation => **Hemostod**

obtention de lignées sans modification génétique (MK dérivés d'EB obtenus à partir de CD34)

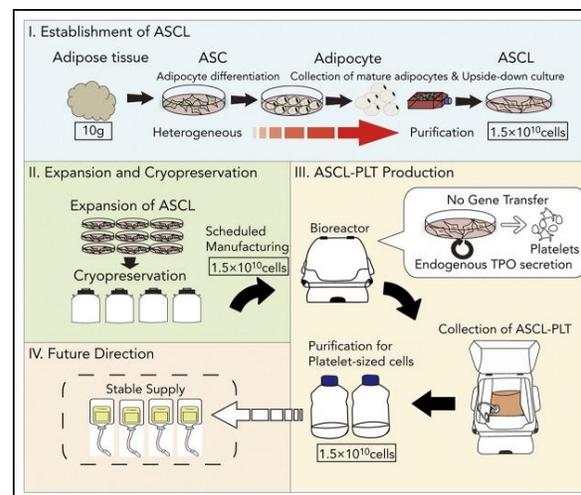
modulateurs épigénétiques , inhibiteur d': histone deacetylase, histone methyl transferase, DNA methyl transférase, ERK/MAPK (Qin et al, cell stem cell, 2022)

❖ **MSC issues du tissu adipeux**: une nouvelle source de cellules => **Adiposeeds**

Pas de manipulation génétique

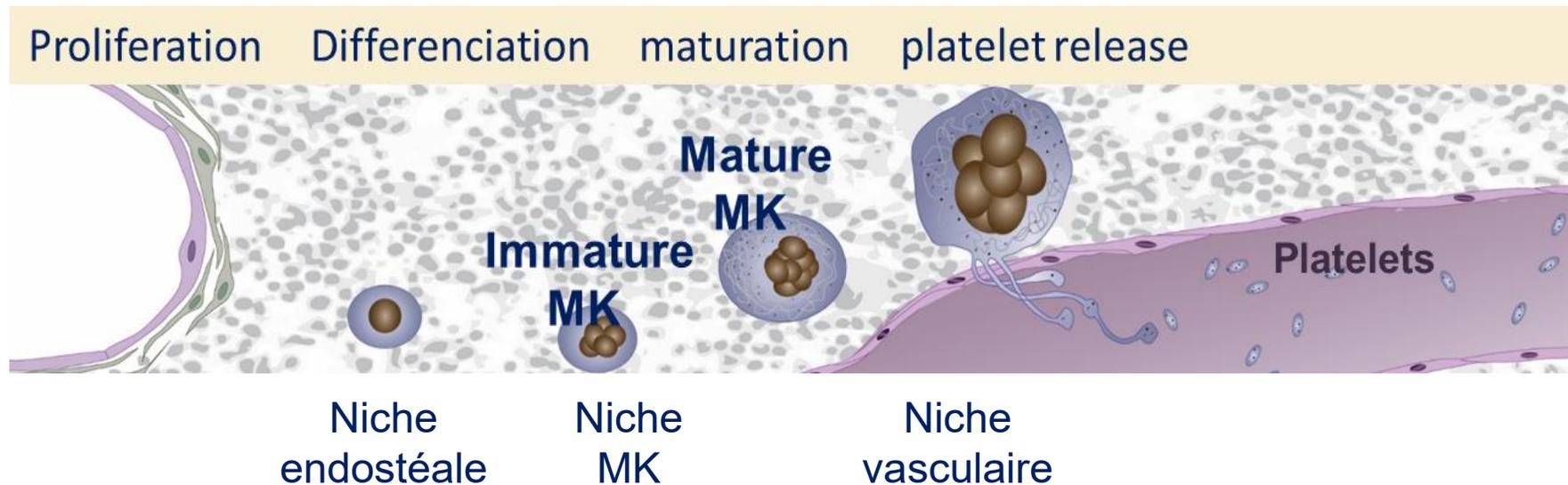
Pas d'addition de TPO

(Tozawa K et al, Blood, 2019)



Etape 2 : Développer des milieux de culture adaptés

- ❖ **Caractéristiques du milieu de culture : mimer les interactions des progéniteurs MK et des MK avec leur environnement médullaire**



Communication cellulaire et
Interaction avec cellules de
l'environnement

Composition générale des milieux de culture

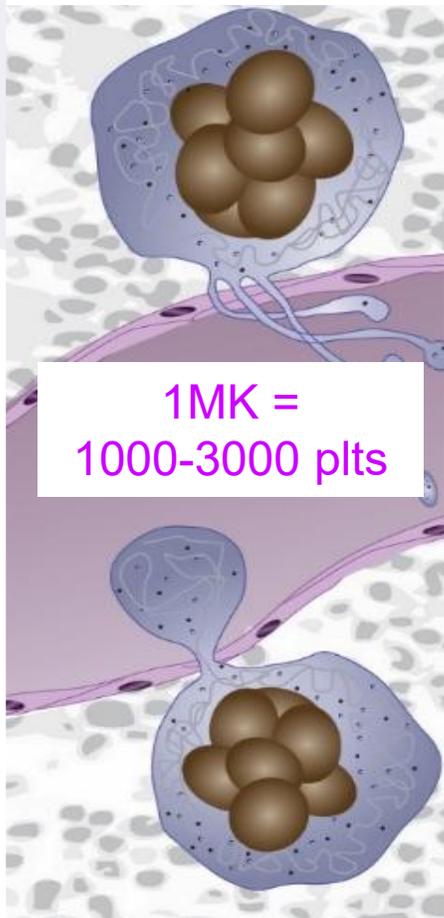
❖ Me
and

Prol

ic progeny

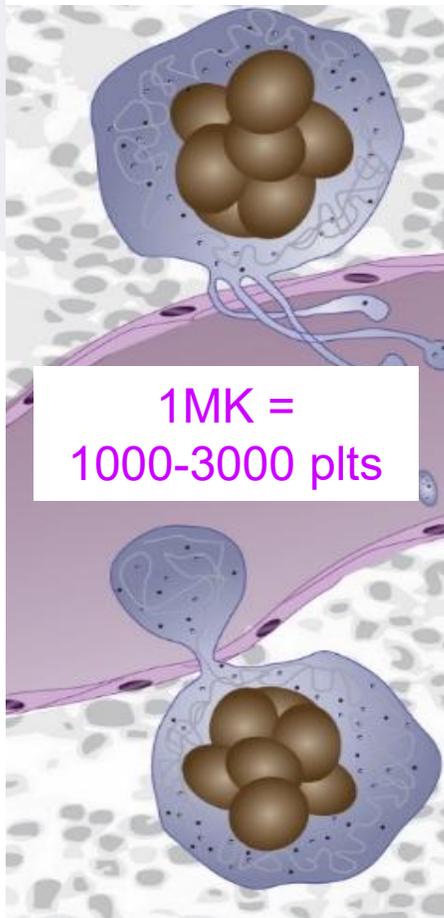
| Cell source | Medium | Cytokines | Timeline | Reference |
|----------------------------------------------|---------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|-------------|------------------------------|
| CD34+ progenitor cells from peripheral blood | supplemented IMDM | Meg-CSA (natural cytokines contained in protein fraction of aplastic canine serum) | ~12-14 days | Mazur et al., 1990 (41) |
| | serum-free liquid suspension culture medium | IL-3, IL-3, TPO | ~12 days | Guerrero et al., 1995 (31) |
| | supplemented IMDM | Flt3-L, IL-3, TPO | ~21 day | Figueiredo et al., 2010 (33) |
| CD34+ progenitor cells from cord blood | supplemented serum-free IMDM | TPO | ~14 days | Tao et al., 1999 (34) |
| | supplemented serum-free IMDM | SCF, Flt3-L, IL-6, TPO | ~17 days | Proulx et al., 2003 (40) |
| | SFM | TPO | ~12 days | Perdomo et al., 2017 (35) |
| CD34+ progenitor cells from bone marrow | supplemented serum-free IMDM | TPO | ~21 day | Tao et al., 1999 (34) |
| | serum-free liquid culture system medium | SCF, IL-3, IL-6, G-CSF, TPO | ~14 days | Gehling et al., 1997 (36) |
| | supplemented DMEM with addition of hirudin or heparin | TPO | ~5 days | Strassel et al., 2012 (61) |
| CD34+ progenitor cells from fetal liver | supplemented IMDM | TPO | ~12 days | Ma et al., 2000 (37) |
| | supplemented IMDM | TPO | ~5 days | Schulze et al., 2016 (39) |
| | supplemented DMEM | TPO | ~4 days | Vijey et al., 2018 (38) |
| Embryonic stem cells (ESCs) | supplemented DMEM and α MEM | TPO | ~8-16 days | Fujimoto et al., 2003 (51) |
| | supplemented DMEM and Ham F-12 and IMDM | VEGF, SCF, TPO | ~24 days | Takayama et al., 2008 (45) |
| | supplemented serum-free Stemline II medium | SCF, IL-11, TPO | ~14 days | Lu et al., 2011 (47) |
| Induced pluripotent stem cells (iPSCs) | supplemented mTeSR1, STEMspan-ACF, STEMdiff APEL medium | BMP-4, Flt-3 ligand, IL-3, IL-6, SCF, IL-9, TPO | ~19 days | Feng et al., 2014 (60) |
| | supplemented feeder-free and xeno-free SFM | BMP-4, FGF-2, VEGF, IL-11, SCF, TPO/Nplate | ~19 days | Liu et al., 2015 (62) |
| | StemMACS iPSC brew XF, supplemented APEL 2 medium | BMP-4, VEGF, IL-3, SCF, TPO | ~22 days | Eicke et al., 2018 (56) |

Etape 3 : Libérer les plaquettes



Libération des plaquettes en condition statique: inefficace
=> développer des dispositifs de libération des plaquettes

1^{ère} génération de dispositifs : Un développement basé sur des flux laminaires



Fibres de soie

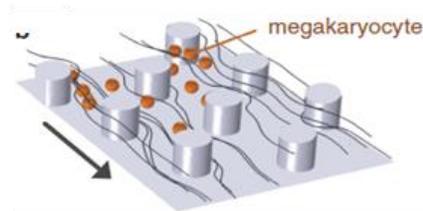
Palotta et al, 2011

Palotta et al, 2011



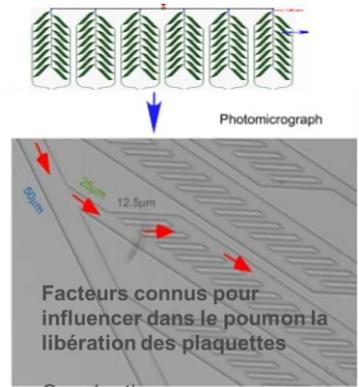
Piliers placés en quinconce

Blin et al, 2016



Puce microfluidique

Thon et al, 2014



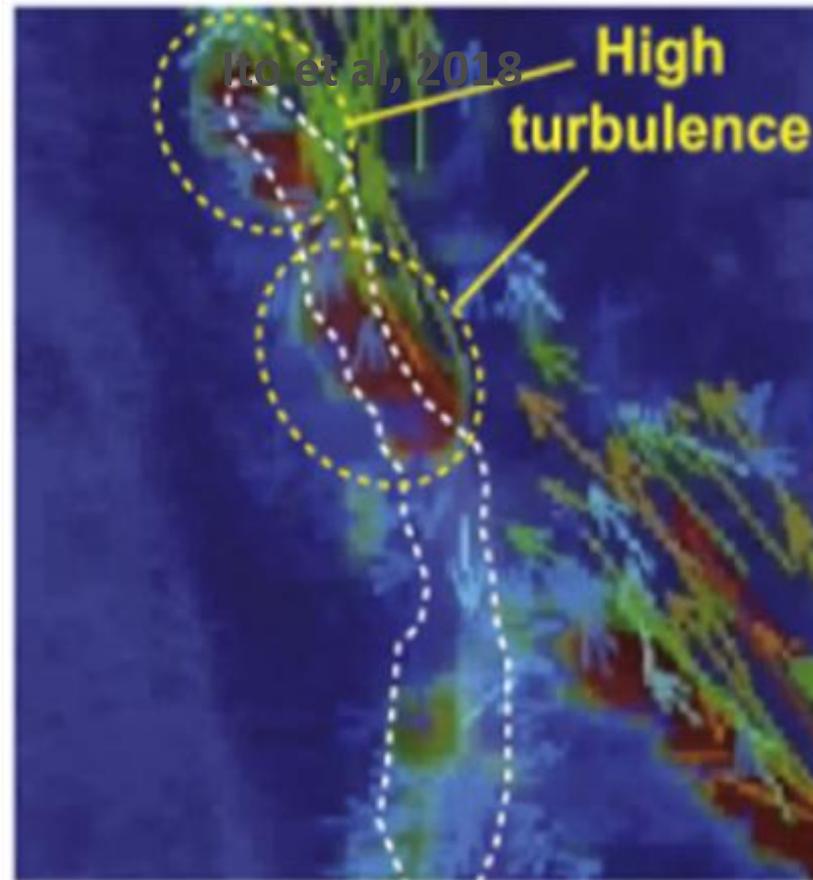
Facteurs connus pour influencer dans le poumon la libération des plaquettes

- Oxygénation
- Ventilation
- Endothélium pulmonaire
- Réseau microvasculaire

Zhao et al, 2023

30 plts/MK
(iPS, CD34)

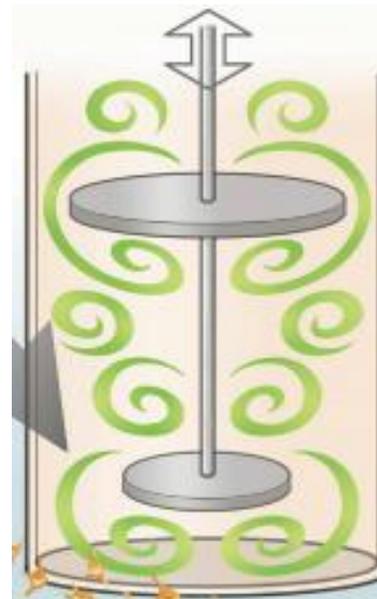
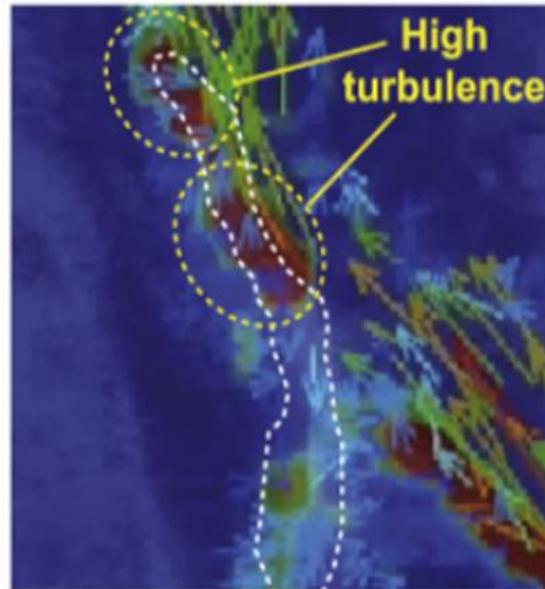
2nde génération de dispositifs : Un développement basé sur des flux turbulents



2nde génération de dispositifs :

Un développement basé sur des flux turbulents

Ito et al, 2018



Tige : mouvement up/down
2 disques: rotation horaire/anti horaire

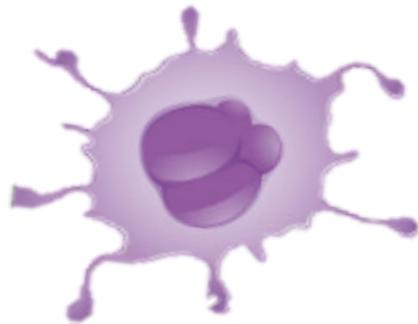
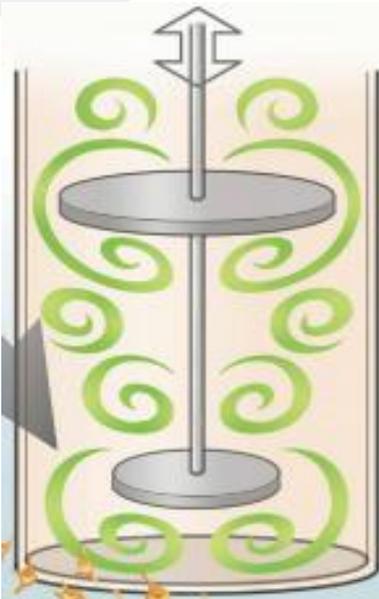
**80 plts/MK
(iPS)**

Des cellules sources adaptées + un bioréacteur = essai clinique

Vermes

+

iMKs



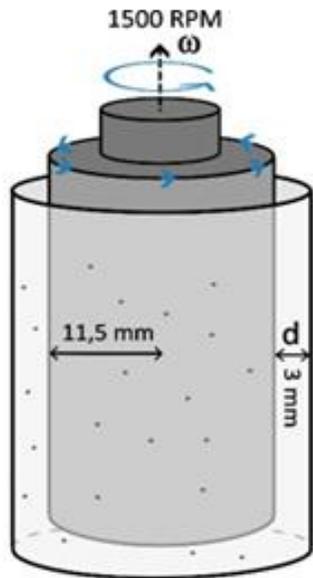
2019: démontrer l'inocuité de la transfusion de plaquettes de culture (*JRCTa050190117; clos*)

2022 : démontrer un pouvoir hémostatique des plaquettes de culture

(patients thrombopéniques, JRCT2053210068; en cours)

Quelle a été notre contribution dans l'épopée du développement des plaquettes de culture

- ⇒ Un milieu de culture développé pour la maturation des MK issus de cellules CD34+
- ⇒ 2 dispositifs de libération de plaquettes en flux turbulents



3D view

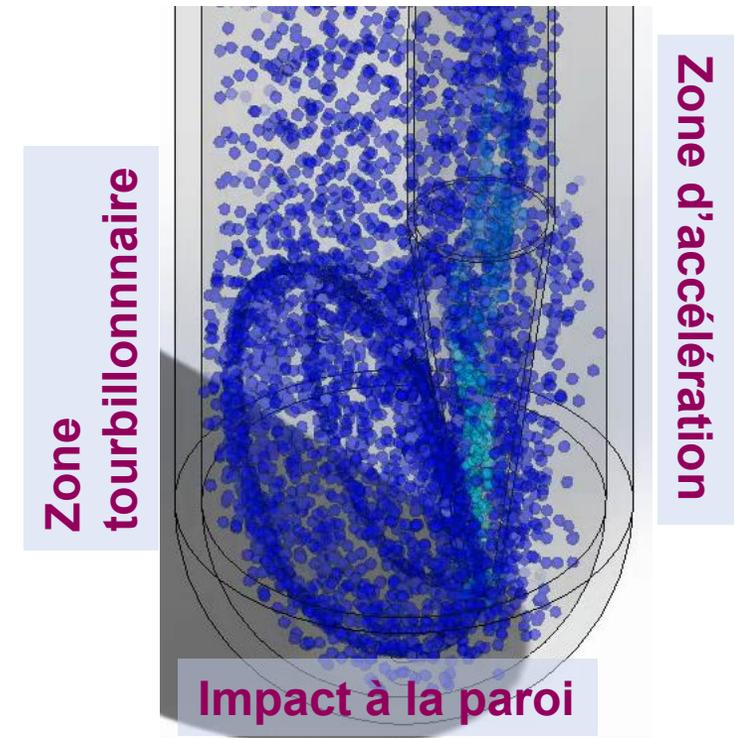
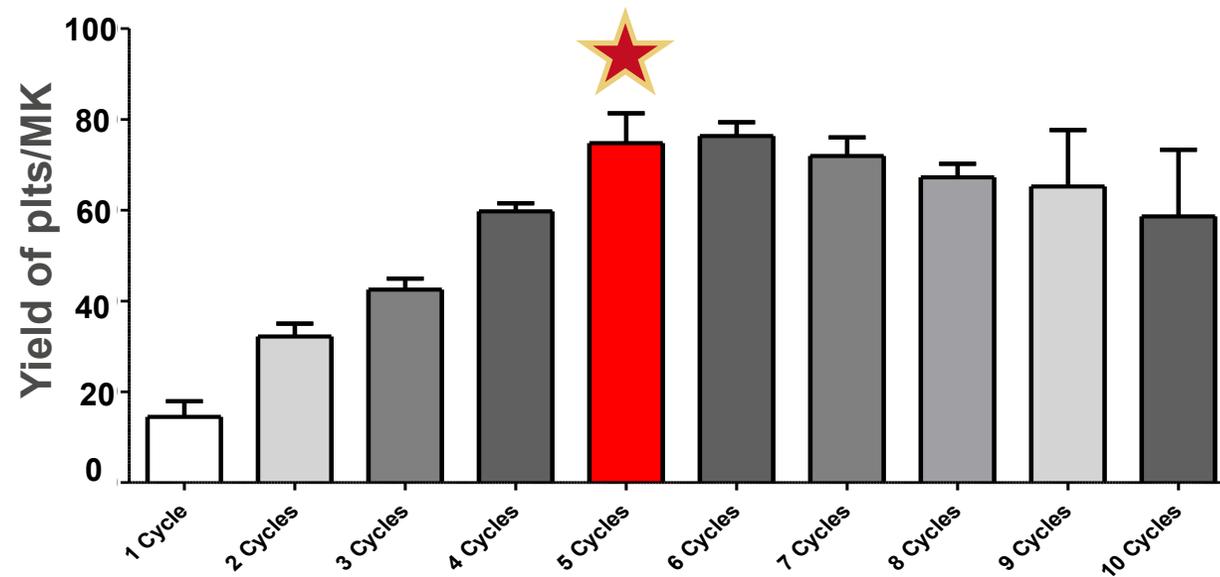
Garzon et al, Sci Rep, 2025



Pongerard et al, Nat Biotechnology, 2023

Développement d'un dispositif de libération de plaquettes basé sur un mouvement de pipetage

❖ Libération de plaquettes en fonction du nombre de pipetage

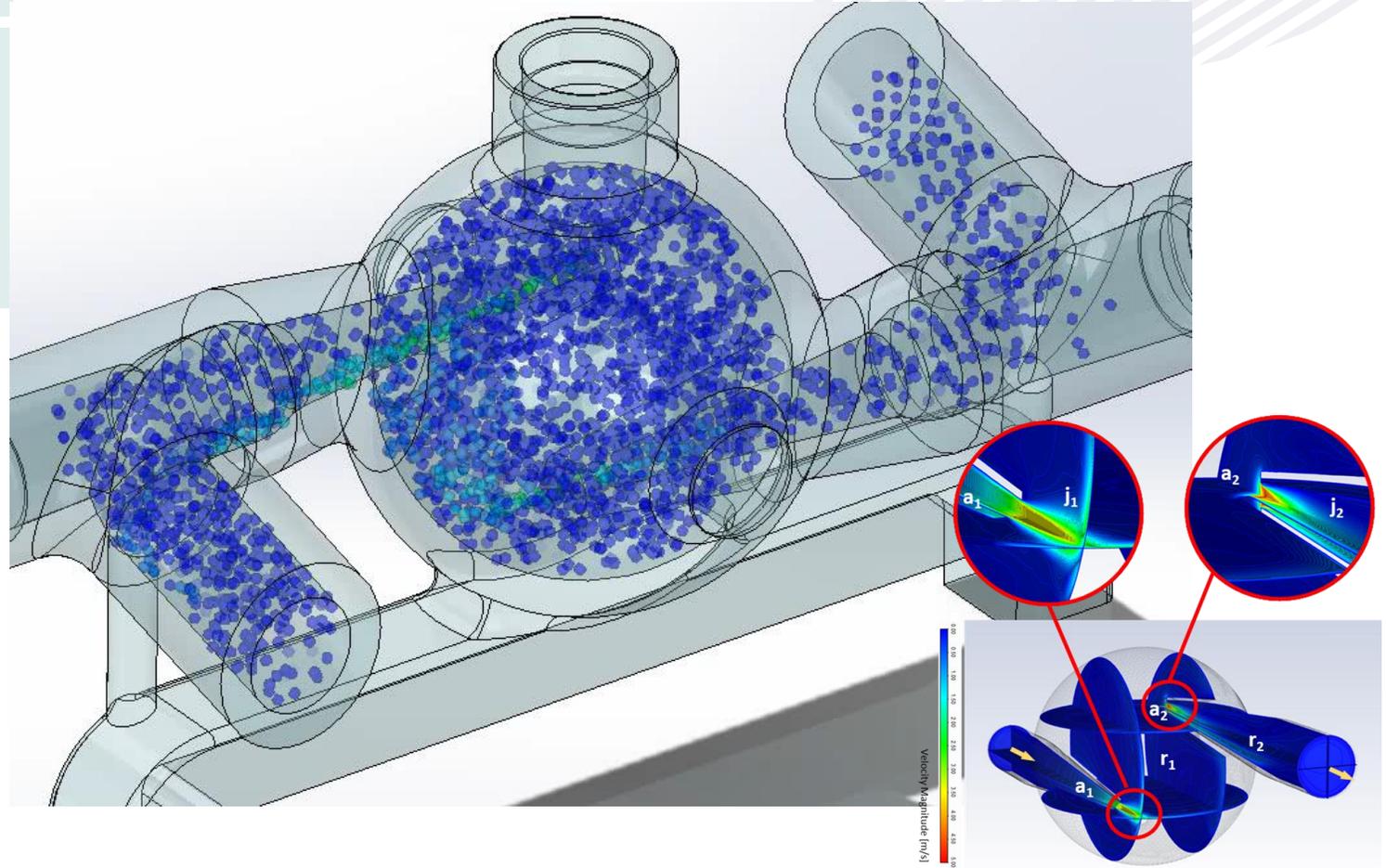
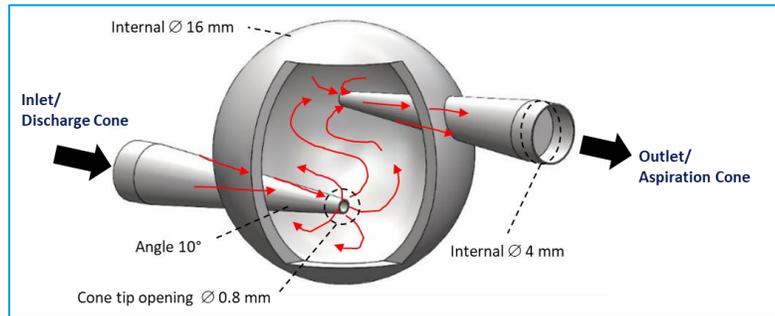


Développement d'un dispositif de libération de plaquettes basé sur un mouvement de pipetage

Pipette-mimetic



Pongerard et al, Nat Biotechnology, 2023



Développement d'un dispositif de libération de plaquettes basé sur un mouvement de pipetage

Pipette-mimetic



Pongerard et al, Nat Biotechnology, 2023

Avantages

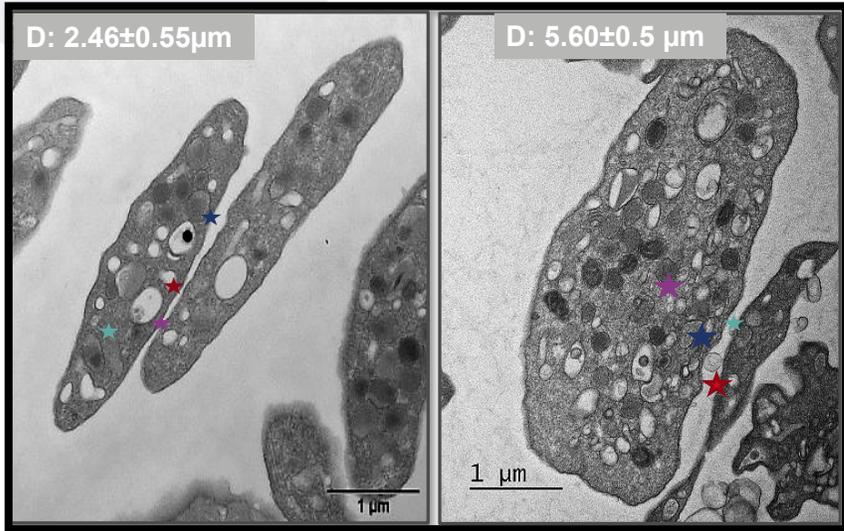
- **Petit et facile d'utilisation (15 cm)**
=> Adapté à des bioréacteurs
- **GMP compatible**
- **Faible coût de production (100 euros)**
- **1L in 10 min**
- **Efficace de qq mL à plusieurs L**

Qualité des plaquettes de culture

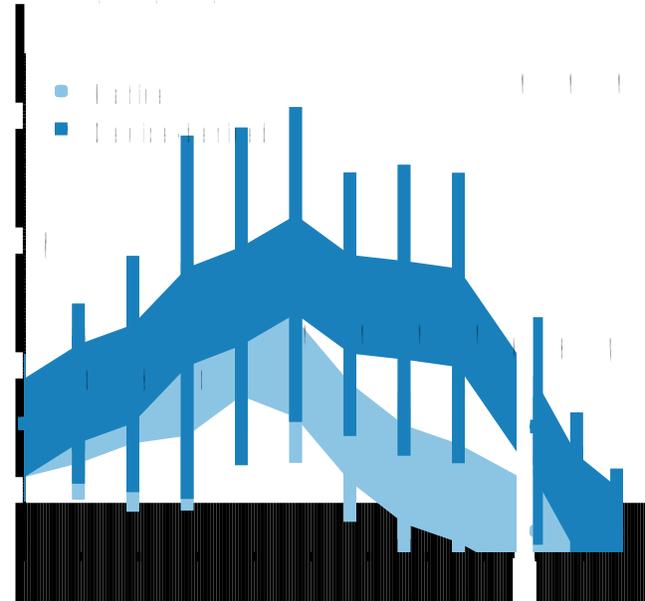
Morphologie

Plaquettes Natives

Plaquettes de culture

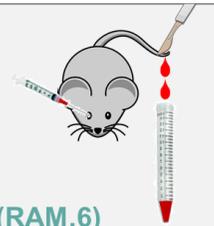


Recirculation

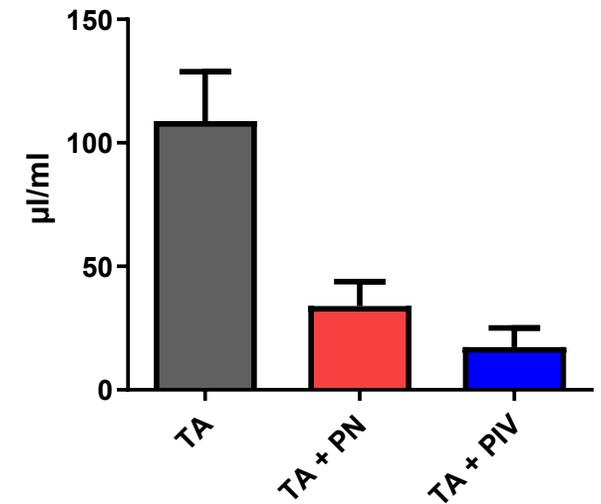


Hémostase

Plaquettes Natives
Plaquettes de culture



Souris NSG
Induction de la thrombopénie (RAM.6)
+24h => T0: + $300 \cdot 10^6$ plts
T15': mesure de la perte sanguine



Pongerard et al, Nat Biotechnology, 2023

Garzon et al, Sci Rep, 2025

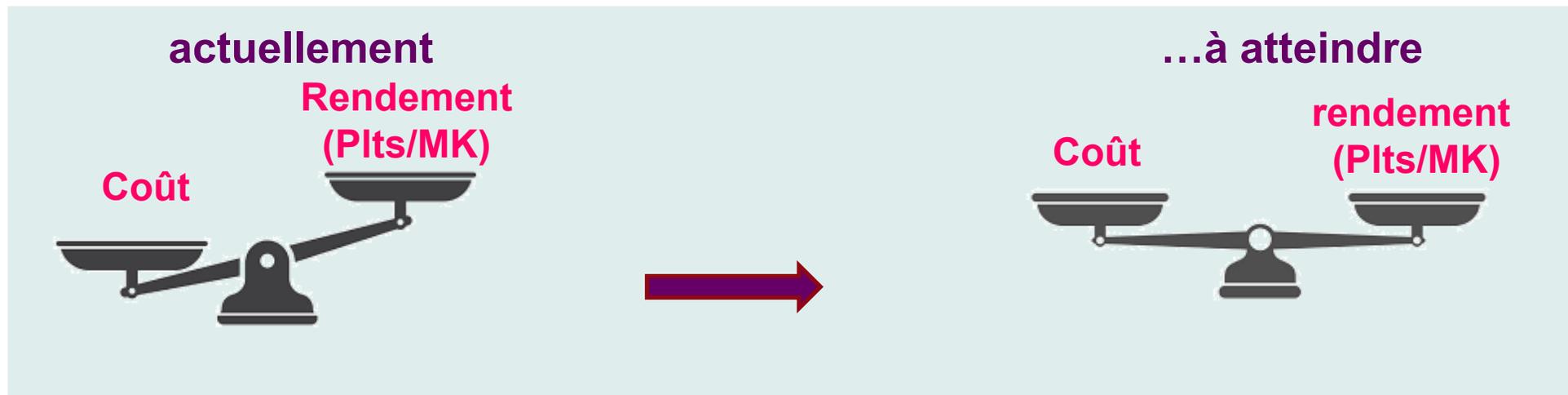
Conclusion

La faisabilité/POC de la production de plaquettes de culture à large échelle : OK

Des start-up impliquées dans la production de plaquettes de culture

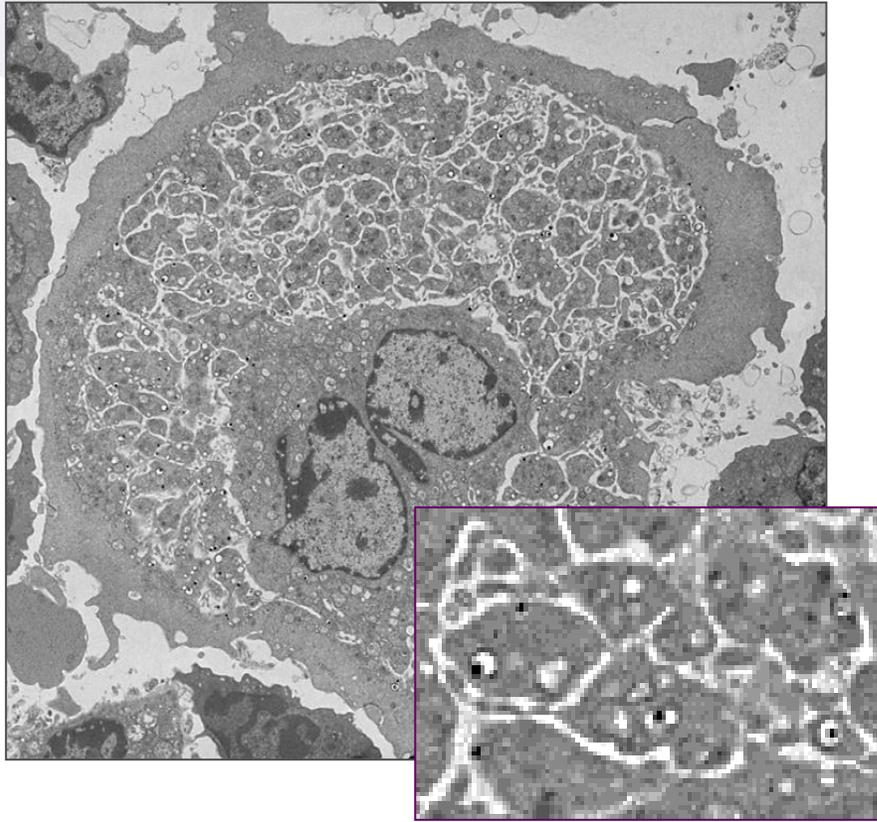
Megakaryon (Japon) , Hemostad (Suisse) , Adiposeeds (Japon), Dewcell (Corée du Sud)

Cependant : le coût des CP doit être en adéquation avec le service médical rendu

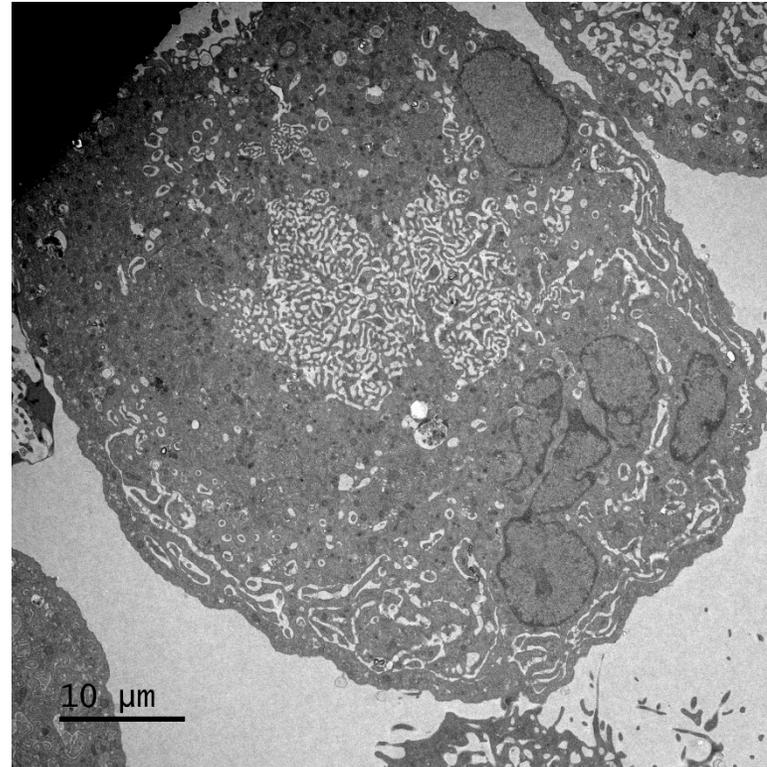


Perpsective : améliorer la maturation des MK

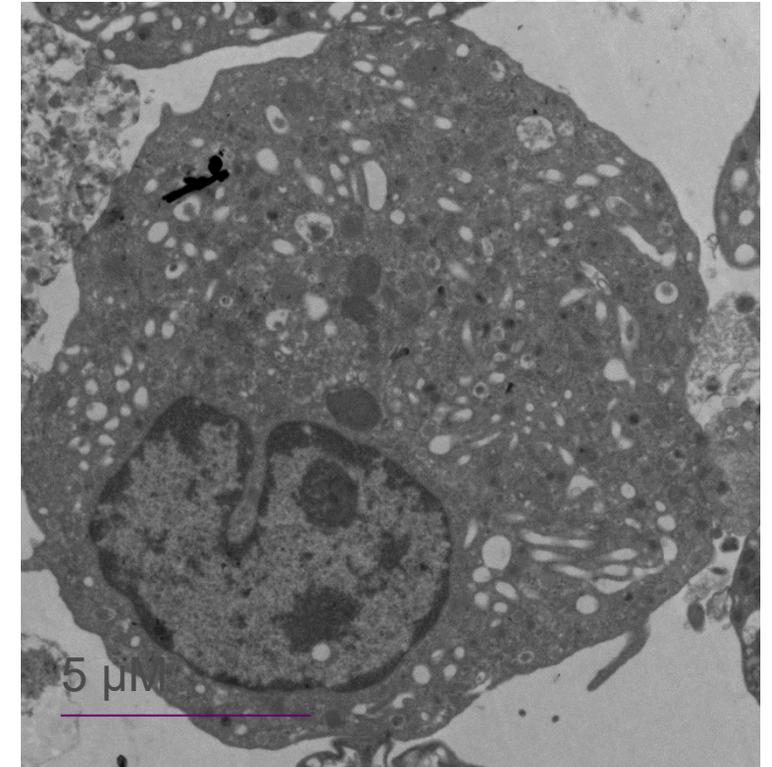
MK in vivo



iMK -Dox +5 js



MK dérivés de CD34+ J12



⇒ Retour à de la recherche fondamentale

Mais en l'état actuel : de bons systèmes sont disponibles pour Explorer/Comprendre les pathologies plaquettaires

❖ Les plaquettes de culture : un outil d'exploration des mécanismes de la biogénèse des plaquettes

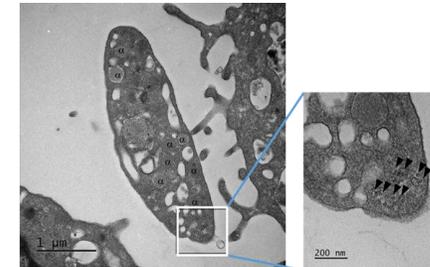
Cellules sources (iMK,...)
+/- manipulations
génétiques



Dispositif de libération
des plaquettes



Plaquettes fonctionnelles

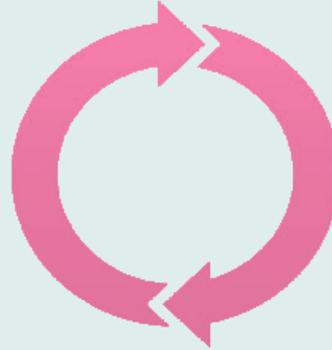


Un process pour comprendre/ Identifier/ Explorer
(Megacaryopoïèse et fonctions plaquettaires)

CONCLUSION

La production de plaquettes in vitro = cercle vertueux

**Recherche
fondamentale**



Recherche appliquée

UMR_S1255

Pierre Mangin
(Directeur UMR_S1255)
Anita Michel (TEM)



EFS.
Bien plus que
le **DON DE SANG.**



« **BLOOM** » Team

Blood Platelet Production
and **M**egakaryopoiesis
Catherine Strassel (PI)

Léa Mallo (IE)
Anaïs Pongérard (PhD)
Andrei Garzon (PhD)
Anaïs Dardaillon (PhD)

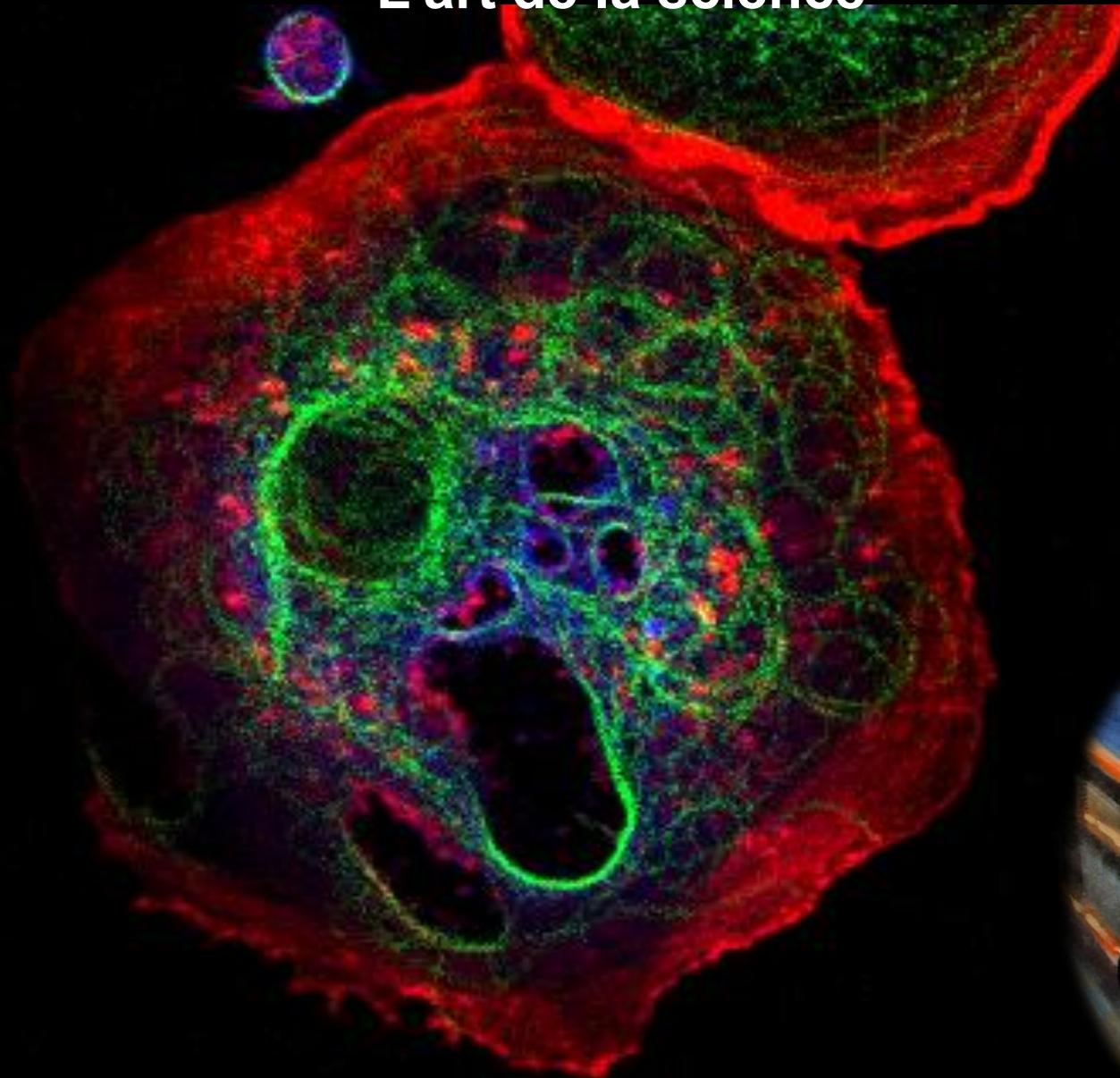
LaPEC EA 4278

Yannick Knapp (MCU)

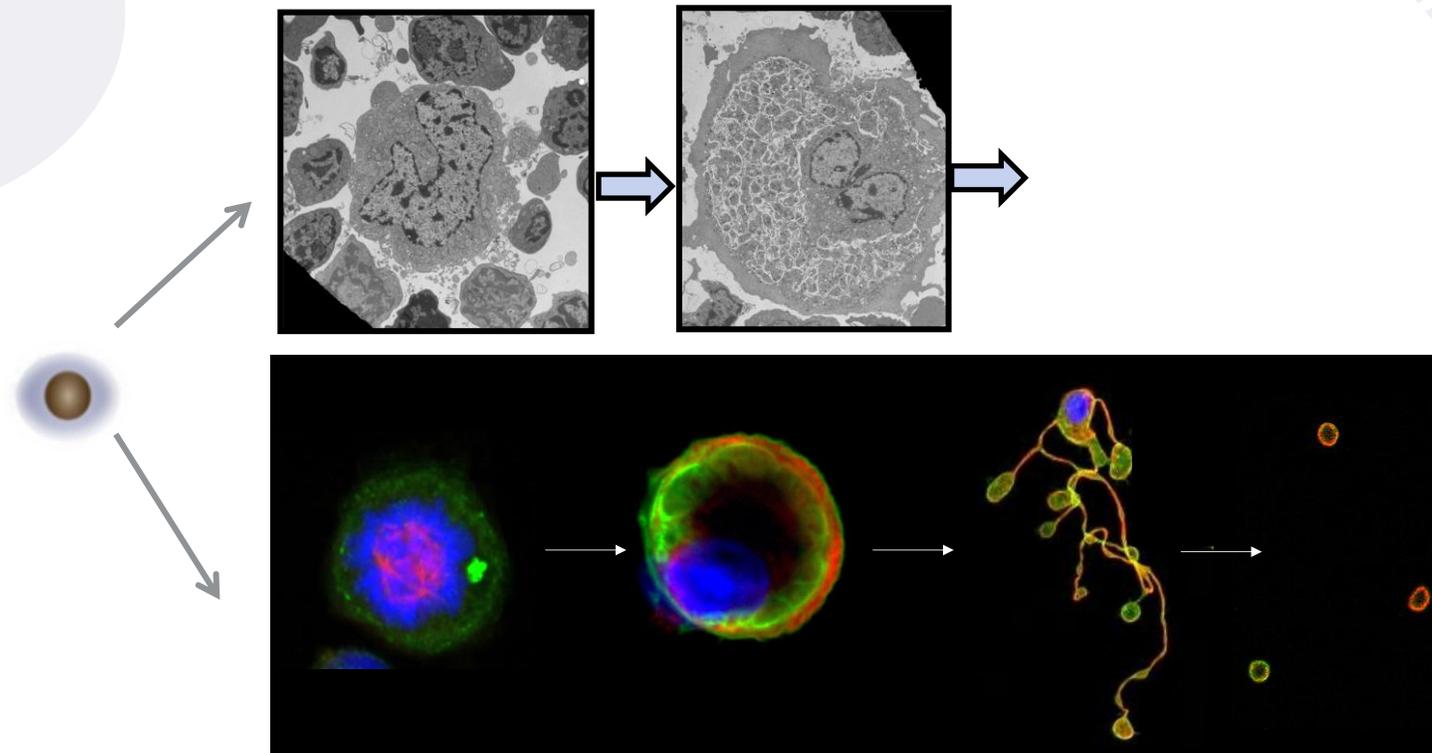
IRPHE, UMR_S7342

Olivier Boiron (Pr, HDR, PI)

L'art de la science



Etape 2 : Développer des milieux de culture adaptés



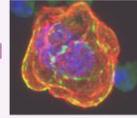
TPO

IL6/IL9

Composés chimiques (SR1, Y27632...)

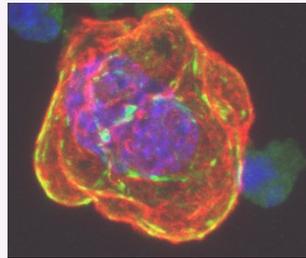
« BLOOM » Team

Blood Platelet Production and
Megakaryopoiesis
Catherine Strassel (PI)



« BLOOM » Team

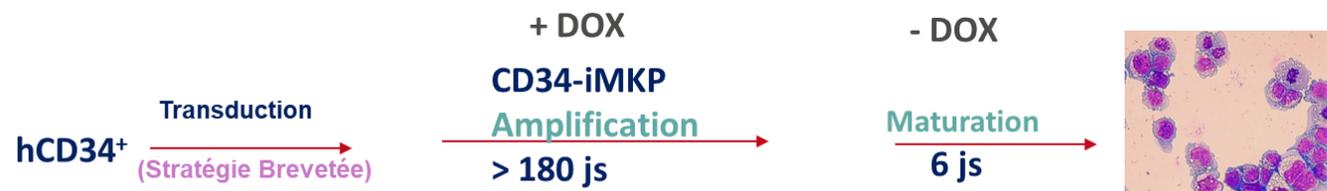
Blood Platelet Production and
Megakaryopoiesis
Catherine Strassel (PI)



Etape 1 : identifier des sources de cellules

❖ **Les CD34+**: moins adaptées à la grande échelle, mais **bonne capacité de différenciation**

alternative 1 : immortalisation (iMK/CD34)



L. Guyonneau-Harmand, PI, SU & EFS Paris
M. Brunet-Manquat, PhD, SU & EFS Paris

une option intéressante dans le contexte de la médecine personnalisée .

=> Développement de banques de cellules phénotypées, en particulier avec des phénotypes rares (gestion des problèmes transfusionnels = ER, thrombopénie néonatale).

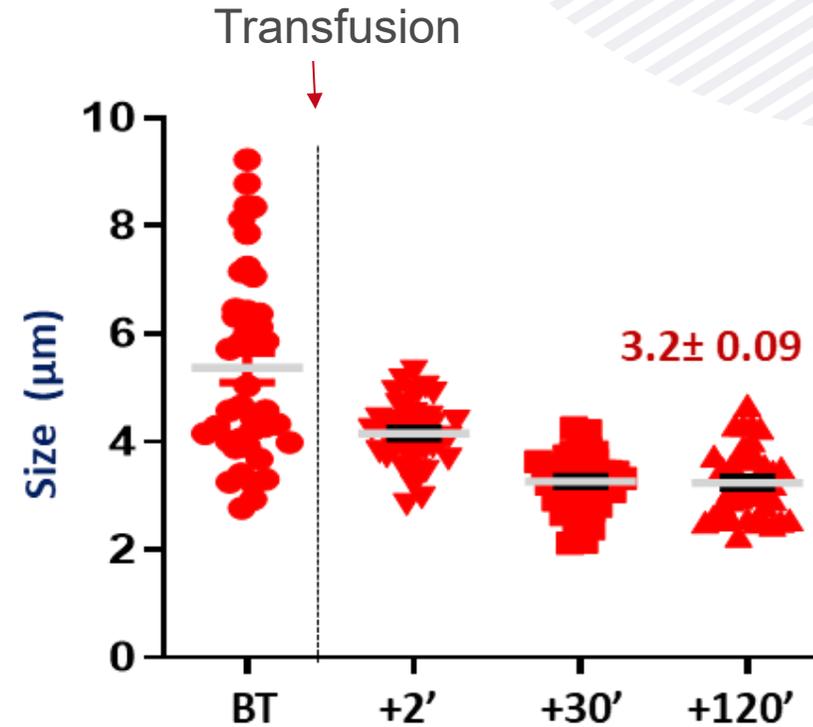
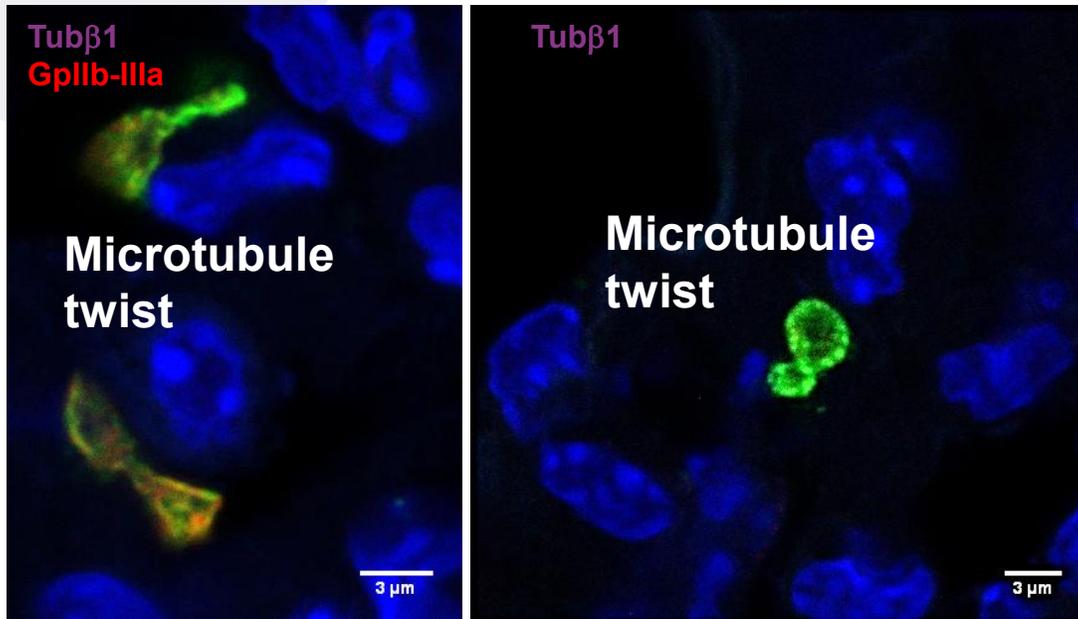
alternative 2 : obtention de lignées sans modification génétiques (MK dérivés d'EB obtenus à partir de CD34)

(Qin et al, cell stem cell, 2022)

(modulateurs épigénétiques , inhibiteur d'

histone deacetylase, histone methyl transferase, DNA methyl transférase, ERK/MAPK

Les plaquettes de culture sont remodelées dans les poumons

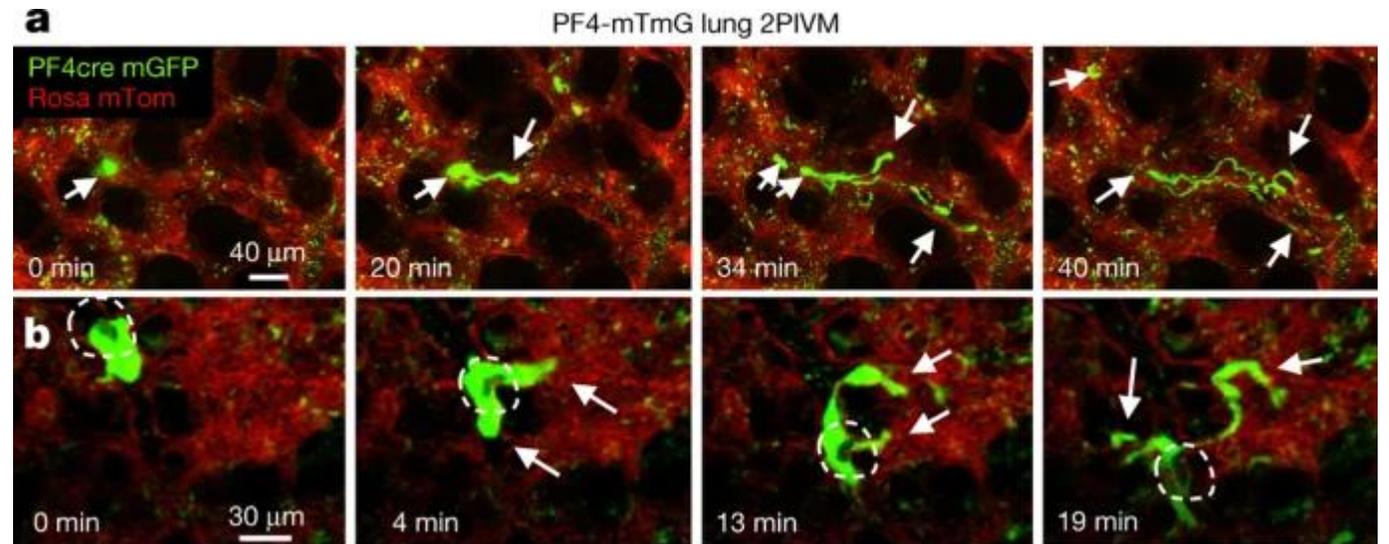
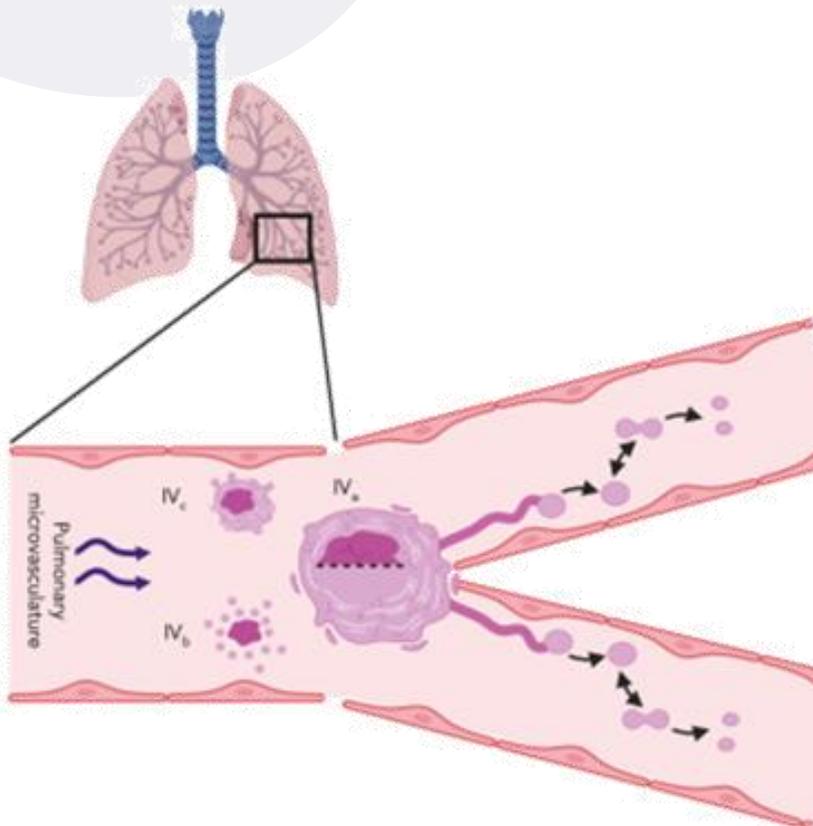


Pongerard et al, Nat Biotechnology, 2023

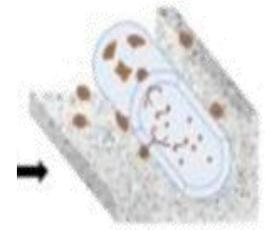
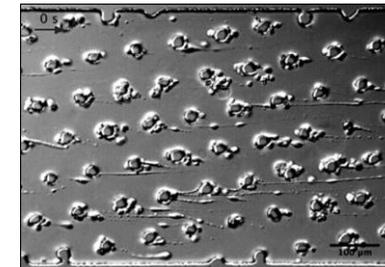
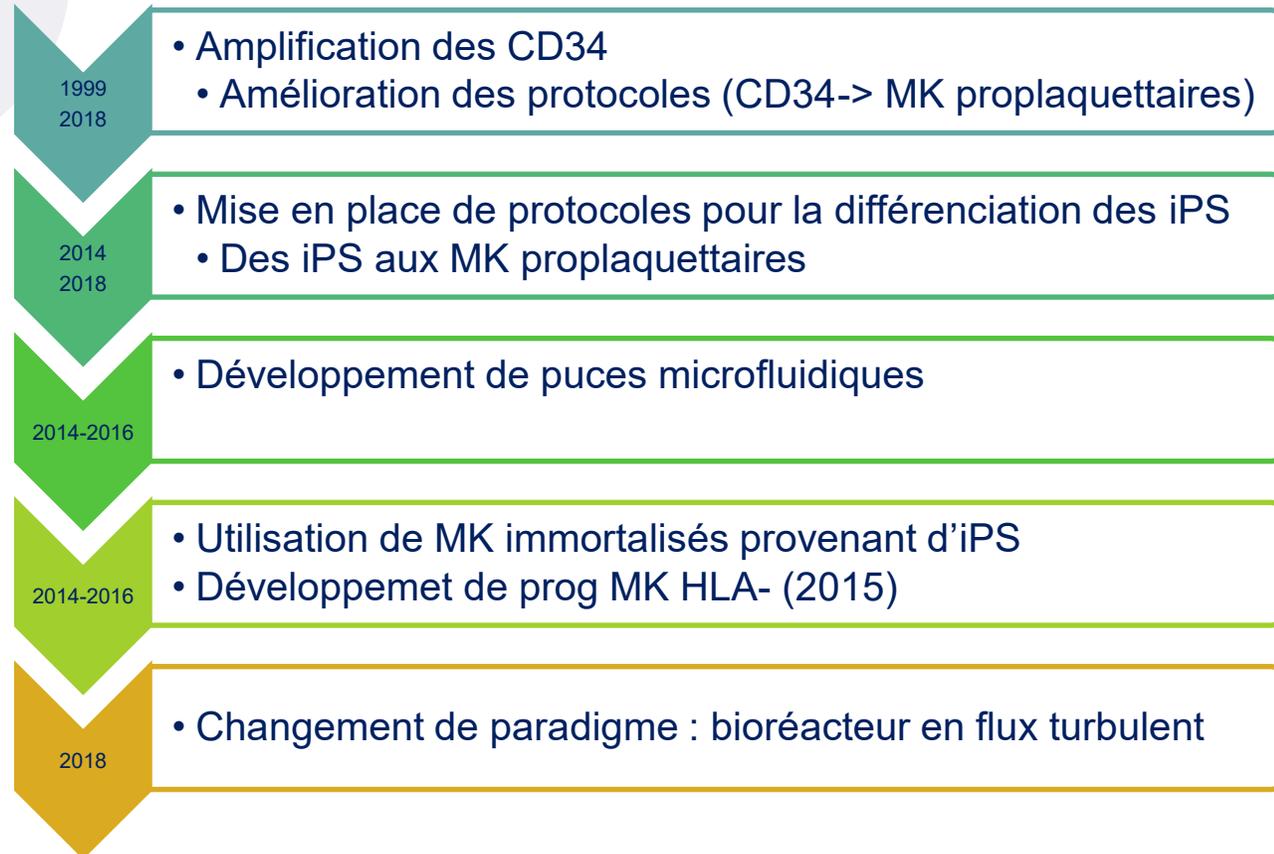
Chronologie du développement des dispositifs de libération des plaquettes

Phase 1b

❖ Un dispositif à flux laminaire mais qui mime la microcirculation pulmonaire

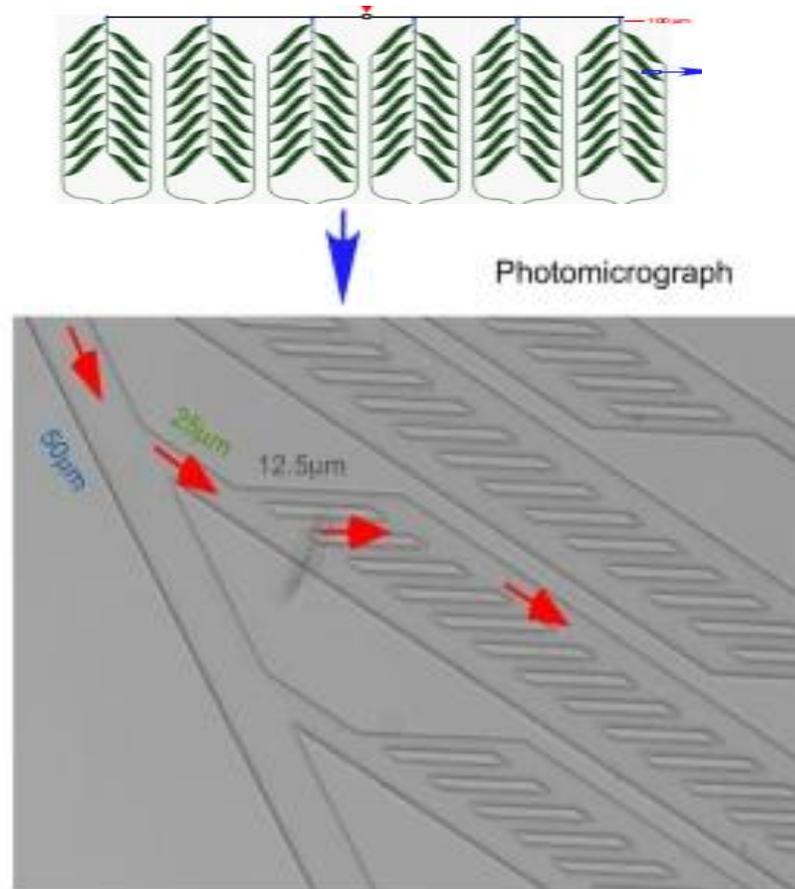
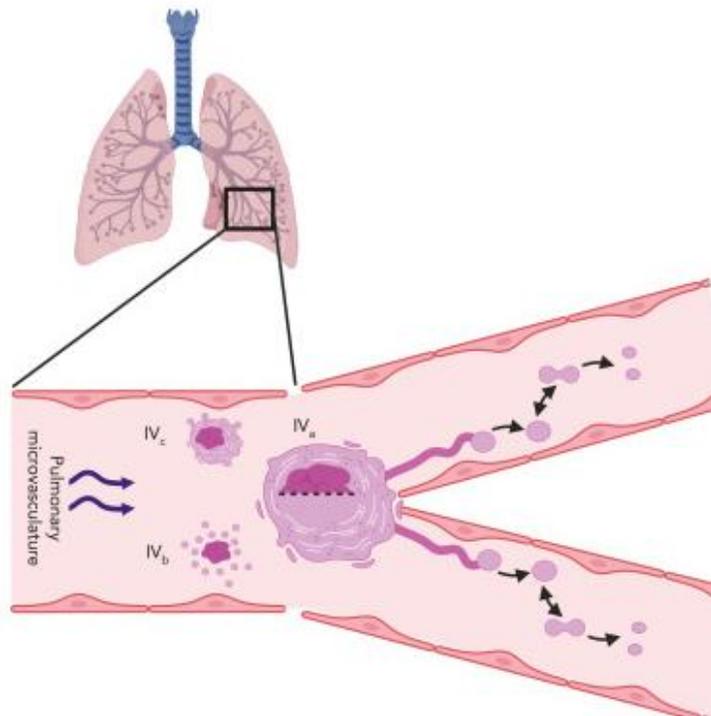


La production de plaquettes de culture : un épopée



Chronologie du développement des dispositifs de libération des plaquettes

Phase 1b

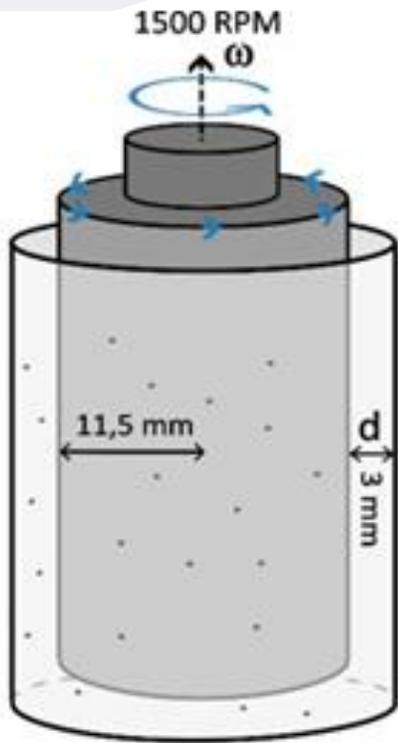


Facteurs connus pour influencer dans le poumon la libération des plaquettes

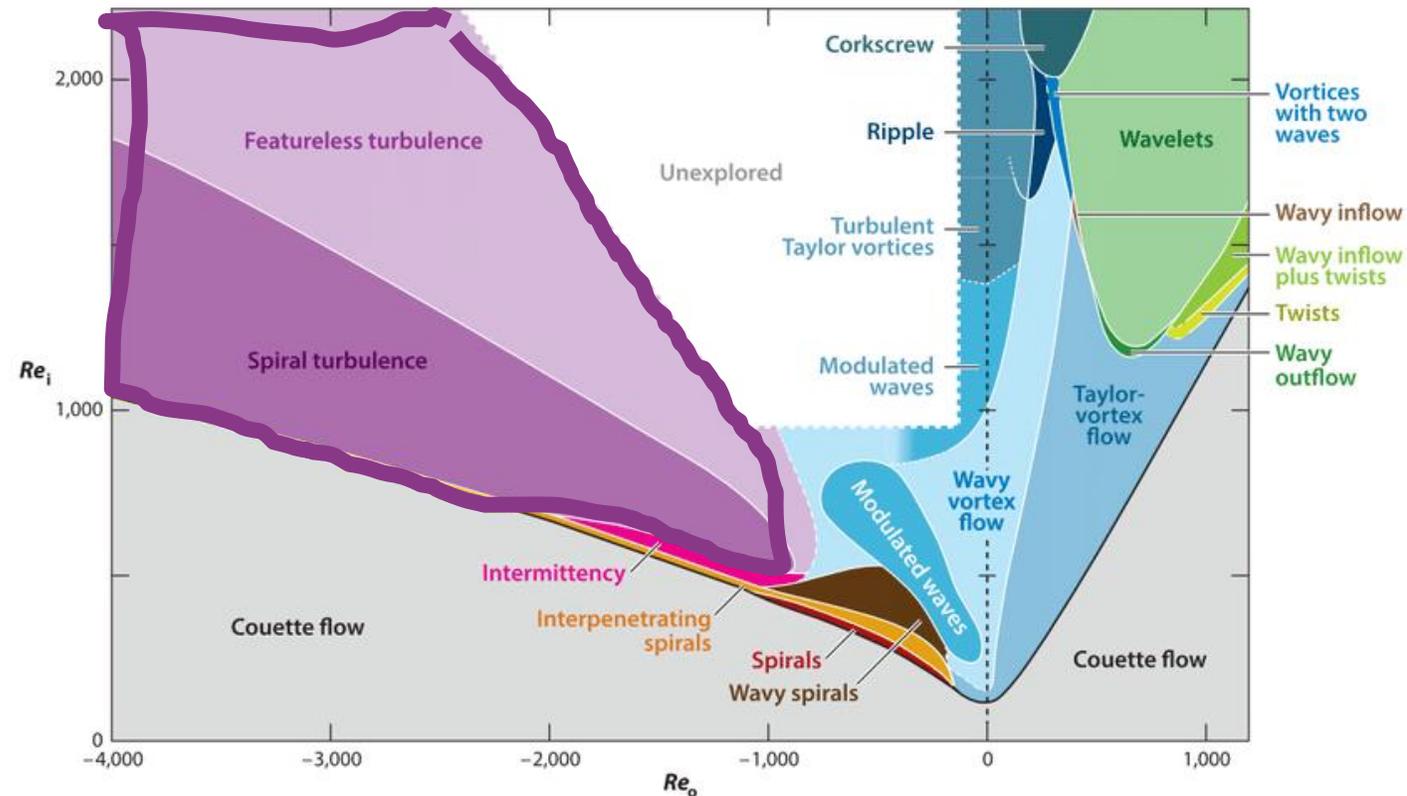
Oxygénation
Ventilation
Endothelium pulmonaire
Réseau microvasculaire

Un dispositif de libération de plaquettes basé sur un système couette

❖ A la recherche des zones de turbulence



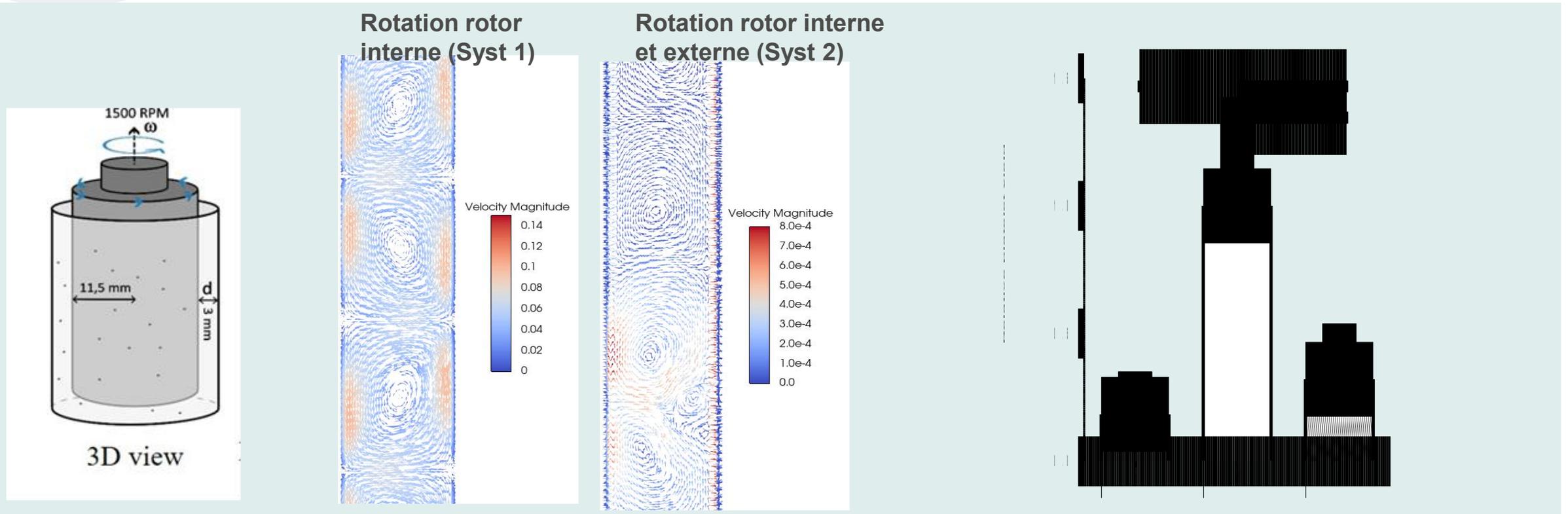
3D view



Un dispositif de libération de plaquettes basé sur un système couette

❖ Un bioréacteur pleinement turbulent

Système « couette »



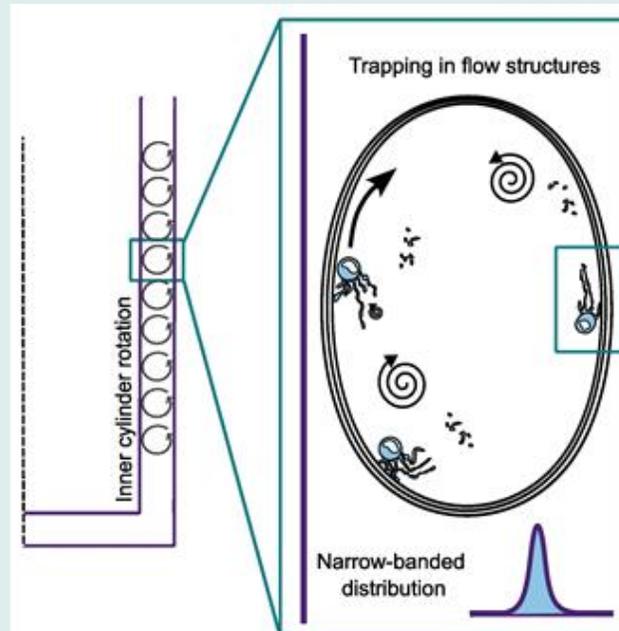
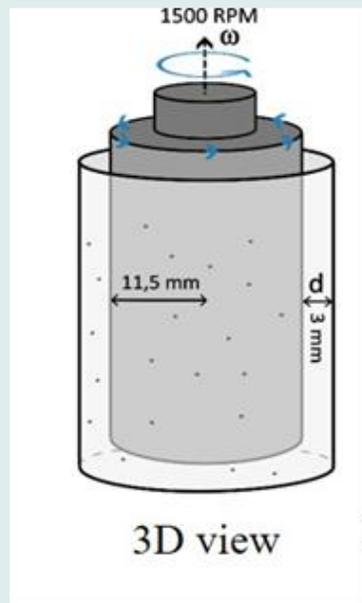
Garzon et al, Sci Rep, 2025

Un dispositif de libération de plaquettes basé sur un système couette

❖ Un bioréacteur pleinement turbulent

Système « couette »

80 plts/MK
(CD34)



Avantages du système

- Force du flux est reproductible sur toute la hauteur du bioréacteur indépendamment de sa taille
- facilement transposable à de grands volumes sans perte d'efficacité sur la libération des plaquettes

Garzon et al, Sci Rep, 2025