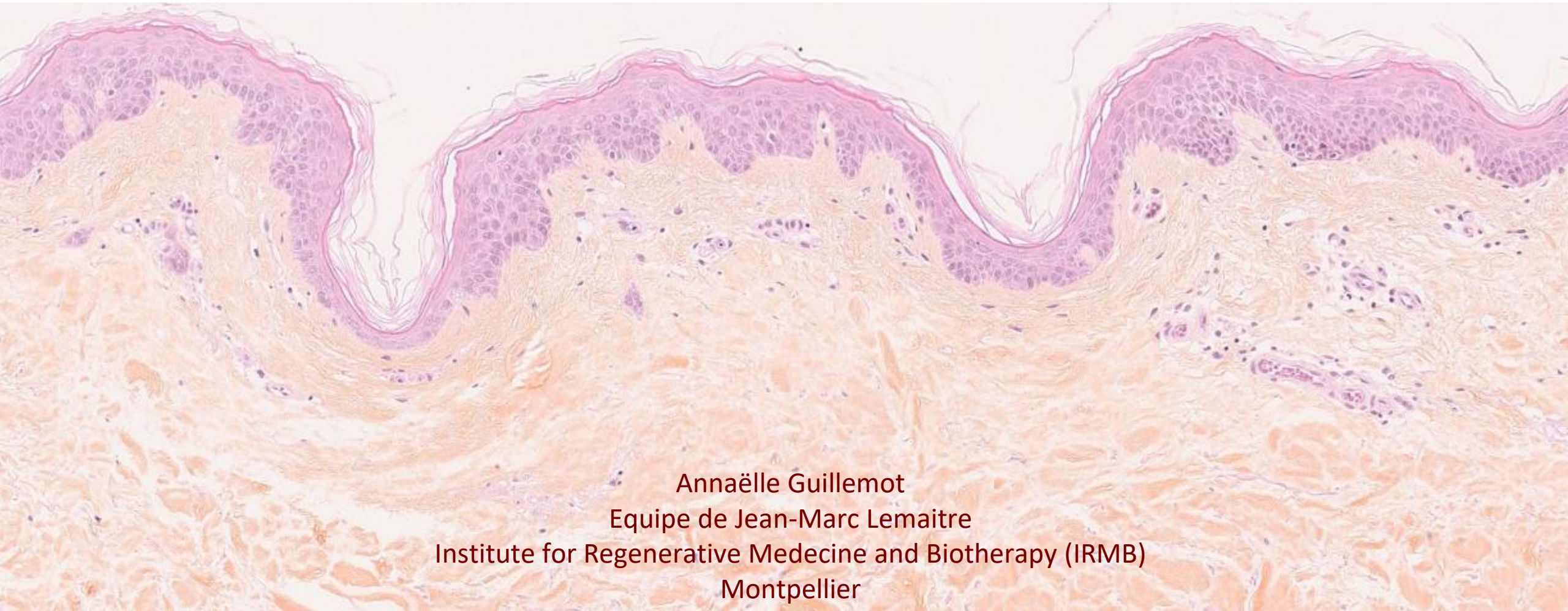


# Approche histologique de l'étude du vieillissement dans un modèle de peau reconstruite in vitro



Annaëlle Guillemot  
Equipe de Jean-Marc Lemaître  
Institute for Regenerative Medicine and Biotherapy (IRMB)  
Montpellier

# Interdiction des tests cosmétiques sur la peau

Nouvelle directive pour interdire :  
Tests des produits cosmétiques finis sur des animaux  
Tests des ingrédients cosmétiques  
Commercialisation des cosmétiques testés sur les animaux  
Commercialisation des ingrédients testés sur les animaux

Mise en vigueur de l'interdiction de tester des produits cosmétiques finis sur des animaux.

2004

Interdiction étendue aux ingrédients cosmétiques et la commercialisation de nombreux cosmétiques testés sur les animaux.

2009

Report de l'interdiction aux années 2000 par manque d'alternatives.

1997

Première directive pour interdire les cosmétiques testés sur les animaux. Date limite : 1998

1993

Interdiction total sans exception possible.

2013

# Interdiction des tests cosmétiques sur la peau

Nouvelle directive pour interdire :  
Test des produits cosmétiques finis sur des animaux  
Test des ingrédients cosmétiques  
Commercialisation des cosmétiques testés sur les animaux  
Commercialisation des ingrédients testés sur les animaux

2003

Mise en vigueur de l'interdiction de tester des produits cosmétiques finis sur des animaux.

2004

## Quelles alternatives cutanées ont été développées pour remplacer l'expérimentation animale?

1997

1996

1995

1994

1992

1993

Première directive pour interdire les cosmétiques testés sur les animaux. Date limite : 1998

2011

Interdiction total sans exception possible

2013

2014

2015

# Présentation et fonctions de la peau

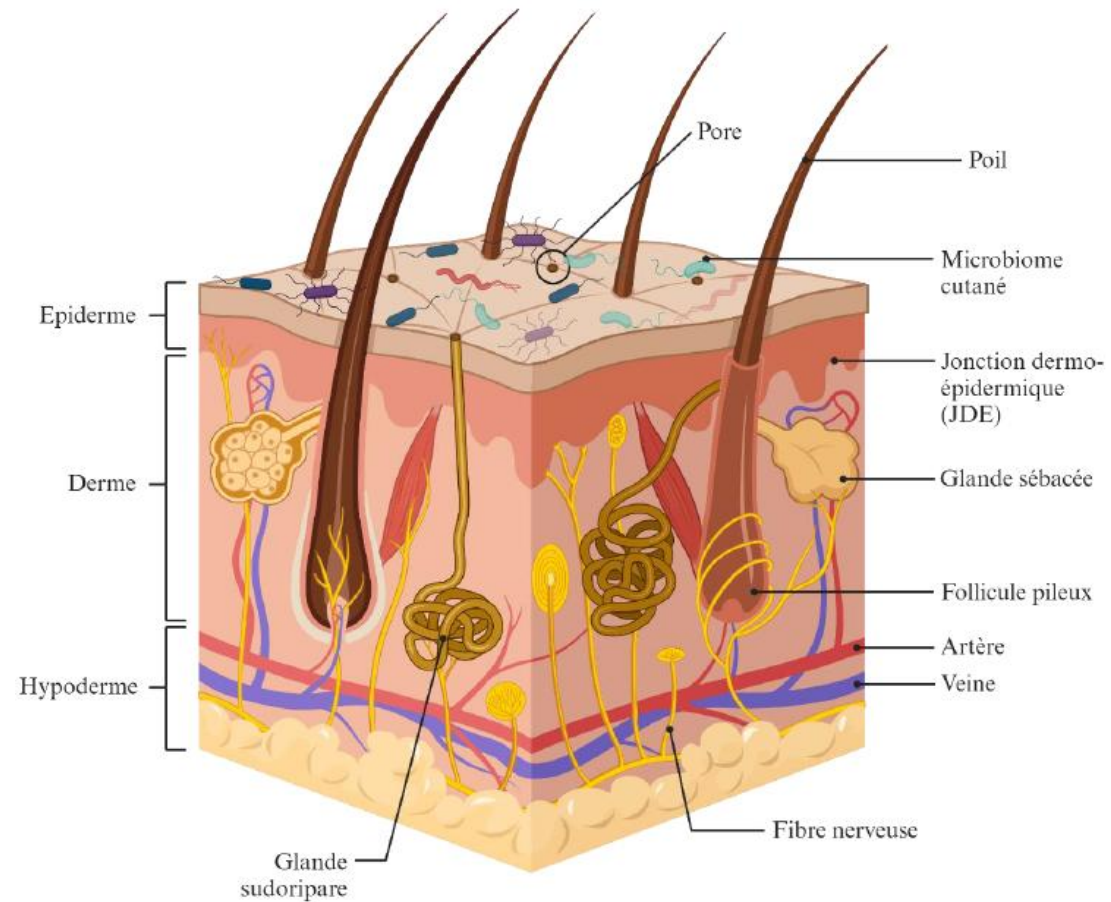
La peau fait partie du **système tégumentaire** qui comprends également les poils, les cheveux et les ongles (phanères).

Son poids est compris entre **3.5 et 10 Kg** et sa surface entre **1.5 et 2 m<sup>2</sup>**.

Son épaisseur moyenne est de **2 mm**, elle varie de **1 mm** au niveau des paupières à **4 mm** sur les paumes et les plantes.

La peau a différentes fonctions : **barrière**, (UV, mécaniques, antimicrobienne), **thermorégulation**, activité **endocrine** (Vitamines D), activité **exocrine** (eau, sueur, sébum), **sensorielle** avec une sensibilité mécanique, thermique et à la douleur, contrôle de l'**hydratation** et une activité **immunologique**.

# La structure de la peau



*Figure 1 : La peau et de ses annexes cutanées*

# La structure de la peau

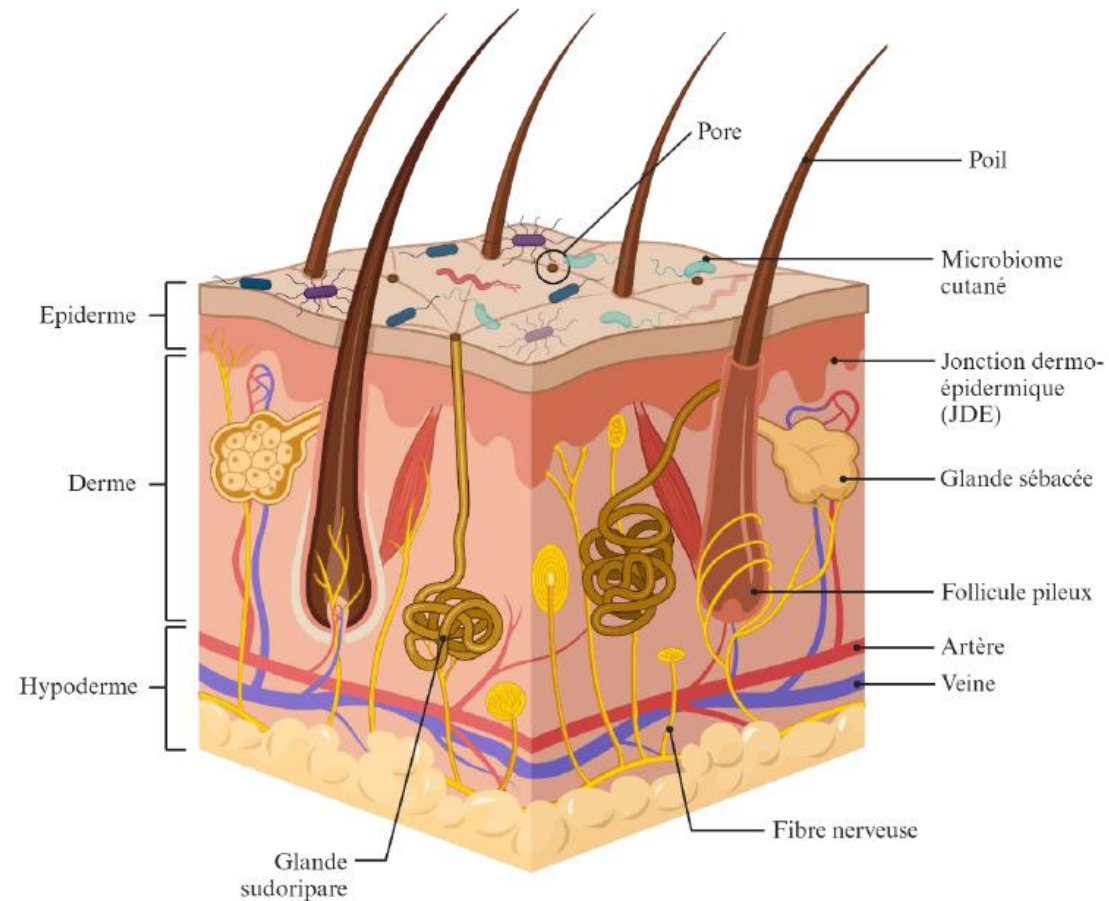


Figure 1 : La peau et de ses annexes cutanées

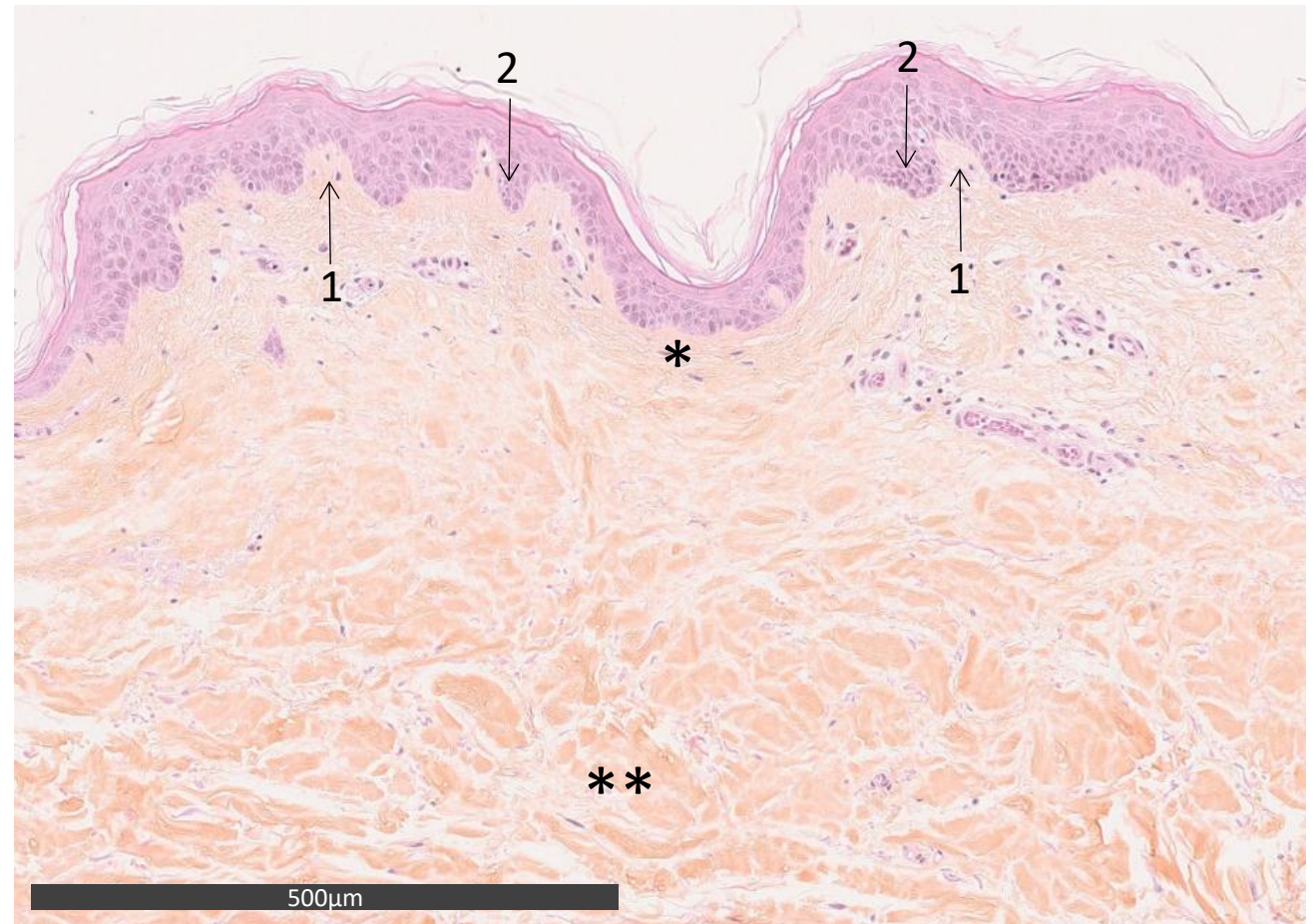


Figure 2: \* Derme papillaire, situé sous dans les papilles dermiques (1), les crêtes épidermiques (2).\*\*Derme réticulaire situé en profondeur. Coloration HES d'un explant de peau humaine, 10 X

## Composition du dermes – les Cellules

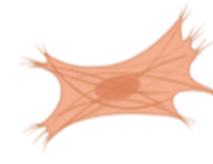
- Les cellules : fibroblastes, fibrocyte, myofibroblastes, macrophage, cellules dendritique, mastocyte



Fibroblaste



Fibrocyte



Myofibroblaste



Macrophage



Cellule  
dendritique



Mastocyte

# Composition du derme – La Matrice Extracellulaire (MEC)

- Les cellules : fibroblastes, fibrocyte, myofibroblastes, macrophage, cellules dendritique, mastocyte
- Les fibres : de collagènes et élastiques procure son élasticité et sa résistance à la peau

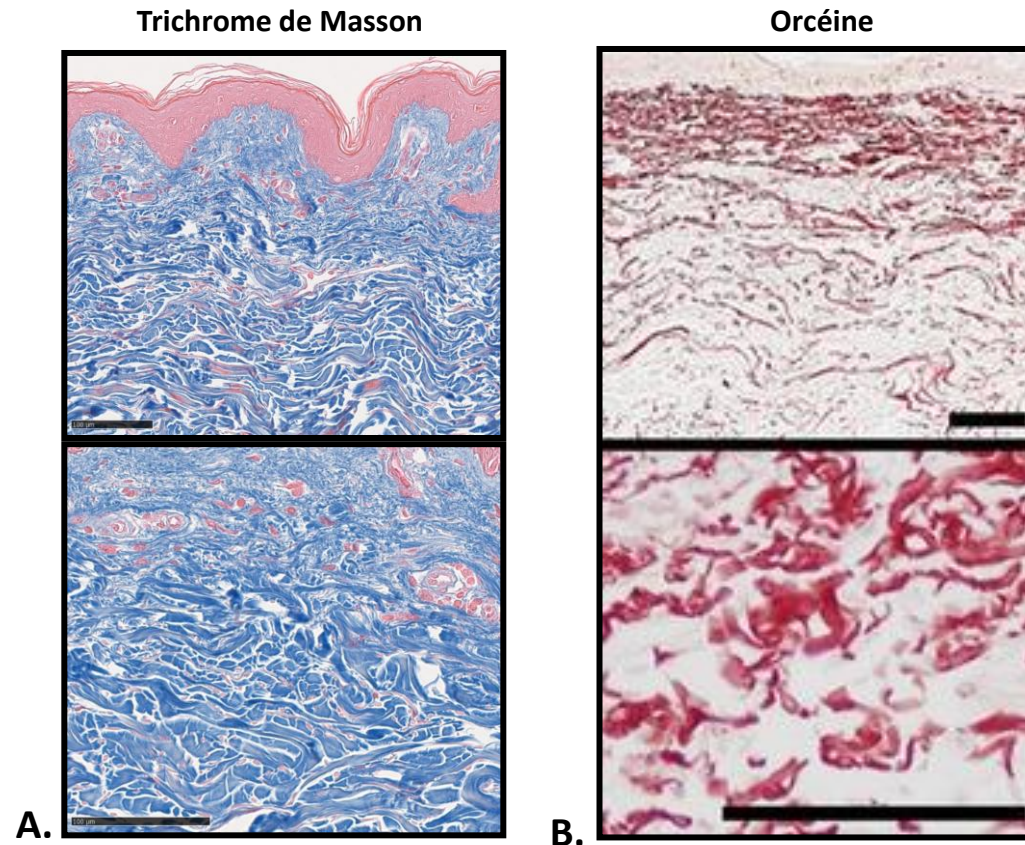


Figure 3: **A** Coloration Trichrome de Masson (TM) des fibres de collagènes d'un explant de peau abdominale. **B.** Coloration à l'orcéine des fibres élastiques de la peau dorsale de la main. Echelles 100 μm

A. RHEM. B. Characterization of the human ridged and non-ridged skin: a comprehensive histological, histochemical and immunohistochemical analysis, Vela-Romera et al. Histochemistry and Cell Biology, 2019

# Composition du derme – La Matrice Extracellulaire (MEC)

- Les cellules : fibroblastes, fibrocyte, myofibroblastes, macrophage, cellules dendritique, mastocyte
- Les fibres : de collagènes et élastiques procure son élasticité et sa résistance à la peau
- La substance fondamentale : acide hyaluronique, glycosamisoglycane et des protéines sulfatés forment un gel compréssible.

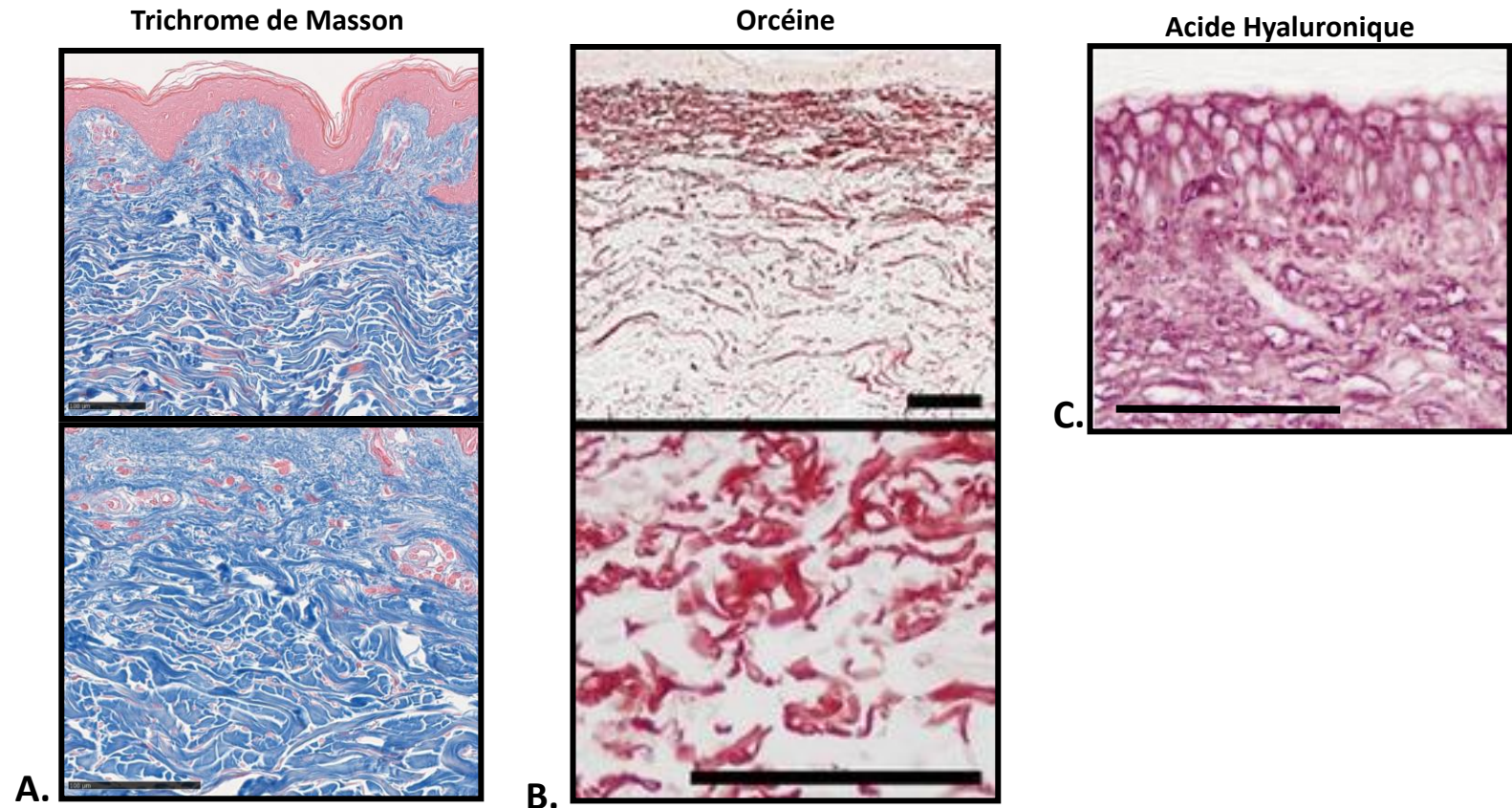
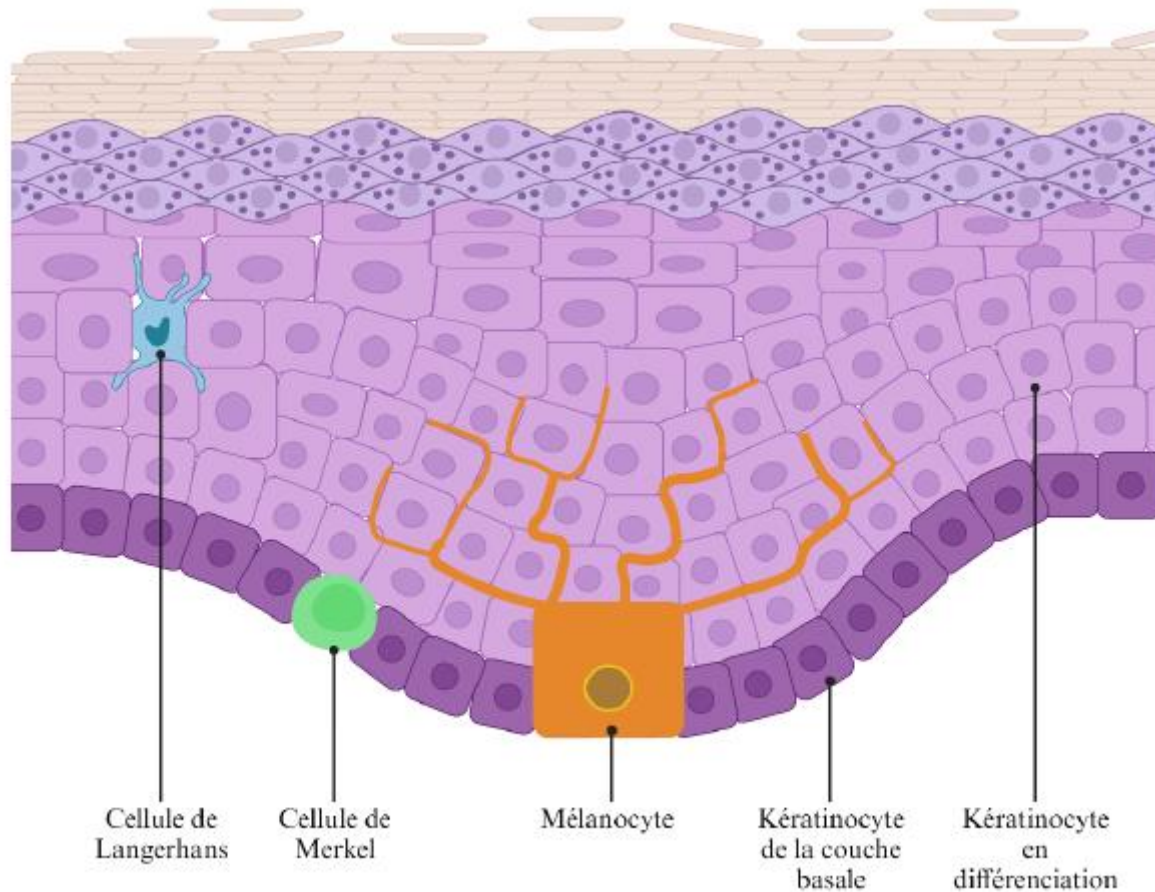


Figure 3: **A** Coloration Trichome de Masson (TM) des fibres de collagènes d'un explant de peau abdominal. **B**. Coloration à l'orcéine des fibres élastiques de la peau dorsale de la main. **C**. Coloration avec de l'HABP (acid hyaluronic binding protein) de l'acide hyaluronique d'un explant abdominal (HA). Echelles 100 μm

C. Topical stabilized retinol treatment induces the expression of HAS genes and HA production in human skin in vitro and in vivo, Li at al. Archives of Dermatological Research, 2017

# Les différentes cellules de l'épiderme



Cellules de Langerhans : Cellules immunitaires (présentatrices d'antigènes au Lymphocyte T) .

Cellules de Merkel : cellules nerveuses et récepteurs sensoriels.

Mélanocytes : Melanosome contenant la mélanine (protège des UV) transférés aux kératinocytes.

Kératinocytes : 80% des cellules de l'épiderme, se différencient (kératinisation) et migrent en 21 jours.

*Figure des différentes cellules de l'épiderme et leur fonctions*

# Les couches de l'épiderme

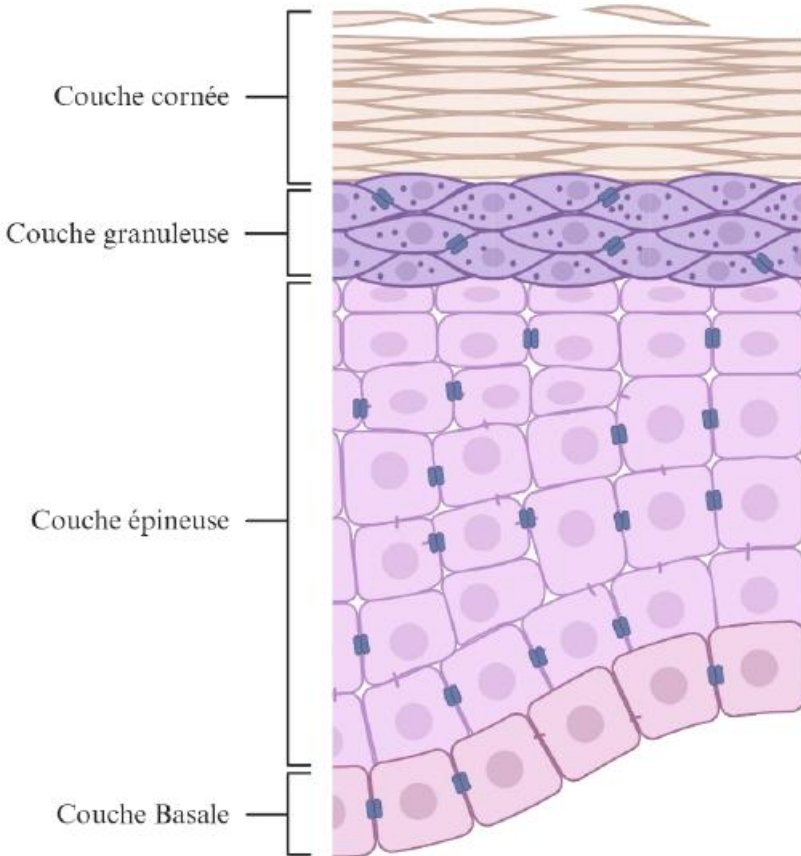


Figure : Couches de l'épiderme

**Couche basale** : cellules souches kératinocytaires (renouvellement de l'épiderme). **Marqueurs** : K14, K5, Ki67 et PCNA

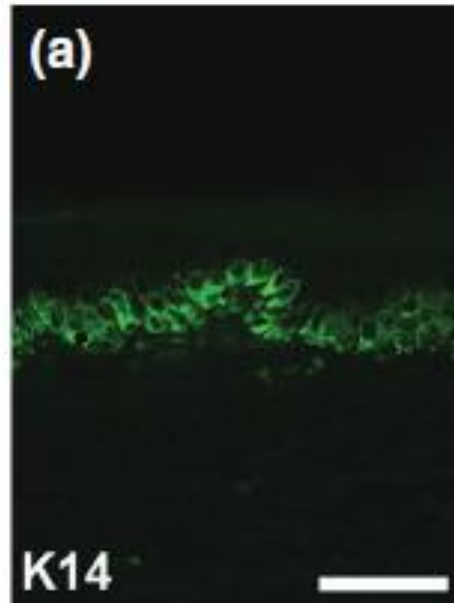


Figure : Mise en évidence de (a) la couche basale d'un explant de peau de prepuce grâce à une coloration immunofluorescente de (a) la kératine 14 (K14) en vert. Echelles 50 µm.

A novel nonsense mutation in keratin 10 causes a familial case of recessive epidermolytic ichthyosis, Gutierrez et al. Molecular Genetics & Genomic Medicine, 2013

# Les couches de l'épiderme

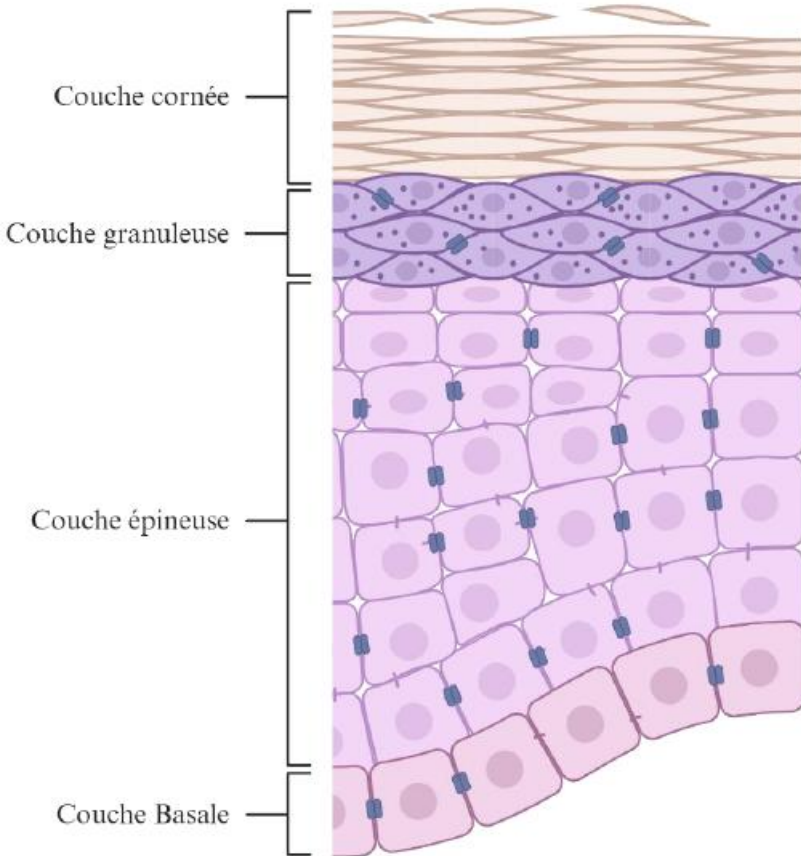


Figure : Couches de l'épiderme

**Couche granuleuse** : kératinocytes avec des grains de kératohyaline (profilaggrine) et kératinosomes (lipides).

**Couche épineuse** : kératinocytes interconnectés par des desmosomes (aspect épineux). **Marqueurs** : K1, K10

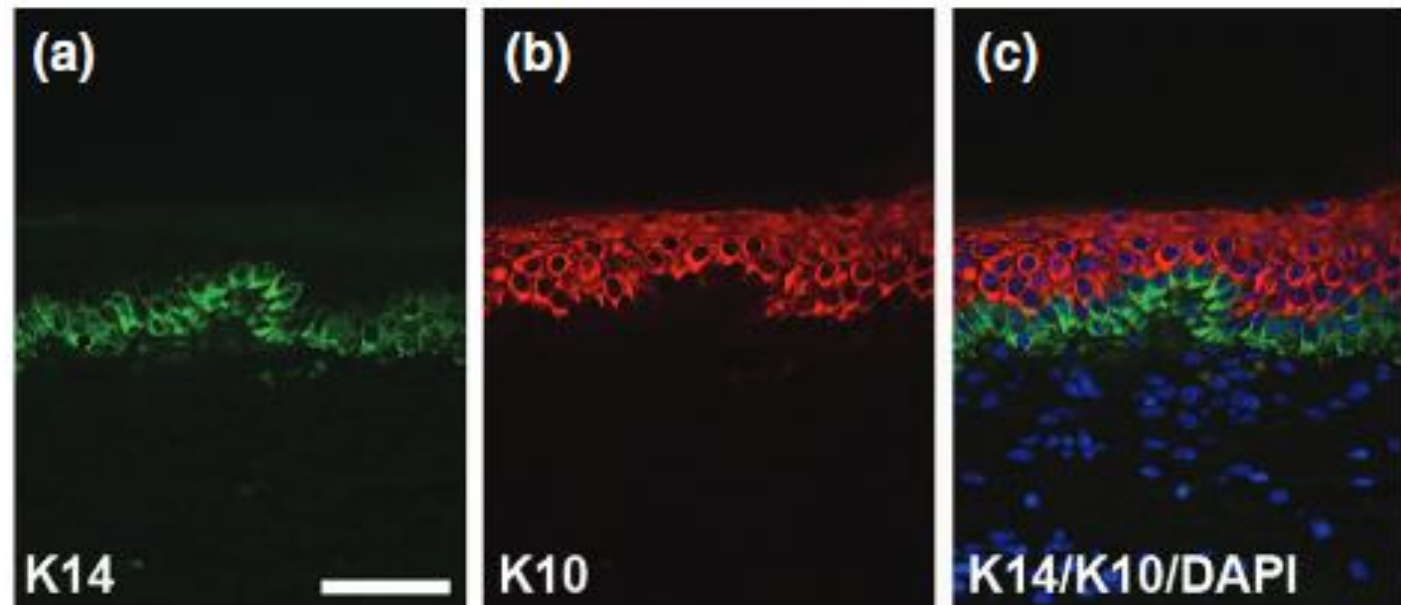


Figure : Mise en évidence de (a) la couche basale et des (b) couches granuleuse et épineuse d'un explant de peau de prepuce grâce à une coloration immunofluorescente de (a) la kératine 14 (K14) en vert, de (b) la kératine 10 (K10) en rouge et du Dapi en bleu. (c) Merge. Echelles 50 µm.

A novel nonsense mutation in keratin 10 causes a familial case of recessive epidermolytic ichthyosis, Gutierrez et al. Molecular Genetics & Genomic Medicine, 2013

# Les couches de l'épiderme

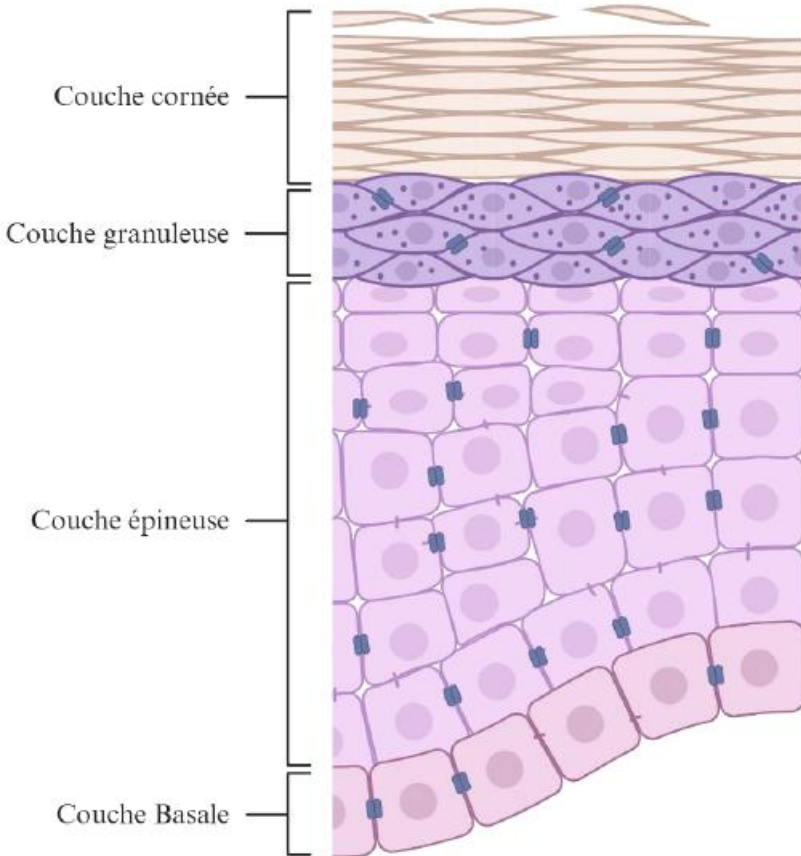


Figure : Couches de l'épiderme

**Couche cornée** : compacte et desquamante, les kératinocytes sont aplaties, énucléés et kératinisés = cornéocytes . **Marqueurs** : Loricrine, filaggrine, involucrine

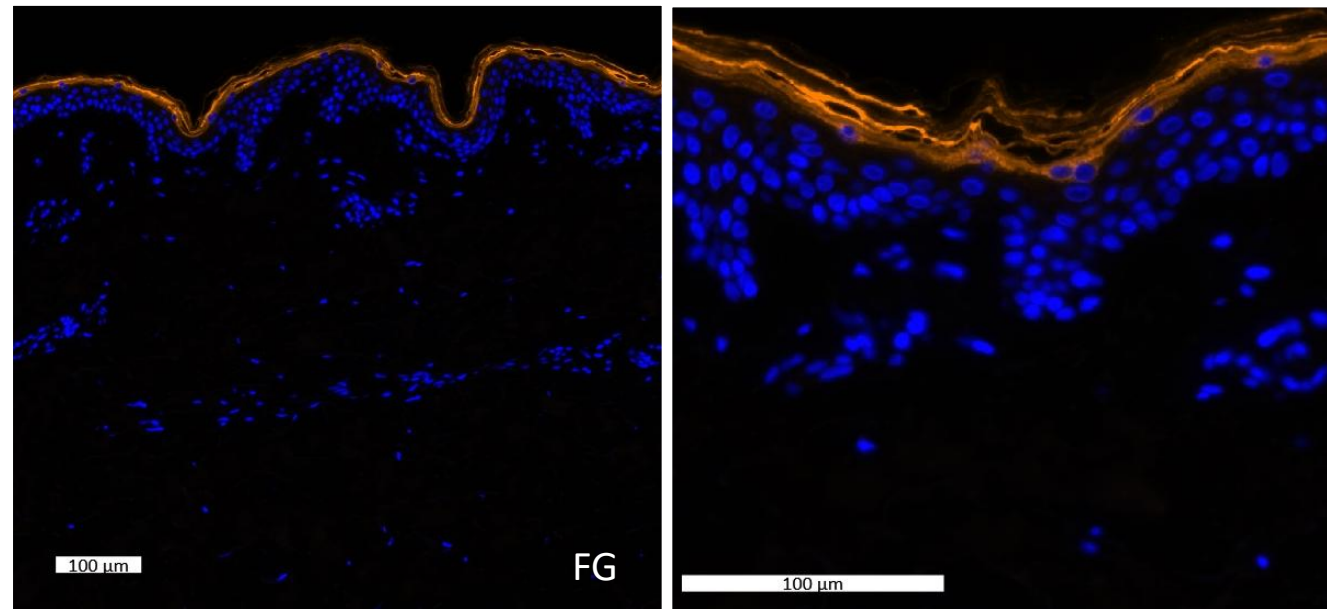
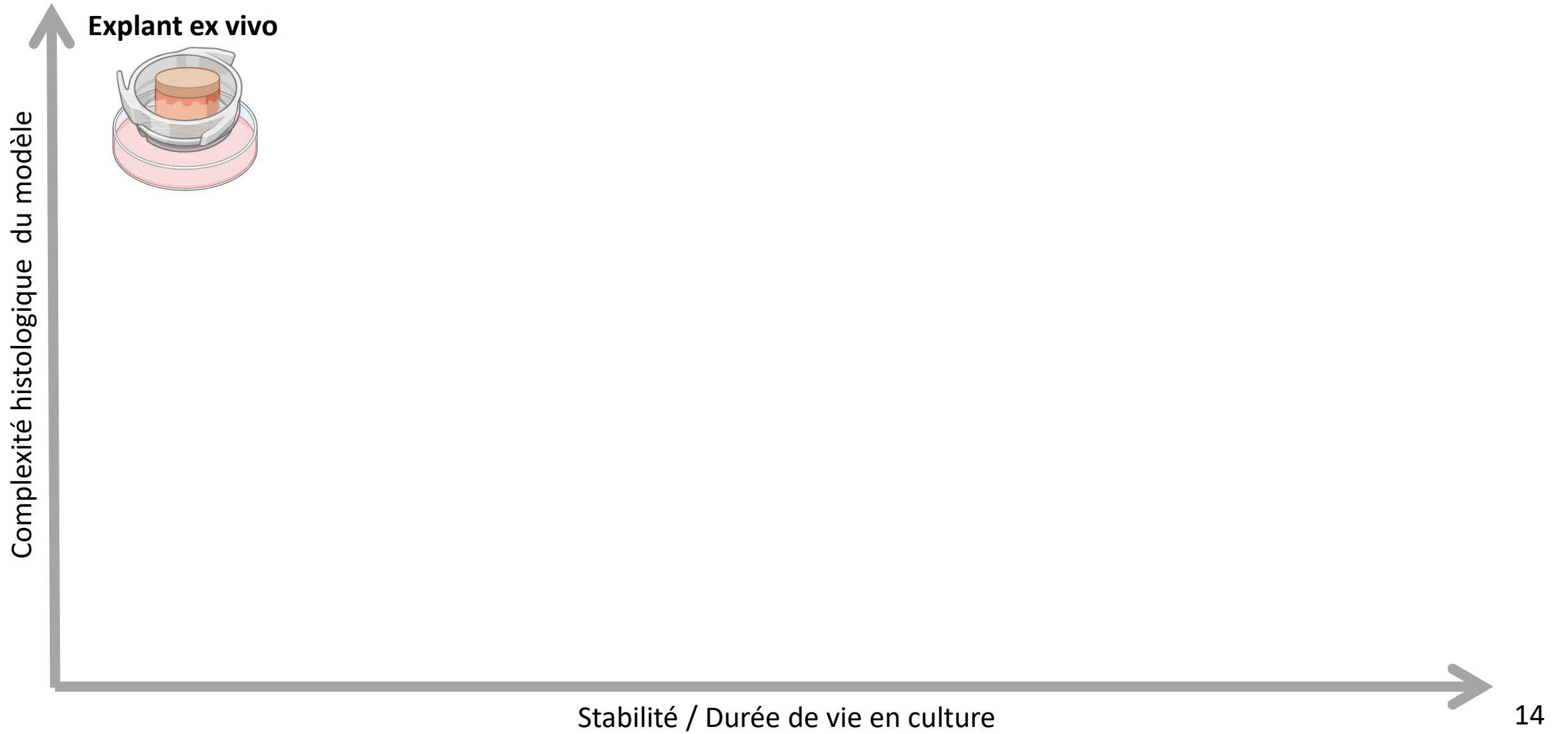


Figure : Analyse histologique de la couche cornée d'un explant de peau abdominal grâce à une coloration immunofluorescente de la filaggrine (FG) en orange et du DAPI en bleu. Echelles 100 µm

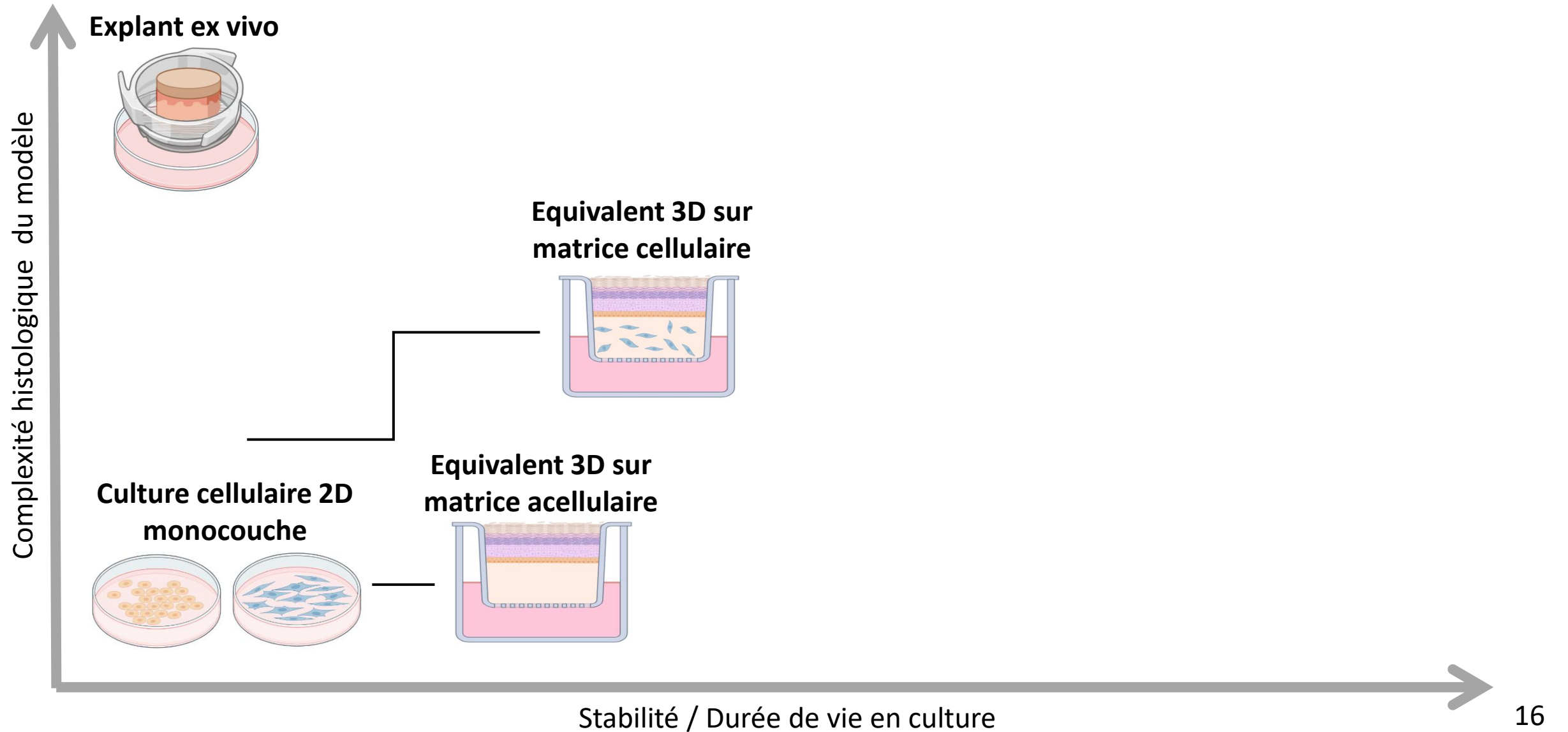
# Présentation des modèles



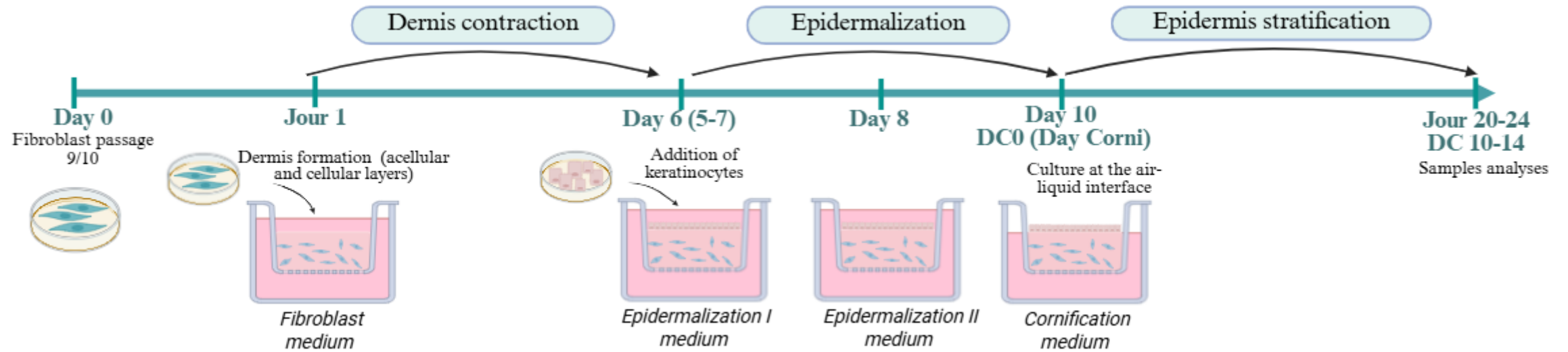
# Présentation des modèles



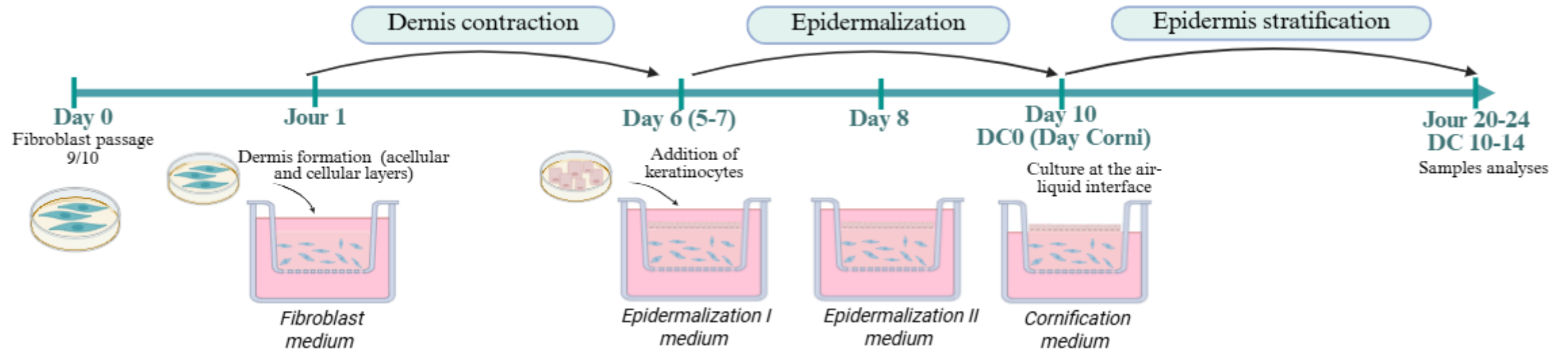
# Présentation des modèles



# Equivalent de peau 3D sur matrice cellulaire



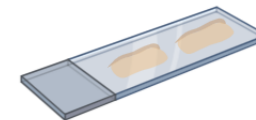
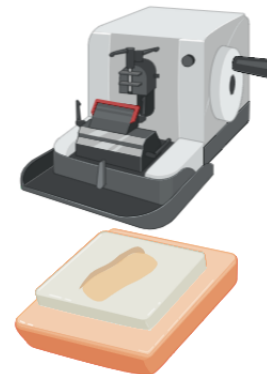
# Equivalent de peau (HSE) 3D sur matrice cellulaire



Fixation PFA  
4% 24H

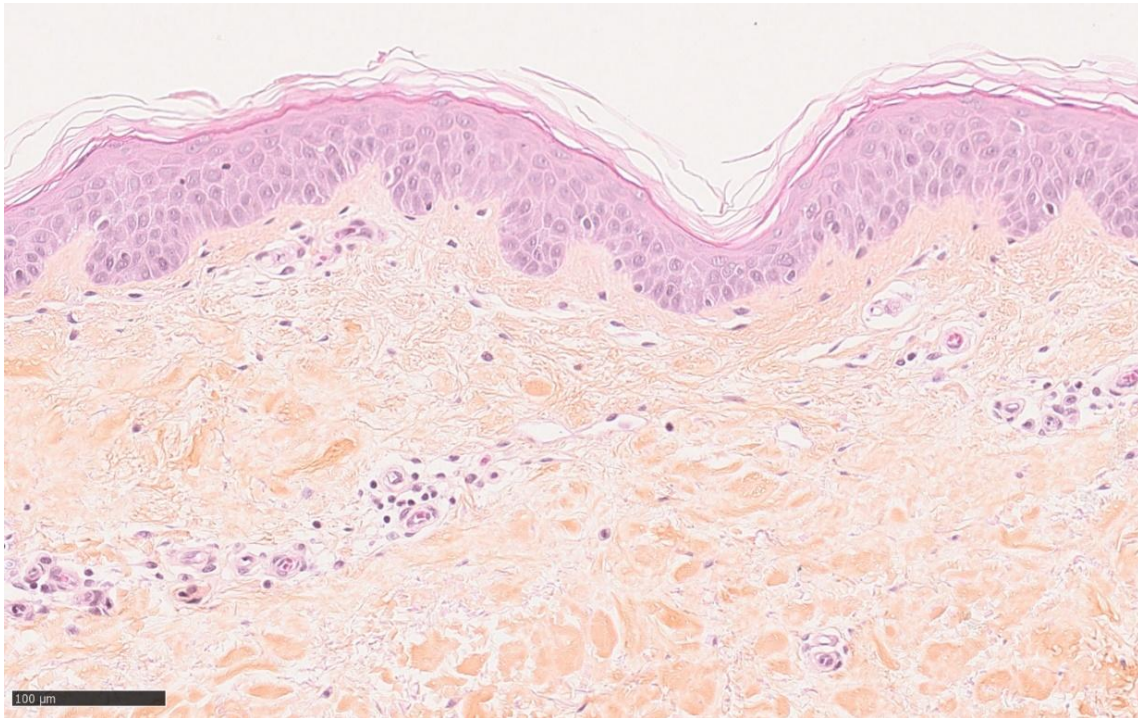


Fixation PFA  
4% 1h

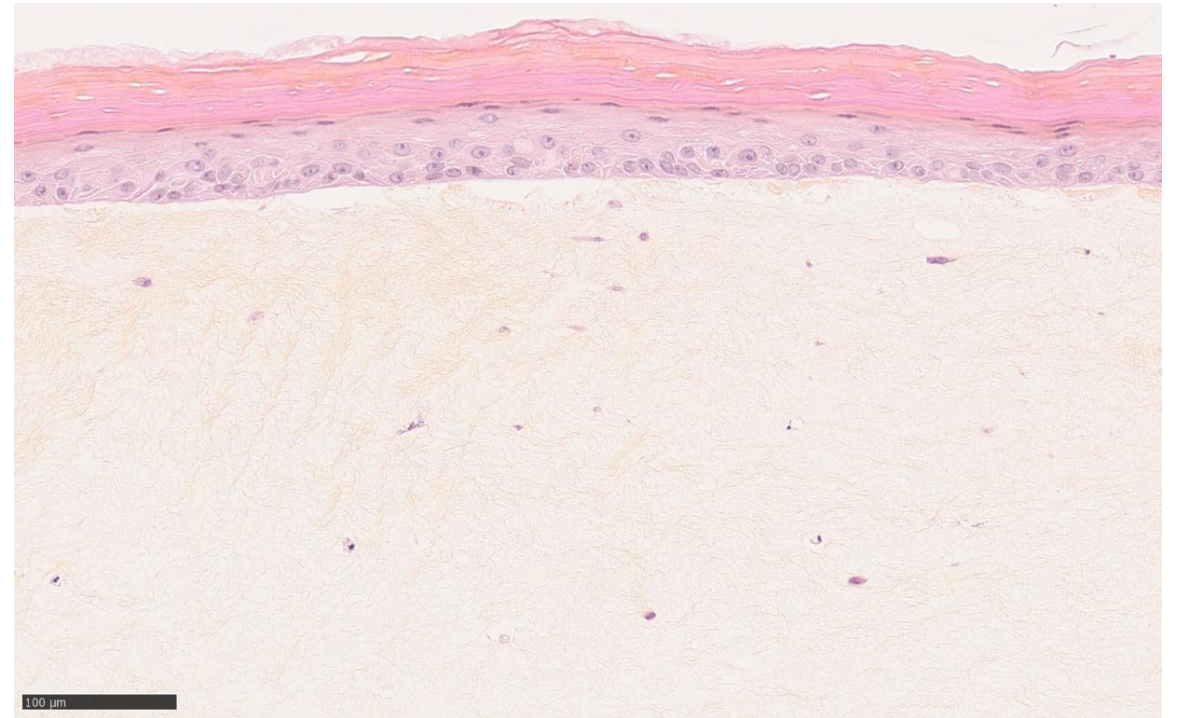


# Avantages et inconvénients des modèles de peaux HSE cellulaire

**Explant de peau**

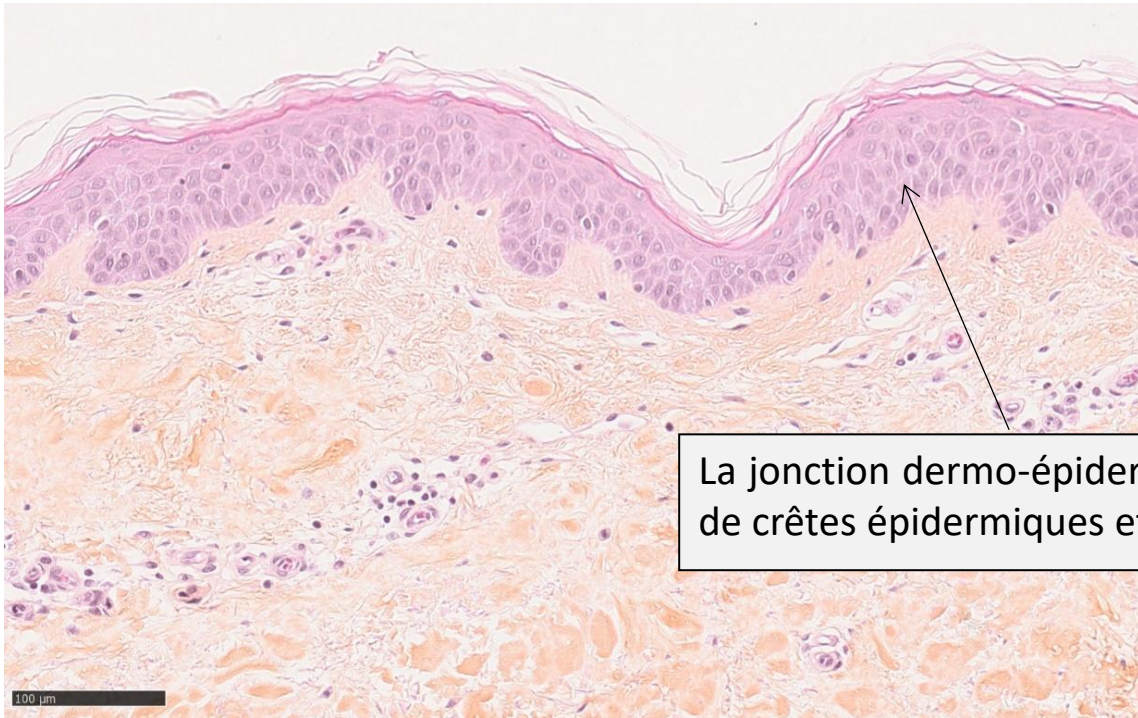


**HSE avec une matrice  
cellulaire**



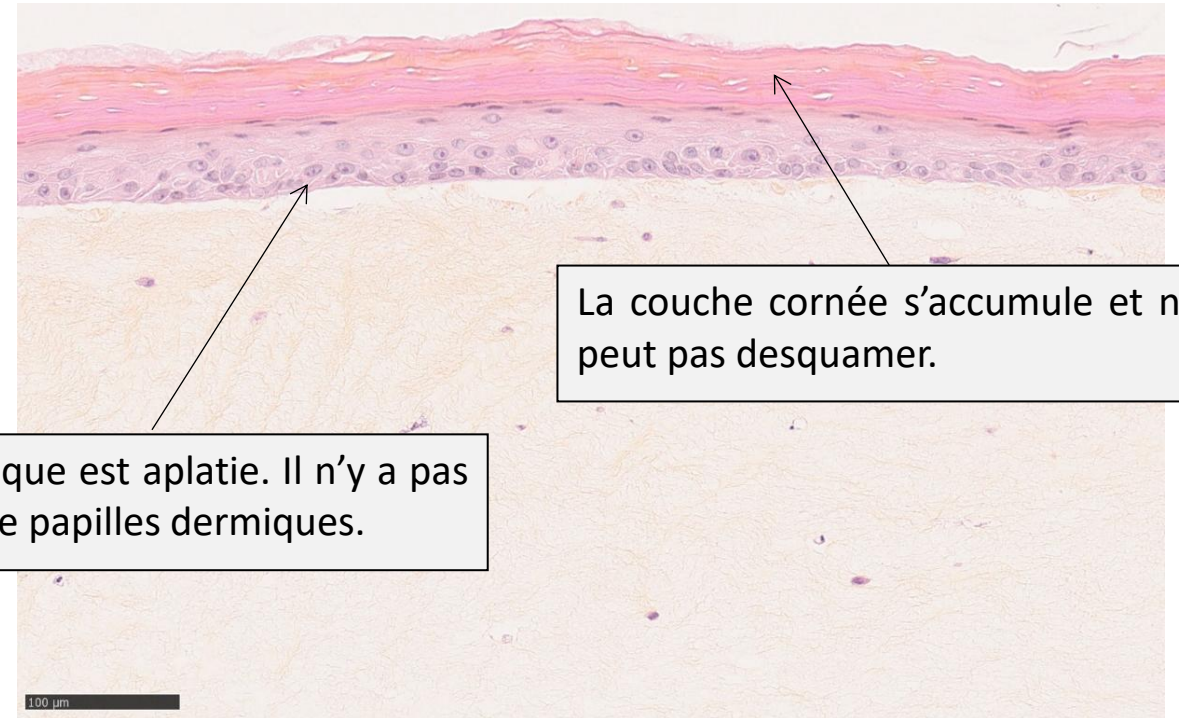
# Avantages et inconvénients des modèles de peaux HSE cellulaire

**Explant de peau**



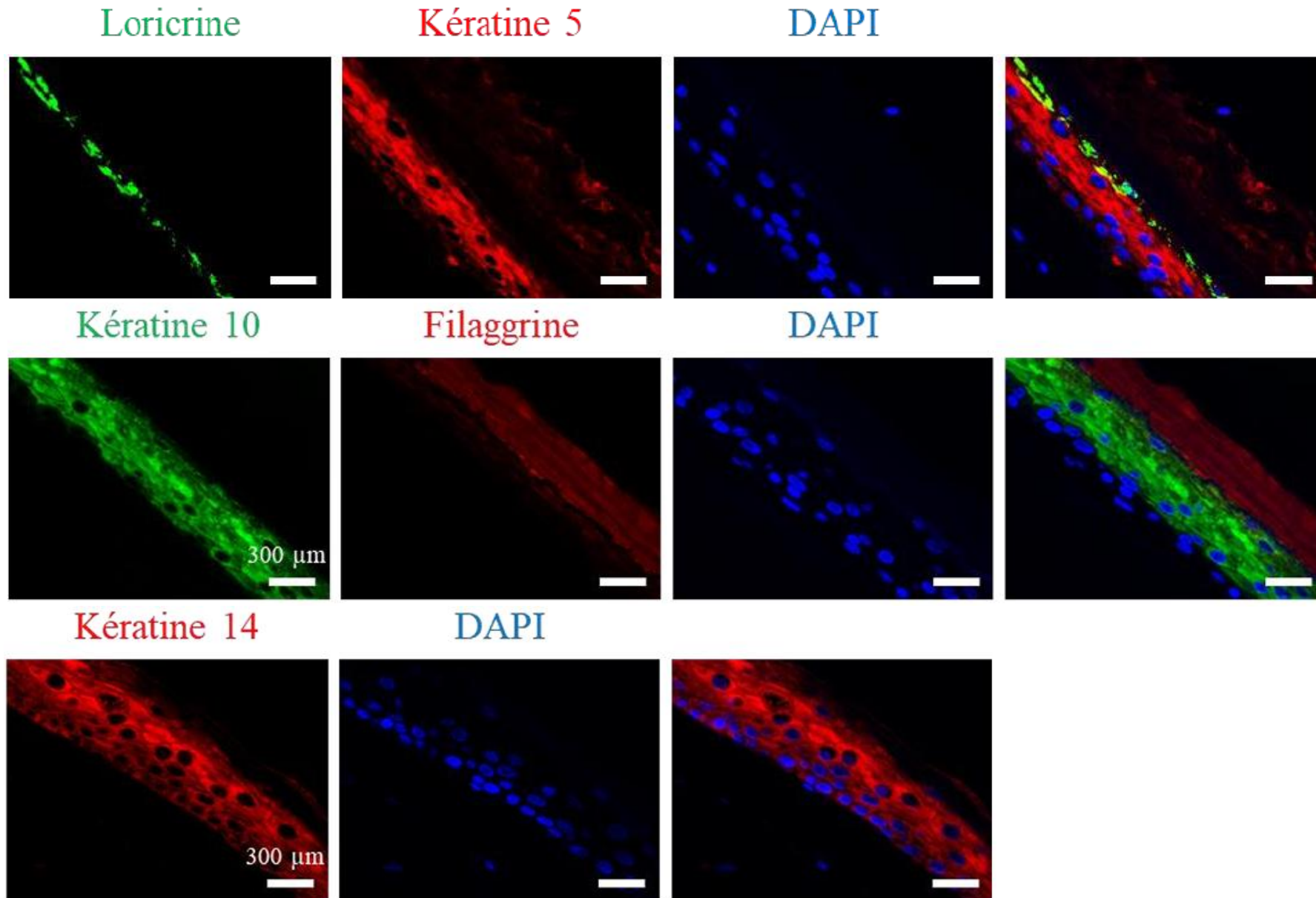
La jonction dermo-épidermique est aplatie. Il n'y a pas de crêtes épidermiques et de papilles dermiques.

**HSE avec une matrice cellulaire**

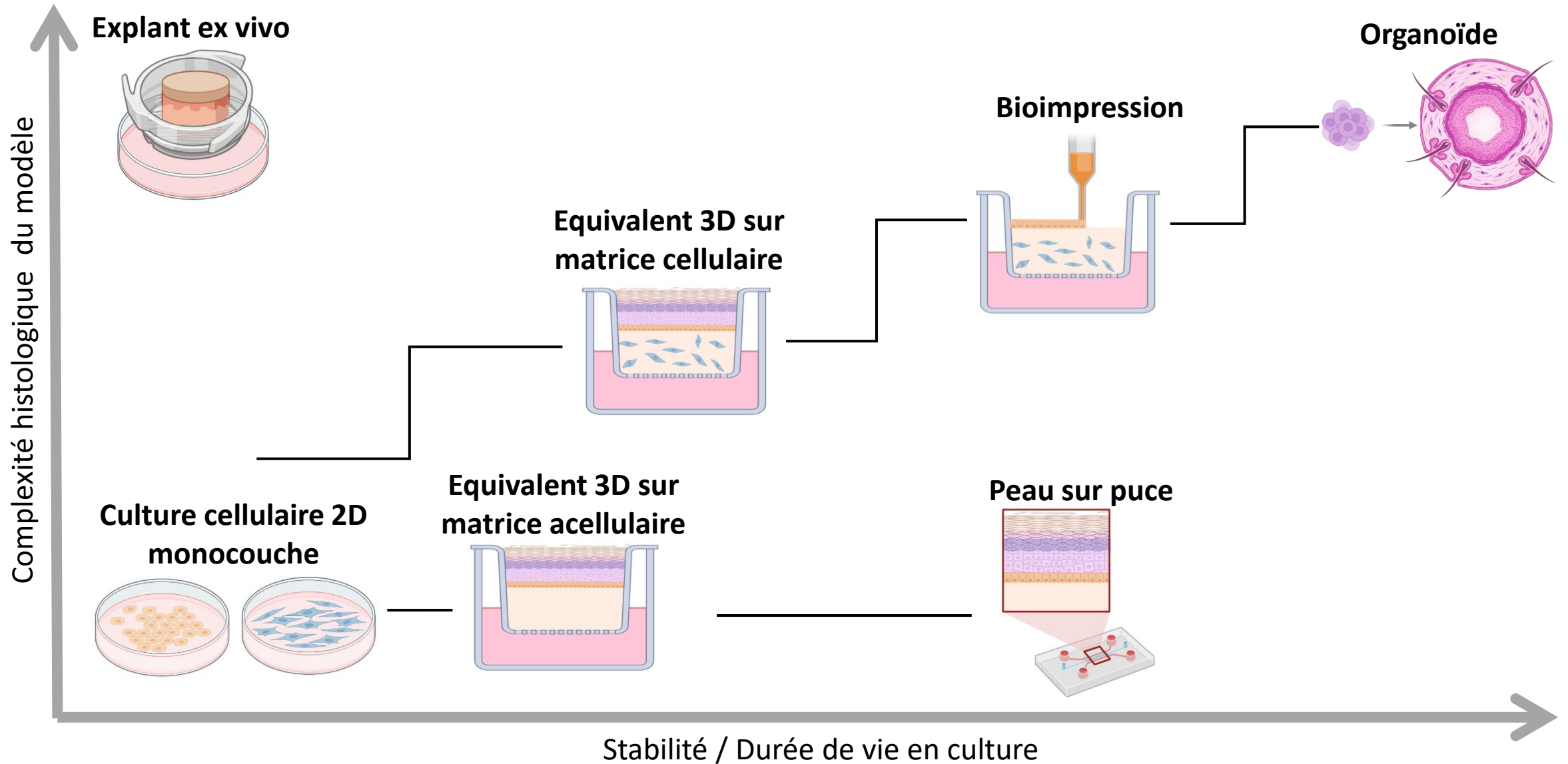


La couche cornée s'accumule et ne peut pas desquamer.

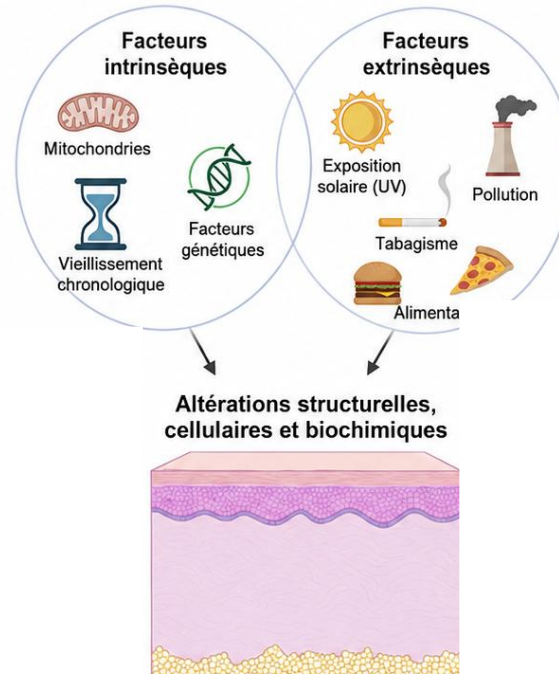
# Avantages et inconvénients des modèles de peaux HSE cellulaire



# Présentation des modèles

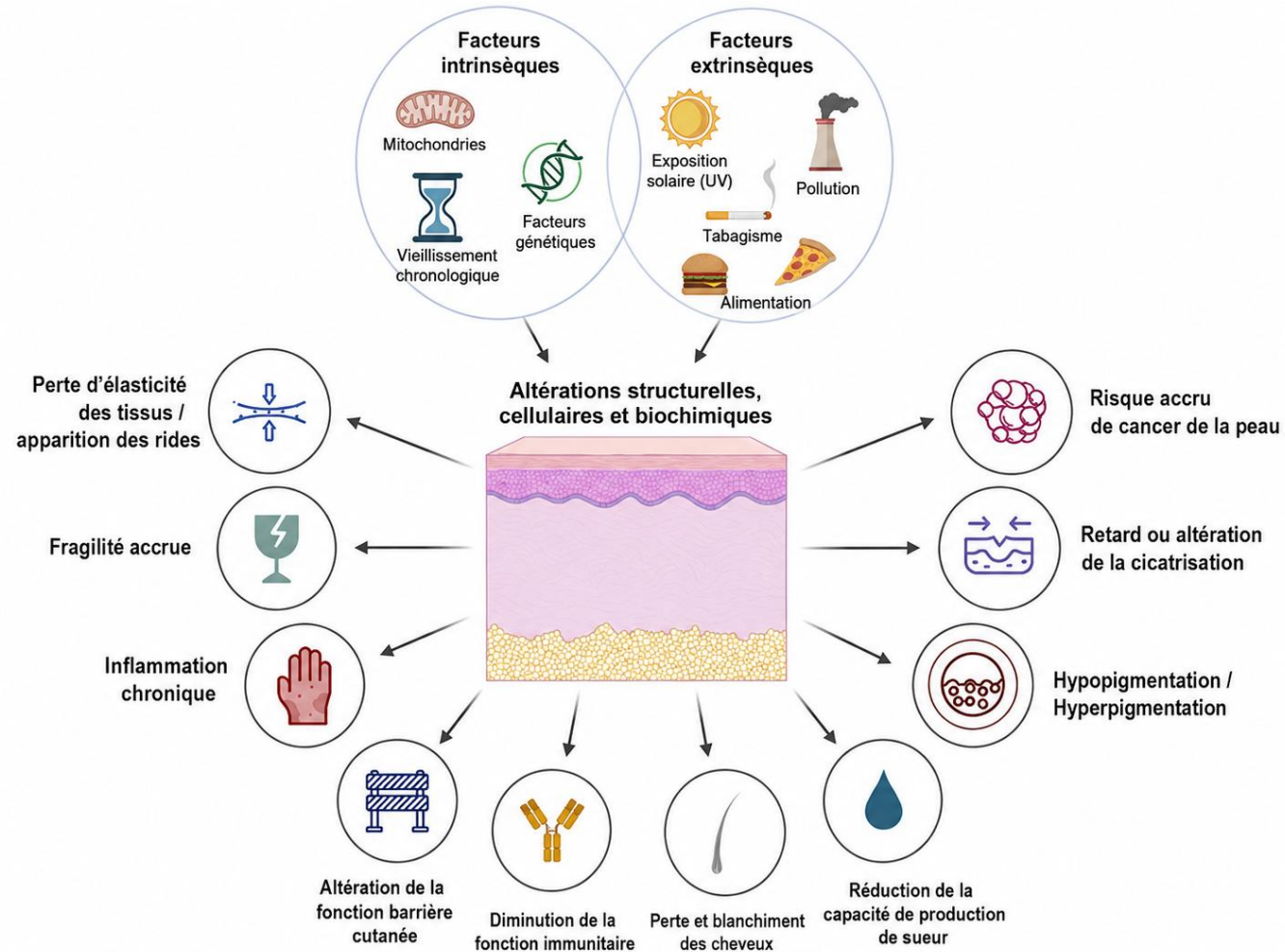


# Impact du vieillissement sur la peau et les acteurs responsables



Modeling aging in a culture dish: towards the development of more sophisticated in vitro models of human skin aging, Briganti et al. Cell 2026

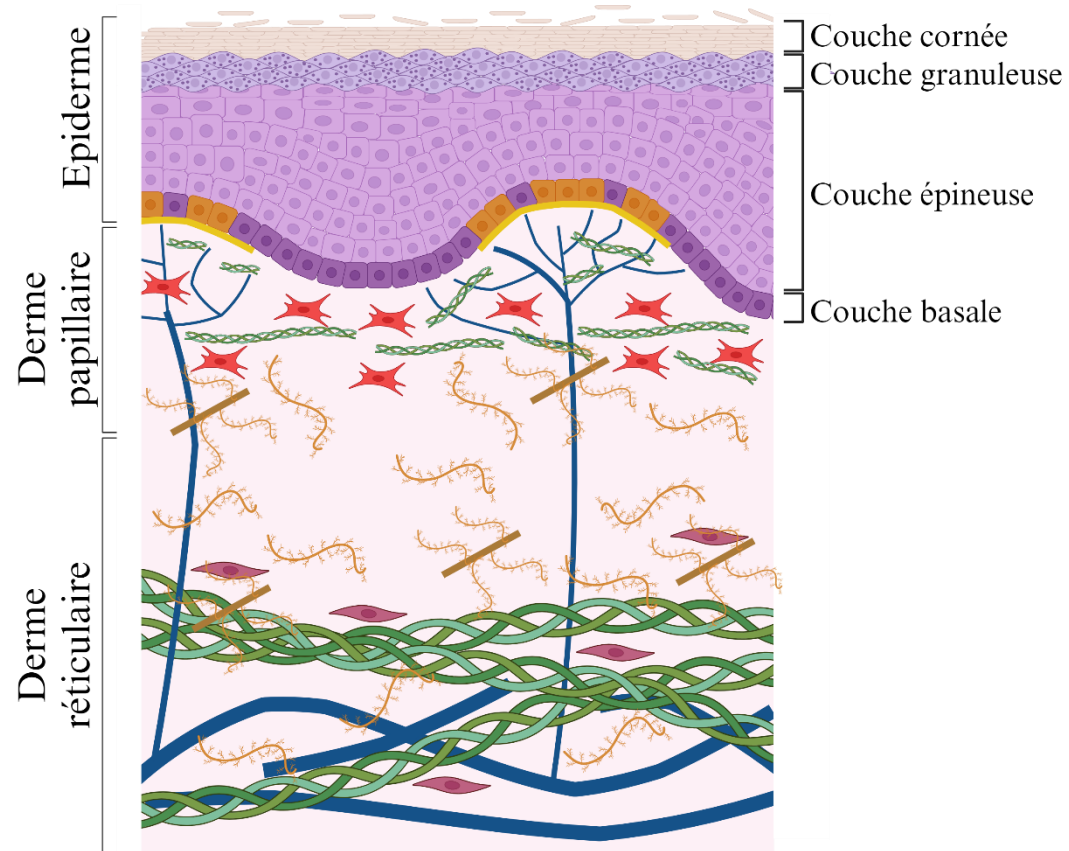
# Impact du vieillissement sur la peau et les acteurs responsables



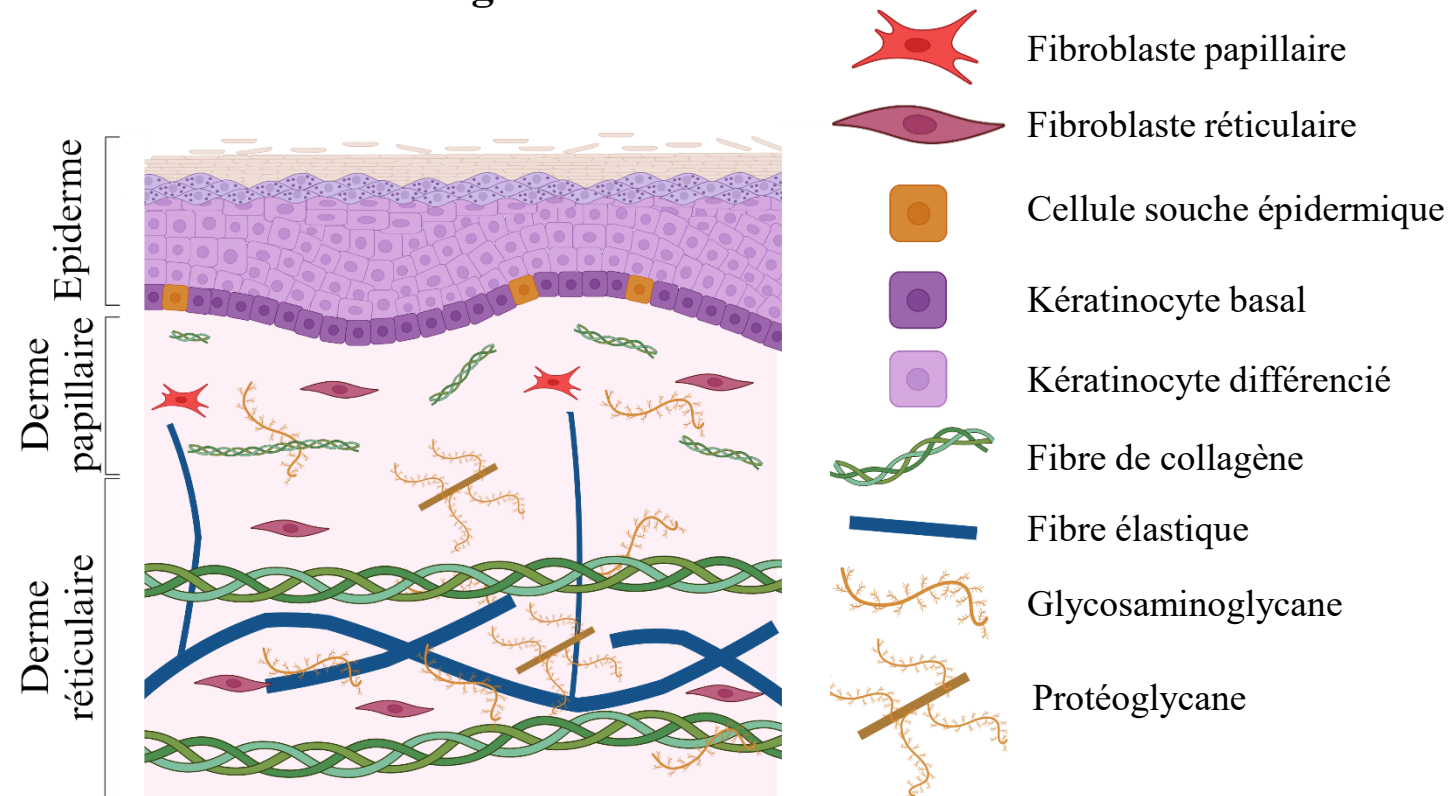
Adapté de : Modeling aging in a culture dish: towards the development of more sophisticated in vitro models of human skin aging, Briganti et al. Ageing Research Reviews, 2026

# Impact du vieillissement sur la peau et les acteurs responsables

## Peau jeune

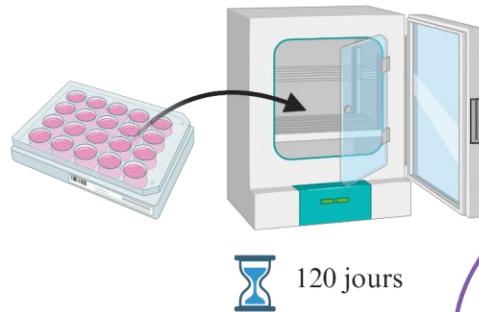


## Peau âgée

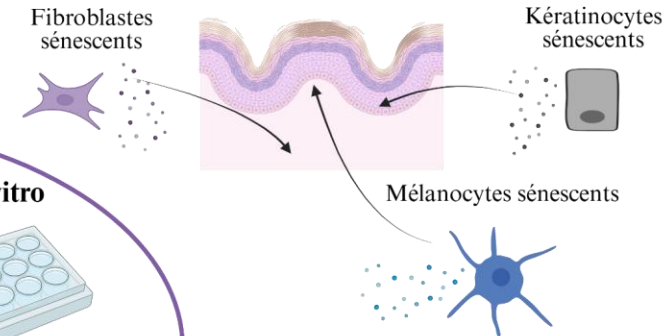


# Modéliser le vieillissement

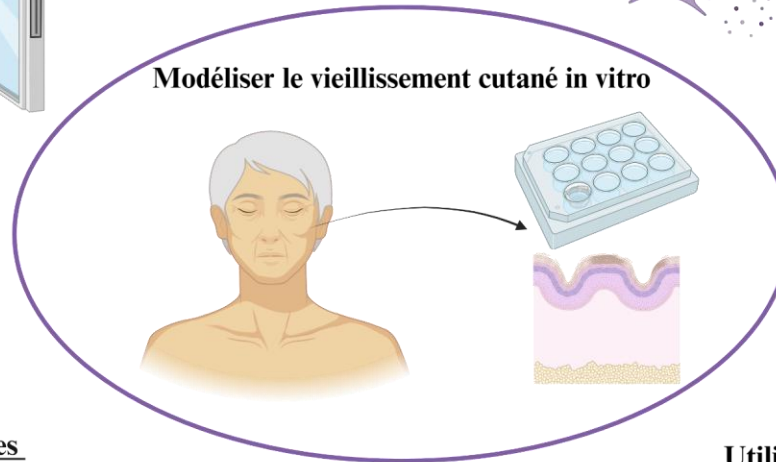
## Augmenter la durée de culture du modèle



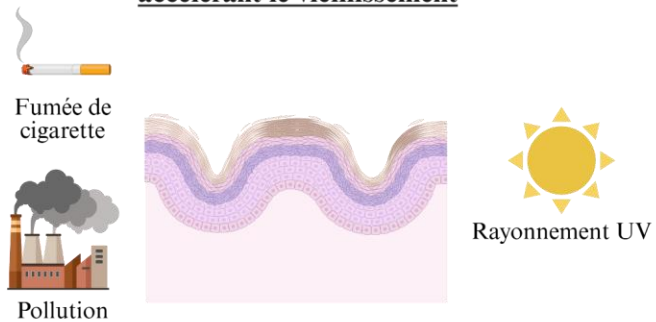
## Ajouter des cellules sénescentes



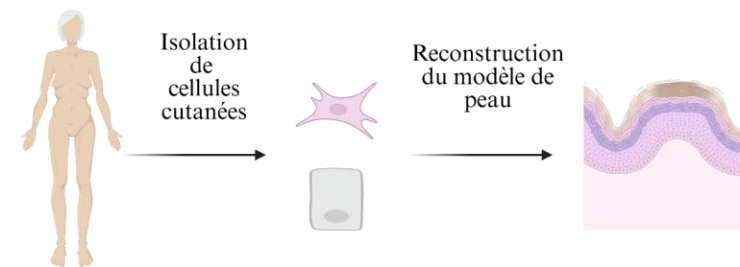
## **Modéliser le vieillissement cutané in vitro**



## Exposer à des facteurs externes accélérant le vieillissement



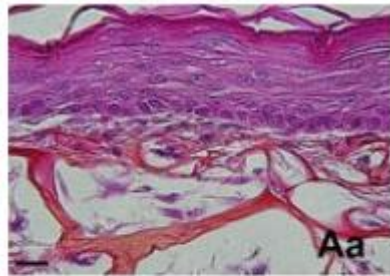
## Utiliser des cellules naturellement âgées



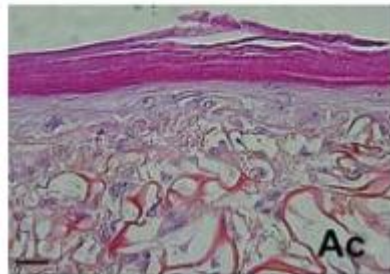
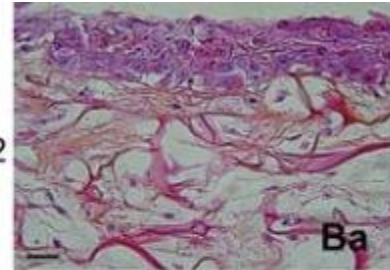
# HSE avec des cellules de donneurs âgés

19 ans

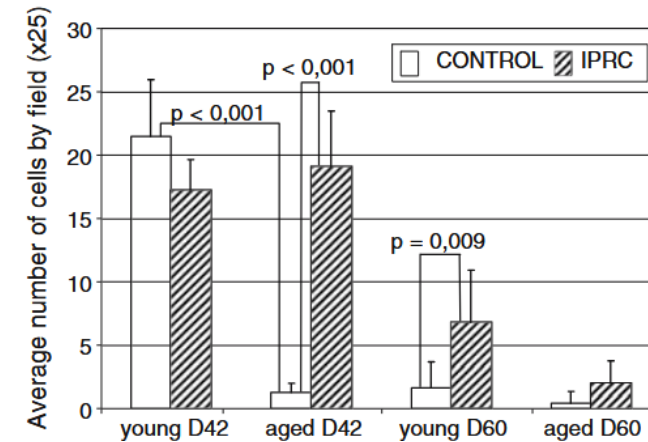
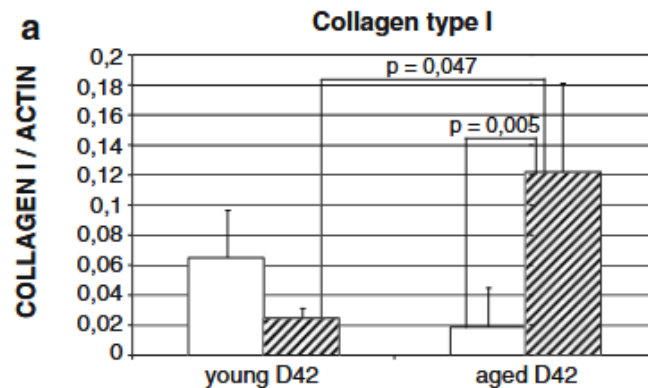
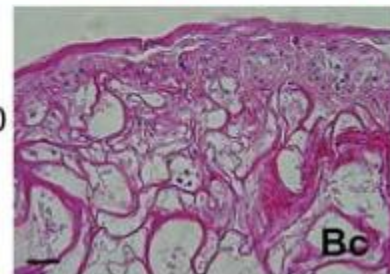
49 ans



Day 42



Day 60



**(a)** Coloration Hématoxyline–Phloxine–Safran (HPS). (SE) **(b)** Expression de l'ARNm du collagène de type I, mesurée par RT-PCR quantitative en temps réel. **(c)** Cellules positives à un marquage immunohistologique du marqueur de prolifération Ki-67 dans des équivalents cutanés.

HSE générés à partir de fibroblastes cutanés provenant de donneurs âgés de 19 et 49 ans, aux jours 42 et 60 de culture.

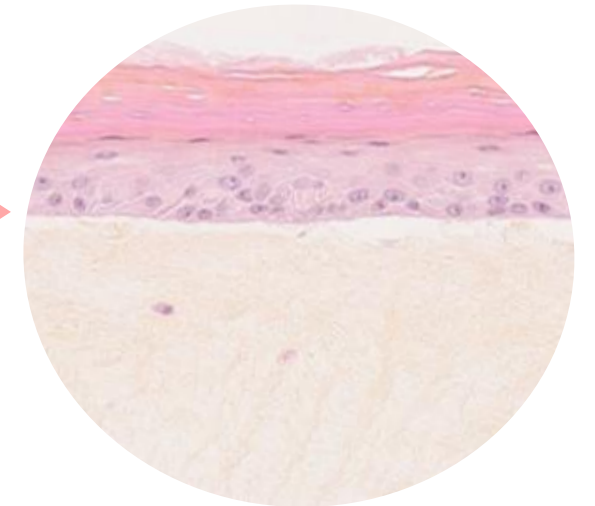
Barre d'échelle : 20  $\mu$ m.

Supplementation with a complex of active nutrients improved dermal and epidermal characteristics in skin equivalents generated from fibroblasts from young or aged donors, Lacroix et al. Biogerontology, 2007

# HSE avec des cellules de donneurs

| Lignée cellulaire | Âge | Origine    | Groupe d'âge |
|-------------------|-----|------------|--------------|
| K19               | 19  | Mammaire   | Jeune        |
| D24               | 24  | Mammaire   |              |
| O25               | 25  | Abdominale |              |
| R25               | 25  | Abdominale |              |
| P26               | 26  | Abdominale |              |
| F28               | 28  | Mammaire   |              |
| C45               | 45  | Abdominale | Middle Age   |
| H47               | 47  | Mammaire   |              |
| L49               | 49  | Mammaire   |              |
| G50               | 50  | Abdominale |              |
| M52               | 52  | Mammaire   |              |
| E55               | 55  | Abdominale |              |
| B65               | 65  | Mammaire   | Âgée         |
| Q67               | 67  | Mammaire   |              |
| I69               | 69  | Mammaire   |              |
| J69               | 69  | Abdominale |              |
| N69               | 69  | Abdominale |              |
| A72               | 72  | Abdominale |              |

Modèle de peau reconstruite  
avec des cellules de donneurs  
d'âges différents



Il existe plusieurs **modèles** qui ont leurs avantages et leurs inconvénients.

Les **cultures 2D** ont fourni les connaissances fondamentales mais ne peuvent reproduire la complexité de la peau.

Les **modèles de peau 3D** permettent de mieux récapituler la structure, la dynamique et les fonctionnalités du tissu cutané.

L'objectif est de complexifier toujours plus les modèles pour se rapprocher de la peau et des conditions physiologiques.

A partir des modèles, plusieurs méthodes existent pour **mimer le vieillissement** cutané.

Ce modèle a été mis en place dans notre équipe pour tester des **stratégies de rajeunissement cutané**.

# Remerciements

## ► Equipe 2 : Génome et plasticité des cellules souches dans le développement et le vieillissement

Jean-Marc LEMAITRE  
Olivier MILHAVET  
Paul BEN SADOUN  
Quentin ALLE  
Gabriel SELLAM  
Mikael MAGNANO  
Lily-rose VUILLERMET

**Anciens membres**  
Annaëlle BAILLY  
Sofiane SAFI-STIBLER

## ► RHEM

Nelly PIROT  
Hanane MANSOURI  
Jean-Yohan NOEL

## ► INGRAALYS

Claude CHAUCHARD  
Mélicha GABANOU  
Valentine Revelles  
Ekin OZTURK

**Ancien membre**  
Suzie FARINEAU

## ► ORGANIPS

Jacques BRINGER  
Amari WEHBI  
Fatimat ARS



## Choisir son modèle en fonction de la question biologique

|                  | Stratification de l'épiderme | Architecture JDE | Annexes cutanées | Dynamisme vasculaire | Viabilité Long Terme |
|------------------|------------------------------|------------------|------------------|----------------------|----------------------|
| Culture 2D       | ⚠                            | ✗                | ✗                | ✗                    | ✗                    |
| Explants Ex vivo | ✓                            | ✓                | ✓                | ✗                    | ⚠                    |
| HSE acellulaire  | ✓                            | ⚠                | ✗                | ✗                    | ✓                    |
| HSE cellulaire   | ✓                            | ⚠                | ✗                | ✗                    | ✓                    |
| Bioprinting      | ✓                            | ⚠                | ✗                | ✗                    | ✓                    |
| Peau sur puce    | ⚠                            | ⚠                | ✗                | ✓                    | ✓                    |
| Organoïde        | ✓                            | ✓                | ✓                | ✗                    | ✓                    |