

## **Master 2 Reproduction et Développement** **Stage de recherche 2025-2026**

Stage proposé par

**Nom et adresse du Laboratoire ou de l'Unité :**

Laboratoire "Human Immunology, Pathophysiology, Immunotherapy", Unité Inserm 1342  
Hôpital Saint-Louis - 1 Av. Claude Vellefaux, 75010 Paris

**Téléphone :** 06 31 82 32 71

**Mail :** lucie.guilbaud@aphp.fr

**Site internet :** <https://hipi-lab-saint-louis.fr/research-teams/stem-cells-biotechnologies/>

**Directeur du Laboratoire ou de l'Unité :** Pr Jérôme Larghero

**Intitulé de l'équipe d'accueil :** Biotechnologie des cellules souches - Équipe thérapie fœtale

**Prénom et NOM du Responsable de l'équipe :** Dr Lucie GUILBAUD

**Résumé du thème de recherche de l'équipe**

Notre équipe travaille au développement de la thérapie cellulaire comme traitement adjuvant de la chirurgie in utero des myéloméningocèles depuis 2017. Les myéloméningocèles, encore parfois appelés spina bifida, sont des malformations congénitales du rachis et de la moelle épinière entraînant un handicap complexe. Les bénéfices de la chirurgie in utero des myéloméningocèles sont démontrés depuis le début des années 2010 mais ces derniers restent limités, d'où l'intérêt de développer un traitement adjuvant, afin d'améliorer la réparation de la moelle épinière et le pronostic des enfants.

Nous avons mis au point un patch de cellules stromales mésenchymateuses dérivées de cordons ombilicaux (CSM-CO). Nos travaux de recherche ont permis la caractérisation précise du patch de CSM-CO et la démonstration in vivo de son efficacité et de son innocuité in vivo chez le modèle ovin de myéloméningocèle. Ainsi, nous avons montré que ce traitement adjuvant permet une amélioration des fonctions motrices, une préservation du tissu nerveux, et une diminution de la fibrose au niveau de la cicatrice de réparation de la myéloméningocèle. Ces résultats nous ont permis d'obtenir un financement pour débiter un essai clinique qui doit ouvrir début 2026 à l'hôpital Trousseau à Paris.

Nous souhaitons à présent étudier l'utilisation des vésicules extracellulaires dérivées des CSM-CO dans cette indication. Notre équipe est composée de médecins chercheurs (gynécologues obstétriciens), d'une pharmacienne chercheuse spécialisée en biothérapie, et d'un ingénieur de recherche. Nous travaillons au sein d'une unité particulièrement dynamique regroupant des cliniciens et des chercheurs dans un environnement propice au développement de médicaments de thérapie innovante.

## Master 2 Reproduction et Développement Stage de recherche 2025-2026

**Titre du projet de stage :** Développement d'une thérapie fœtale des myéloméningocèles utilisant des vésicules extra-cellulaires dérivées de cellules stromales mésenchymateuses

**Responsable du stage :** Lucie GUILBAUD

Tel : 06 31 82 32 71

Mail : lucie.guilbaud@aphp.fr

### Projet de stage

L'objectif principal de notre étude est d'évaluer le potentiel neuroprotecteur des vésicules extracellulaires (VE) dérivées de CSM-CO, dans le cadre d'un traitement *in utero* des MMC.

Les étapes de ce projet sont les suivantes :

- 1. Modélisation neuronale *in vitro* :**
  - Différenciation des progéniteurs de motoneurones en motoneurones humains matures.
  - Mise en place d'un protocole de mort neuronale permettant d'évaluer les propriétés neuroprotectrices de différents produits (notamment les VE).
- 2. Production et caractérisation des VE :**
  - Isoler des CSM-CO par la méthode des explants puis culture
  - Création d'une banque de surnageants issus de CSM-CO (sécrétome)
  - Extraction des VE par Tangential Flow Filtration (TFF) à partir du sécrétome
  - Mise au point de la caractérisation des VE : analyse de suivi des nanoparticules (NTA), Western Blot, cytométrie
- 3. Études comparatives des effets neuroprotecteurs** du sécrétome des CSM et des VE sur la survie des motoneurones en culture
- 4. Mise en place d'un modèle *in vivo*** de MMC permettant de vérifier les effets des VE observés *in vitro*

L'étape 1 de ce projet est en cours avec des résultats très encourageants. Au cours de l'année 2025-2026, l'étudiant se concentrera essentiellement sur l'étape 2 avec une possibilité de débiter les études comparatives des effets neuroprotecteurs, selon l'état d'avancement du projet.

### Techniques mises en œuvre par le stagiaire :

- Culture cellulaire (CSM, motoneurones)
- Tangential Flow Filtration
- Analyse de suivi des nanoparticules, Western Blot, cytométrie
- Immunocytochimie Tests ELISA
- Imagerie : Confocal, Incucyte

## **Master 2 Reproduction et Développement** **Stage de recherche 2025-2026**

### **Publications du Responsable de stage au cours des 5 dernières années :**

Guilbaud L, Roger K, Schmidt A, Chhuon C, Breimann S, Lipecka J, Dreux S, Müller SA, Zérah M, Larghero J, Jouannic JM, Lichtenthaler SF, Guerrero IC. Molecular insights into myelomeningocele via proteomic analysis of amniotic fluid. *J Proteomics*. 2025 Jan 6;313:105372. doi: 10.1016/j.jprot.2024.105372

Athiel Y, Jouannic JM, Lépine M, Maillet C, de Saint Denis T, Larghero J, Guilbaud L. Role of Amniotic Fluid Toxicity in the Pathophysiology of Myelomeningocele: A Narrative Literature Review. *Prenat Diagn*. 2024 Nov;44(12):1530-1535. doi: 10.1002/pd.6681

Athiel Y, Cariot L, Jouannic JM, Maillet C, Mauffré V, Adam C, Huet H, Larghero J, Nasone J, Guilbaud L. Safety and efficacy of human umbilical cord-derived mesenchymal stromal cells in fetal ovine myelomeningocele repair. *Stem Cell Res Ther*. 2024 Nov 20;15(1):444. doi: 10.1186/s13287-024-03991-y.

Guilbaud L, Carreras E, Garel C, Maiz N, Dhombres F, Deprest J, Jouannic JM; Workgroup Spina Bifida and other Dysraphisms (SBoD), ITHACA-eUROGEN European reference networks. Proposal for standardized prenatal assessment of fetal open dysraphisms by the European reference network for Intellectual disability, TeleHealth, Autism and Congenital Anomalies (ITHACA) and eUROGEN. *Prenat Diagn*. 2024 Aug;44(9):1073-1087. doi: 10.1002/pd.6618.

Athiel Y, Jouannic JM, Mauffré V, Dehan C, Adam C, Blot S, Lallemand P, De Saint Denis T, Larghero J, Nasone J, Guilbaud L. Allogenic umbilical cord-derived mesenchymal stromal cells improve motor function in prenatal surgical repair of myelomeningocele: An ovine model study. *BJOG*. 2024 May;131(6):759-767. doi: 10.1111/1471-0528.17624. Epub 2023 Jul 26. PMID: 37492999.

Athiel Y, Nasone J, Arakelian L, Faivre L, Dugas A, Jouannic JM, Larghero J, Guilbaud L. Biodistribution of allogenic umbilical cord-derived mesenchymal stromal cells after fetal repair of myelomeningocele in an ovine model. *Stem Cell Res Ther*. 2022 Jul 15;13(1):300. doi: 10.1186/s13287-022-02991-0.

Guilbaud L, Dugas A, Weber M, Deflers C, Lallemand P, Lilin T, Adam C, Cras A, Mebarki M, Zérah M, Faivre L, Larghero J, Jouannic JM. In utero treatment of myelomeningocele with allogenic umbilical cord-derived mesenchymal stromal cells in an ovine model. *Curr Res Transl Med*. 2022 Jan;70(1):103314. doi: 10.1016/j.retram.2021.103314.

Vande Perre S, Guilbaud L, de Saint-Denis T, Maurice P, Lallemand-Dudek P, Maisonneuve E, Dhombres F, Blondiaux E, Ducou le Pointe H, Zérah M, Jouannic JM, Garel C. The Myelic Limited Dorsal Malformation: Prenatal Ultrasonographic Characteristics of an Intermediate Form of Dysraphism. *Fetal Diagn Ther*. 2021;48(9):690-700. doi: 10.1159/000519060.

Dugas A, Larghero J, Zérah M, Jouannic JM, Guilbaud L. Cell therapy for prenatal repair of myelomeningocele: A systematic review. *Curr Res Transl Med*. 2020 Nov;68(4):183-189. doi: 10.1016/j.retram.2020.04.004. Epub 2020 Jul 2. PMID: 32624428.

<b>Autres informations :</b>
------------------------------

### **Étudiants actuellement en thèse ou en M2 dans l'équipe d'accueil.**

Mélodie LUK (M2, Dr Guilbaud/Dr Athiel)

Yoann ATHIEL (Thèse, Pr Larghero/Dr Guilbaud, 2022-..., École doctorale « Hématologie – Oncogène – Biothérapies)

### **Étudiants ayant préparé ou soutenu leur thèse ou leur M2 dans l'équipe d'accueil au cours des six dernières années.**

23-24 : Corentin MAILLET (Dr Guilbaud)

22-23 : Laura CARIOT (Dr Guilbaud)

21-22 : Enora PARC (Dr Guilbaud)

20-21 : Yoann Athiel (Dr Guilbaud)

18-19 : Anaïs DUGAS (Dr Guilbaud)

**Master 2 Reproduction et Développement**  
**Stage de recherche 2025-2026**

**Cette proposition de stage s'adresse-t-elle spécifiquement à un étudiant scientifique, médecin ou vétérinaire ou bien est-il ouvert à tous les profils ?**

Ce stage est ouvert à tous les profils.

**Ce sujet peut-il donner lieu à une thèse ?**

Oui, ce sujet peut donner lieu à une thèse.