

LA RECHERCHE SUR LES CELLULES SOUCHES

Résumé du rapport de MM. Alain Claeys et Jean-Sébastien Vialatte, députés

Ce rapport répond à la deuxième saisine de l'Office édictée par l'article 26 de la loi du 6 août 2004 relative à la bioéthique. Celle-ci prévoit que 6 mois avant le terme du moratoire de 5 ans sur l'interdiction des recherches sur l'embryon et les cellules souches embryonnaires qu'elle édicte, soit février 2011, « l'Agence de la biomédecine et l'Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques établissent chacun un rapport évaluant les résultats respectifs des recherches sur les cellules souches embryonnaires et sur les cellules souches adultes afin de permettre un nouvel examen de ces dispositions par le Parlement ».

Ce rapport fait suite à ceux présentés dans le cadre de l'Office sur les lois de bioéthique, et particulièrement à celui de décembre 2008 portant sur l'évaluation de la loi précitée, ainsi qu'aux nombreux travaux de l'Office sur la bioéthique. Il prend en compte les débats tenus dans diverses enceintes, les avis des Académies, le rapport du Conseil d'État et celui de la Mission d'information de l'Assemblée nationale, les missions, visites et auditions effectuées par les rapporteurs en France et à l'étranger.

Quelques définitions

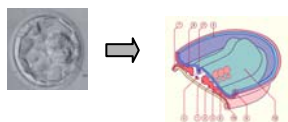
Les cellules embryonnaires humaines (CSEh) ont la propriété d'être des cellules souches totipotentes jusqu'au stade de 8 cellules, puis pluripotentes du stade de la morula à celui de blastocyste (du 5,5^{ème} au 7,5^{ème} jour de développement). Il existe plusieurs sortes de potentialités. Sont totipotentes, les cellules souches capables de se différencier en tous les types cellulaires embryonnaires et extra embryonnaires. Sont pluripotentes, celles capables de produire, après différenciation, tous les tissus d'un organisme, exceptées les annexes embryonnaires (placenta et cordon

ombilical...). En revanche, sont multipotentes, celles susceptibles de fournir un grand nombre de types cellulaires mais pas tous. Celles générant seulement quelques types cellulaires d'un tissu spécifique sont oligopotentes, et celles ne produisant qu'un seul type de cellules capables de s'auto régénérer sont unipotentes.

I - Quelles avancées depuis cinq ans ?

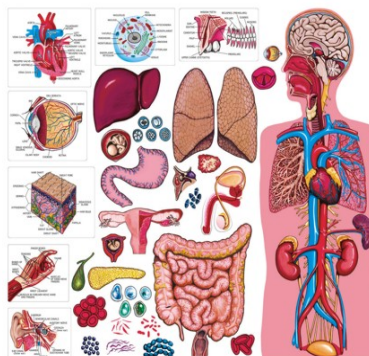
On possède la **carte d'identité complète** des cellules souches embryonnaires (CSE), des cellules souches adultes (CSA), et des cellules pluripotentes induites (iPS pour *induced Pluripotent Stem Cells*). Leur propriétés sont diverses.

In vivo : cellules souches embryonnaires et fœtales/adultes : deux entités différentes
Source : Laure Coulombel : Audition publique du 27 janvier 2010



Embryon : Les seules cellules **pluripotentes** de l'organisme

Mécanismes de contrôle très spécifiques : embryologie



Fœtus/adulte : un type de cellules souches par tissu

Survie, sénescence, cancérogenèse

A - Les avancées cognitives

1 - Les progrès sur les CSA

Des cellules souches neurales ont pu être cultivées *in vitro*, à partir de CSA. Selon les protocoles, certaines se divisent et se différencient en neurones de diverses sortes. Des cellules souches de l'intestin capables de produire de mini intestins ont été récemment isolées. On a montré que la peau et le follicule pileux constituent un réservoir aux potentiels multiples de différentes cellules souches capables de différenciation.

L'importance de l'environnement *in vivo* des CSA a été démontré. Ces cellules ne sont pas indépendantes, leur fonctionnement normal dépend des composants et de la structure de leurs niches tissulaires, ainsi que de leur environnement, ce qui influe sur le succès de leur transplantation.

Très étudiées, **les cellules souches mésenchymateuses (CSM)** ont suscité interrogations et espoirs, car on peut facilement les multiplier à partir de tissus accessibles : moelle osseuse, tissus adipeux, tissus conjonctifs du cordon ombilical etc... Contrairement aux CSA particulières à un tissu, on ignore encore quelle est leur fonction, leur cellule d'origine, et leur rôle physiologique *in vivo*. N'induit-on pas en les cultivant *in vitro* des propriétés n'existant pas *in vivo* ? Elles ont un effet anti-inflammatoire, antiseptique et induisent une immunotolérance permettant de les greffer de manière allogénique à différents patients.

Les cellules souches fœtales, isolées à partir de sang placentaire, ombilical, ou de tissu conjonctif du cordon, possèdent des **propriétés particulières récemment mises en évidence**. Elles concernent la production de facteurs de croissance des cellules, la prolifération et l'immunologie. **La nécessité d'une conservation gratuite et solidaire du sang placentaire dans des banques publiques** à des fins allogéniques a été mise en évidence. Les greffes autologues pour le patient lui-même sont peu prescrites, les traitements nécessitent en général les cellules souches de deux cordons.

2 - Les découvertes sur les CSEh

L'accélération **des connaissances sur les mécanismes de la pluripotence et de la multipotence** a permis au Pr Yamanaka de découvrir **les cellules pluripotentes induites (iPS)**. Il a démontré qu'il était possible, sans recourir à des gamètes, de conduire une CSA à adopter les propriétés d'une CSEh pluripotente ; l'iPS est quasi identique à une CSEh pluripotente naturelle pouvant être cultivée, et subir un processus de différenciation. Il a mis en évidence les 4 gènes de la pluripotence, et ouvert la voie à des recherches sur leurs mécanismes d'action. Dans une CSEh pluripotente ou une cellule iPS, un grand

nombre de gènes s'expriment, car la structure de l'ADN est ouverte. Dans une CSA, la structure de l'ADN est fermée, et seuls s'expriment les gènes du tissu donné.

La reprogrammation est un progrès scientifique considérable qui consiste à passer d'une structure fermée à une structure ouverte. Cela permet la différenciation, de façon reproductible de CSEh en différents types cellulaires (hépatocytes, neurones, cardiomyocytes, etc...).

Pourtant des **interrogations sur la pluripotence subsistent**. Les iPS ne sont pas complètement identiques aux CSEh et conserveraient la mémoire de leurs tissus d'origine. Issues de donneurs vivants, susceptibles d'être reprogrammées en gamètes, les iPS pourraient poser à terme des problèmes éthiques, si elles étaient utilisées dans la reproduction humaine. Les CSEh demeurent donc la référence pour toute analyse comparative.

La découverte des iPS démontre qu'**aucune recherche ne doit exclure les autres et que les recherches sur les CSA et les CSE se fertilisent mutuellement**. Aussi, faut-il prendre acte de l'intérêt que porte la communauté scientifique à tous les types de recherche, et examiner sans *a priori* les problèmes éthiques que peut soulever le recours à chaque catégorie de cellules .

B - Quelles applications nouvelles ?

1 - En recherche fondamentale

La compréhension des mécanismes d'apparition et de récurrence de certains cancers (carcinogénèse) a progressé, grâce aux études sur les CSEh qui, comme les cellules cancéreuses, ont la capacité de s'auto renouveler.

Pour progresser **dans le domaine de l'assistance médicale à la procréation (AMP)**, l'étude de CSEh menée *in vitro* à l'étranger sur des embryons préimplantatoires au stade de blastocyste a permis de distinguer ceux en voie de dégénérescence, de ceux qui pourraient se développer en fonction de la sur expression ou de la sous expression de diverses protéines. Ces **recherches sur l'embryogénèse** sont nécessaires car on ignore pourquoi 92% des embryons *in vitro* ne se développent pas. En France, certaines sont considérées comme une recherche sur l'embryon et à ce titre interdites d'utilisation en AMP. Cette réglementation s'applique aux techniques de conservation des ovocytes comme la vitrification. **Aussi toute technique ayant pour objectif d'améliorer les possibilités de développement *in utero* d'un embryon humain devrait être considérée comme un soin et non comme une recherche.**

2 - En recherche pré-clinique

À partir de lignées de CSEh, issues d'embryons détectés dans le cadre de diagnostic préimplantatoire (DPI) comme porteurs de maladie d'une particulière gravité, on crée des **modèles** de cellules souches

représentatifs de ces pathologies pour tester directement l'efficacité comparative de divers traitements ou molécules. Il est possible d'utiliser à cette fin les iPS comportant une anomalie responsable de cancer, de maladie neurodégénérative ou génétique. Prélevées sur un patient, elles sont proches de sa réalité physiologique ce qui laisse envisager des applications en médecine personnalisée.



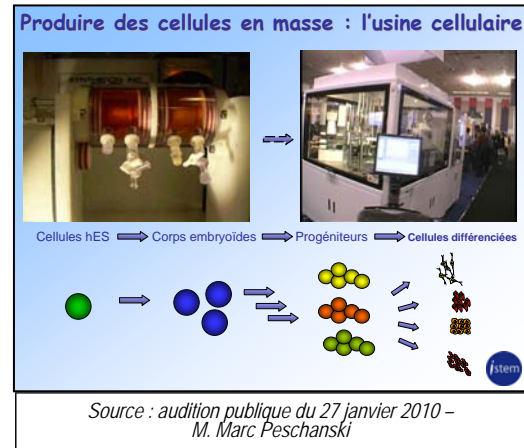
Sur des lignées de cellules souches humaines, on procède à un **criblage** pour identifier les problèmes de toxicité, et le degré d'efficacité d'une molécule thérapeutique. On vise à se prémunir contre des effets indésirables, voire délétères, qui n'apparaissent pas toujours sur des animaux, dont on tend à réduire l'usage. Par ailleurs, **on teste à large échelle, diverses molécules** sur un panel étendu et spécifique de cellules souches de personnes saines et de personnes malades, et on en étudie les effets.

3 - Vers de nouvelles stratégies en clinique

Le recours à la robotisation, l'utilisation d'outils et de procédures adaptés ont induit un changement d'échelle. On cultive jusqu'à un milliard de cellules en une quinzaine de jours. Désormais, grâce aux marqueurs de surface et à la cytométrie de flux, on identifie, au sein d'un tissu, une population minoritaire de cellules. On leur confère la traçabilité nécessaire pour comprendre leur rôle, et en assurer un contrôle efficace. Les recherches sur les biomatériaux, l'ingénierie tissulaire, l'action médicamenteuse directe, peuvent se combiner afin de stimuler *in situ* les composants de l'environnement cellulaire et activer la réparation par greffe.

L'existence d'une diversité beaucoup plus vaste des types cellulaires utilisables, la confirmation de la plasticité inhérente à nombre de cellules permet d'envisager **des stratégies cliniques plus diversifiées** :

adaptation du produit de thérapie cellulaire à la pathologie ciblée, adaptation du type d'administration (injection, patch, encapsulation), stratégie spécifique de préparation etc... Il est possible d'associer plusieurs populations de cellules souches et des cellules complémentaires dans un greffon plus fonctionnel.



En clinique, seules **les cellules de la moelle osseuse, les cellules du sang de cordon** et, plus récemment, **les cellules souches de la peau** sont utilisées. Ces dernières agissent sur les grands brûlés, les irradiés, les plaies chroniques par **action directe** sur la zone atteinte. Elles agissent aussi **par action indirecte** sur l'environnement des zones atteintes ; l'apport de ces cellules inhibe la réponse immunitaire, induit une tolérance particulière et facilite la greffe d'autres tissus.

Concernant l'utilisation des cellules souches embryonnaires, **on compte quatre projets d'études pré-cliniques** : trois études américaines, deux sur la dégénérescence maculaire, une sur la moelle épinière qui a fait l'objet d'une première application clinique début octobre 2010, une étude pré-clinique préparée actuellement en France par le Pr Menasché sur la réparation du muscle cardiaque.

Les défis à relever sont multiples.

In vitro, l'utilisation future des CSEh en clinique exige une parfaite maîtrise des conditions de leur culture. Il faut parvenir à caractériser et à standardiser leurs milieux de culture. Il s'agit de garantir leur stabilité génétique au cours de leur prolifération pour lutter contre une cancérisation, de guider les processus de différenciation des cellules souches, de les produire en grande quantité et de façon reproductible.

In vivo, il faut gérer, d'une part le comportement des CSEh une fois injectées, en maîtrisant les modalités de leur administration et, d'autre part, la relocalisation de ces cellules tout en résolvant les problèmes

immunitaires. La maîtrise de la reprogrammation cellulaire rendra *a priori* plus accessibles les greffes autologues, obtenues à partir des cellules du patient, ouvrant la porte à une médecine régénérative personnalisée. L'utilisation des iPS en clinique demandera un certain délai.

II - Les débats éthiques et juridiques sur ces recherches

A- Des approches diverses au niveau international

La carte des recherches sur les cellules souches distingue **trois catégories de pays selon leur politique de recherche**. Celle-ci peut être **permissive** (Australie, Belgique, Chine, Espagne, Inde, Israël, Japon, Royaume-Uni, Russie, Suède et Taiwan) ou bien **flexible** (Brésil, Canada, États-Unis, France, Norvège, Pays-Bas, Suisse). Une **politique restrictive** d'interdiction est conduite en Allemagne, en Autriche, en Irlande, en Italie et en Pologne.

Des possibilités d'**harmonisation de la régulation des modalités de recherches** se dessinent. Plus de 500 lignées de CSEh ont été dérivées, caractérisées, et partagées entre différents laboratoires. On constate une grande variabilité des lignées, et un degré de fiabilité limité à quelques unes. Grâce aux iPS, on peut créer de nouvelles lignées. C'est pourquoi, **la création d'une banque internationale accessible aux chercheurs, centralisant et distribuant les lignées serait utile**. Elle serait un interlocuteur pour les instances nationales et internationales, simplifierait les démarches administratives, et étendrait les possibilités de recherche et d'échanges. En effet, au niveau international, les recherches sur les CSEh sont encadrées par les lignes directrices de l'*International Society for Stem Cell Research* dont pourrait s'inspirer la France dans la régulation des recherches sur les CSEh, car leur respect conditionne la plupart des échanges internationaux dans ce domaine.

La problématique des brevets est préoccupante, en raison de divergences de législation et d'interprétation de la notion de « vivant ». L'Office américain des brevets accepte de breveter des lignées de cellules souches au risque d'entraîner une marchandisation du vivant, ce que refusent l'Office européen des brevets et l'Institut national de la propriété industrielle en France. Aussi faut-il veiller au **respect du principe selon lequel seul le procédé et son application sont brevetables**.

B - Au niveau national, la loi pose un principe d'interdiction avec dérogation

L'embryon humain bénéficie d'une protection juridique justifiée, son devenir dépend du projet parental, et en dernier ressort en cas d'interruption

volontaire ou médicale de grossesse, de la décision de la mère.

Le législateur de 2004 a voulu éviter l'instrumentalisation de l'embryon *in vitro* par l'affirmation d'un principe d'interdiction des recherches assorti d'un régime dérogatoire d'une durée de 5 ans. La dérogation est obtenue après autorisation de l'Agence de la biomédecine (ABM) pour des recherches susceptibles de permettre des progrès thérapeutiques majeurs, ne pouvant être poursuivies par une méthode alternative d'efficacité comparable. Ce système a fonctionné grâce au travail remarquable de l'ABM qui, au 31 décembre 2009, avait délivré 122 autorisations et émis 7 refus. **Un large consensus se dégage en faveur de la levée du moratoire qui expire le 5 février 2011.**

Pour concilier éthique et liberté de la recherche, il faut clarifier le régime juridique des recherches sur l'embryon et les CSEh en France, car il est peu lisible à l'étranger. Or accroître la coopération internationale dans ce domaine très mondialisé est essentiel.

Le passage d'un régime d'interdiction de ces recherches à un régime d'autorisation, strictement encadré, serait bénéfique. En accord avec les Académies, le Conseil d'État, mais contrairement à la Mission d'information, MM. Claeys et Vialatte préconisent un tel régime juridique. L'autorisation délivrée par l'ABM serait soumise à une visée « scientifique et médicale » et à la pertinence scientifique du projet, la référence au terme « thérapeutique » devant être supprimée, car les recherches sur les CSEh ont aussi un but cognitif.

Pour assurer une veille éthique et une évaluation du Parlement, **les rapporteurs suggèrent que l'ABM présente son rapport annuel d'activité devant l'OPECST**, et qu'à cette occasion, elle dresse un bilan annuel des autorisations de recherches sur les CSEh.

Ils recommandent de **limiter l'encadrement des recherches aux seules cellules souches embryonnaires et, d'exclure de cet encadrement les lignées de cellules souches déjà différenciées**, la demande initiale ayant déjà fait l'objet d'une autorisation.

Quant au consentement au don d'embryon pour la recherche actuellement révoquant à tout moment, mieux vaut **organiser une information précise des familles sur les recherches** qui seront menées et **limiter les possibilités de révocation du consentement une fois la recherche engagée**.

Concilier liberté de la recherche et respect de l'embryon humain, tel a été le sens de la démarche des rapporteurs qui se sont ainsi inscrits dans la continuité des travaux de l'OPECST sur la bioéthique.

Octobre 2010