

## **Avis du Conseil d'orientation**

# **Les cellules souches pluripotentes induites (iPS) : état des lieux, perspectives et enjeux éthiques**

### **Introduction**

#### **1. Les différents types de cellules souches**

- 1.1 Les cellules totipotentes
- 1.2 Les cellules souches embryonnaires humaines (CSEh)
- 1.3 Les cellules souches adultes
- 1.4 Les cellules souches pluripotentes induites

#### **2. Les cellules souches en recherche et en clinique**

- 2.1. Les cellules souches adultes et placentaires
- 2.2. Les cellules souches embryonnaires humaines (CSEh)
- 2.3. Les cellules souches pluripotentes induites (iPS)
  - 2.3.1 En recherche
  - 2.3.2 Applications thérapeutiques
  - 2.3.3 Les iPS représentent-elles l'avenir dans le champ de l'étude des cellules pluripotentes ?
  - 2.3.4 Quel est aujourd'hui le niveau de sécurité d'utilisation des iPS ?
  - 2.3.5 Utilisation autologue et utilisation allogénique

#### **3. Législation**

- 3.1 Recherches recourant aux CSEh
- 3.2 Recherches recourant aux iPS
- 3.3 L'utilisation des cellules souches à des fins thérapeutiques

#### **4. Conservation, circulation, brevétisation des iPS**

#### **5. La question du consentement du donneur**

#### **6. Perspectives en question**

- 6.1 La production de gamètes par différenciation des iPS
- 6.2 Chimères et iPS

#### **7. L'homme « prolongé », l'homme augmenté**

### **Conclusion**

### **Références bibliographiques**

## **Les cellules souches pluripotentes induites (iPS) : état des lieux, perspectives et enjeux éthiques**

### **Introduction**

La recherche sur les cellules souches pluripotentes induites s'est développée depuis 2006. Cette voie apparaît comme une voie d'avenir en matière thérapeutique. Comme toute recherche innovante, de nouvelles perspectives naissent, et avec elles, le besoin de poser les questions éthiques qu'elles génèrent. Où en sommes-nous aujourd'hui ? Quelles sont les questions que nous avons d'ores et déjà à gérer et celles que nous risquons d'avoir à assumer dans les années qui viennent ? La possibilité de la reprogrammation des cellules somatiques est une nouvelle étape dans la compréhension et la maîtrise de la biologie. C'est aussi une nouvelle étape thérapeutique potentielle. S'agit-il d'une voie d'avenir ? S'agit-il d'une voie de substitution à la recherche sur les cellules souches embryonnaires humaines qui réglerait les problèmes éthiques qui lui sont propres ou bien s'agit-il d'une voie complémentaire qui génère des questions éthiques spécifiques ?

L'état des lieux de la recherche, des orientations thérapeutiques possibles et des questions éthiques vise à faire la part des choses entre le fantasme et la réalité. Parce que chacun pressent que certaines orientations seront l'objet de controverses, que l'élaboration de normes éthiques et législatives sera nécessaire, le conseil d'orientation de l'Agence de la biomédecine (ABM) se devait d'éclairer les enjeux des IPS et de susciter un débat public. Entre les possibilités thérapeutiques, les enjeux économiques, les risques sanitaires, les enjeux anthropologiques et sociaux, nous avons à comprendre la spécificité des IPS en assumant l'incertitude propre à l'innovation. C'est donc prudemment qu'il nous faut avancer sans céder à un enthousiasme excessif, ni à la peur qui paralyse.

## 1. Les différents types de cellules souches

- Définition de la cellule souche : Une cellule souche est une cellule qui est à la fois capable d'auto-renouvellement sur le long terme (production d'autres cellules souches afin de maintenir le niveau du stock en cellules souches) et de différenciation (production de cellules matures avec des fonctions spécifiques au sein des tissus).
- Il existe plusieurs types de cellules souches :

**1.1 Les cellules totipotentes** : l'œuf fécondé ou zygote est une cellule totipotente à partir de laquelle peuvent se développer un individu complet (fœtus) et les annexes (placenta et membranes) indispensables à sa survie intra-utérine. Les cellules ou blastomères issus des premières divisions du zygote gardent cette caractéristique jusqu'au stade 8 cellules chez les mammifères. Au-delà de ce stade, aucune des cellules embryonnaires n'est capable, isolément, de se développer en un individu complet et viable. La totipotence cellulaire est perdue. L'existence de cellules souches totipotentes, donc capables d'auto-renouvellement, est controversée.

**1.2 Les cellules souches embryonnaires humaines** : ce sont les cellules issues des cellules totipotentes de l'embryon humain au stade du blastocyste (jour 5-6 post-fécondation). Le blastocyste est une sorte de sphère creuse dont le feuillet externe (le trophoctoderme) donnera le placenta, et la masse cellulaire interne ou bouton embryonnaire qui adhère contre l'intérieur du blastocyste, donnera naissance au futur bébé. Le bouton embryonnaire est un amas de 15 à 50 cellules qui produiront les 3 feuillets primitifs de l'embryon : ectoderme, mésoderme, endoderme, les cellules et tissus qui en dérivent, ainsi que les cellules germinales. Les cellules du bouton embryonnaire ont la capacité de se différencier en n'importe quel type de cellules de l'organisme et sont donc **pluripotentes**. Les CSEh présentent des propriétés qui en font des sujets privilégiés pour la recherche et, éventuellement, la thérapeutique. Elles ont en effet la capacité de se multiplier *in vitro* (auto-renouvellement) tout en gardant

leurs propriétés de pluripotence. On peut les différencier *in vitro* en suivant des protocoles de culture spécifiques des tissus visés.

### **1.3 Les cellules souches adultes.**

Certaines cellules souches adultes, dites **multipotentes**, conservent des capacités d'auto-renouvellement et sont capables de se différencier en différents types cellulaires, mais leur spectre de différenciation est plus limité que celui des CSEh car elles sont déjà engagées dans un programme tissulaire spécifique. Elles sont présentes dans les différents organes et tissus de l'organisme, souvent localisées dans un environnement particulier appelé « niche ». Les cellules souches hématopoïétiques (CSH) sont les plus connues.

D'autres cellules souches adultes sont dites **unipotentes**. Elles ne forment qu'un seul type de cellules différenciées : ce sont par exemple les kératinocytes de la peau, les hépatocytes, les cellules musculaires.

### **1.4 Les cellules souches pluripotentes induites**

Les iPS sont obtenues en reprogrammant une cellule somatique différenciée vers un état de pluripotence. L'équipe japonaise de Shinya Yamanaka a obtenu en 2006 la reprogrammation de fibroblastes de souris adultes en iPS en permettant l'expression dans ces cellules de quatre protéines qui sont responsables dans les CSEh de leur maintien à l'état de pluripotence (1). Ces protéines sont des facteurs de transcription, Oct3/4, Sox2, Klf4 et c-Myc. L'équipe japonaise a obtenu ce résultat en introduisant dans les fibroblastes des rétrovirus contenant les gènes codant pour ces facteurs de transcription. Ils sont à l'origine d'une séquence d'événements épigénétiques qui modifient l'organisation de la chromatine et la méthylation de l'ADN, transformant la cellule différenciée en cellule pluripotente. Les lignées cellulaires ainsi obtenues présentent des propriétés très proches sinon identiques aux CSEh et sont capables de se différencier *in vitro* en tout type cellulaire.

Les fibroblastes de la peau sont fréquemment utilisés comme source d'iPS, nécessitant une biopsie cutanée. Les cellules du sang et les cellules épithéliales

urinaires sont aussi des sources de cellules intéressantes en raison de leur accessibilité.

## **2. Les cellules souches : recherche et en clinique**

### **2.1 Les cellules souches adultes et placentaires :**

Les cellules souches les plus étudiées et les plus utilisées en thérapeutique sont les CSH adultes issues de la moelle osseuse (depuis plus de 50 ans), les CSH fœtales issues du foie fœtal (depuis 40 ans) et les CSH préparées à partir du sang placentaire (depuis 1989). Les greffes allogéniques de CSH issues de la moelle osseuse, du sang périphérique ou du sang placentaire ont bénéficié à plusieurs centaines de milliers de patients dans le monde atteints le plus souvent de maladies hématologiques constitutionnelles ou acquises.

Il y a dans la moelle osseuse d'autres cellules souches : les cellules souches stromales mésenchymateuses (CSM) qui sont multipotentes et peuvent donner les tissus squelettiques (os, cartilage et stroma médullaire : microenvironnement hématopoïétique) et qui sont utilisées pour leurs capacités de différenciation et leur pouvoir immunosuppresseur. On trouve des cellules équivalentes dans tous les tissus en particulier le tissu adipeux. Sur le plan thérapeutique, ces cellules sont utilisées pour la réparation osseuse et la réparation des cartilages. Elles sont également utilisées en raison de leurs capacités immunosuppressives et anti-inflammatoires dans des maladies de système (sclérodermie, lupus...), la réaction du greffon contre l'hôte post allogreffe de CSH, l'insuffisance cardiaque, l'ischémie critique des membres inférieurs, la sclérose en plaque, les accidents vasculaires cérébraux...

### **2.2 Les cellules souches embryonnaires humaines (CSEh)**

En France, les CSEh sont obtenues à partir d'embryons issus de fécondation in vitro dans le cadre d'une assistance médicale à la procréation et ne faisant plus l'objet d'un projet parental.

Des lignées (quelques dizaines vraisemblablement) de CSEh de grade clinique existent à travers le monde, enregistrées dans des banques internationales (propriétés validées, consentement vérifié, conditions de culture standardisées validées). Il n'existe pas de registre permettant de les comptabiliser avec exactitude.

### **2.2.1 En recherche**

À ce jour, 65 protocoles de recherche ont été autorisés par l'ABM à partir de lignées cellulaires produites en France ou importées. Ces protocoles ont pour objectifs :

- soit de caractériser les CSEh normales (fonctions, capacité à se différencier vers différentes lignées : kératinocytes, cellules rétinienne, cellules neuronales, hépatocytes...);
- soit de comprendre les mécanismes de l'acquisition ou de la perte de la pluripotence cellulaire ;
- soit de chercher à modéliser des pathologies en comparant les CSEh issues d'embryons malades et des CSEh issues d'embryons sains : recherche de biomarqueurs spécifiques, compréhension des mécanismes moléculaires sous-tendant ces pathologies;
- soit de proposer des stratégies de « criblage médicamenteux » testant de façon quasi aléatoire un très grand nombre de molécules susceptibles de corriger le dysfonctionnement cellulaire considéré... ;
- soit encore d'améliorer les techniques de culture cellulaire, standardiser les protocoles de différenciation, étudier les conséquences des cultures sur la stabilité génétique des lignées cellulaires...

### **2.2.2 Applications thérapeutiques**

Au cours des dernières années, des progrès considérables ont été réalisés permettant de transformer des CSEh en différents types de cellules différenciées et d'envisager leur utilisation à des fins thérapeutiques (voir annexe 2).

Les essais cliniques d'administration à l'homme de cellules dérivées de CSEh posent, du côté du receveur un certain nombre de questions qui doivent être prises en compte dans l'appréciation de la balance bénéfique/risque pour le patient :

- la réaction allogénique, avec risque de rejet et nécessité d'une immunosuppression ou de modalités d'administration des cellules particulières (encapsulation notamment) ;
- le risque tumoral lié à la contamination par des cellules résiduelles non différenciées ou à la présence de cellules porteuses d'instabilité génétique : nécessité d'un contrôle qualité performant des processus de production ;
- le risque de dissémination des cellules greffées hors du tissu ;
- le risque d'inefficacité si la différenciation terminale n'est pas obtenue.

### **2.3 Les cellules souches pluripotentes induites (iPS)**

Le fait de pouvoir, à partir de cellules différenciées adultes obtenir des cellules reprogrammées vers la pluripotence puis de les différencier vers toutes sortes de cellules spécialisées a ouvert le champ de la recherche fondamentale et clinique réalisée sur les CSEh, en s'affranchissant des questions éthiques liées à l'obtention, la conservation, la destruction des embryons (2). Néanmoins, il reste de nombreuses questions scientifiques à résoudre sur la connaissance fine des iPS. Dans tous les cas, les iPS sont une copie, plus ou moins correcte selon les techniques de reprogrammation, des CSEh : la comparaison avec des cellules souches pluripotentes issues de la seule source physiologique de pluripotence au cours du développement humain, reste à ce jour nécessaire.

Depuis la mise au point des iPS par l'équipe de Yamanaka de nombreux chercheurs dans le monde ont travaillé sur ce modèle tant chez l'animal que chez l'homme. De très nombreuses lignées d'iPS ont été constituées issues d'animaux, de malades porteurs de pathologies et de volontaires sains (3).

#### **2.3.1 En recherche**

Les recherches ont porté sur plusieurs axes (voir Annexe 3) :

La modélisation du développement des tissus et des organes: ainsi, les iPS dérivées de cardiomyocytes peuvent aider à mieux comprendre le développement du cœur (4).

La modélisation de pathologies constitutionnelles ou acquises : à partir de cellules somatiques d'un patient, des lignées d'iPS peuvent être créées et l'étude de leur différenciation permet de préciser les mécanismes cellulaires, fonctionnels, génétiques, moléculaires caractérisant la maladie. Un très grand nombre de pathologies sont concernées

### **2.3.2 Applications thérapeutiques**

La génération d'iPS spécifiques permet d'envisager notamment des traitements personnalisés. Les travaux sont orientés vers des applications thérapeutiques futures selon quatre axes :

#### **2.3.2.1 Le criblage médicamenteux et les recherches toxicologiques (5)**

Comme indiqué ci-dessus, les iPS peuvent permettre de modéliser un certain nombre de pathologies constitutionnelles ou acquises en identifiant les mécanismes génétiques et moléculaires responsables. Il est dès lors envisageable, sur ces lignées cellulaires spécifiques de procéder à des techniques de criblage médicamenteux en faisant agir des molécules susceptibles d'intervenir sur les anomalies moléculaires observées et testant ainsi une possible efficacité thérapeutique.

Un certain nombre de programmes consistent à utiliser des cellules (cardiaques, neuronales, rénales, hépatiques) dérivées d'iPS pour tester les effets toxiques de certaines molécules. Les iPS peuvent provenir de patients (pour tester avant traitement une susceptibilité particulière dans le cadre d'une médecine personnalisée) ou de sujets sains dans le cadre d'une étude toxicologique à plus grande échelle. Ceci peut servir de plateforme de criblage pour tester des molécules sur du matériel cellulaire reproductible, stable et représentatif des cellules adultes normales ou pathologiques. Un certain nombre de sociétés mettent ainsi à disposition de l'industrie pharmaceutique de telles plateformes. Il s'agit aujourd'hui de l'utilisation première des iPS

### 2.3.2.2 La production cellulaire pour une médecine régénérative

Compte tenu des capacités des iPS à se différencier en de nombreuses lignées cellulaires, on peut envisager *a priori* de mettre en place des protocoles de réparation tissulaire dans des pathologies diverses. Néanmoins, si l'on est capable de différencier des iPS en cellules apparemment parfaitement fonctionnelles (« cultures in the dish »), leur utilisation en clinique pose un certain nombre de problèmes, pour certains partagés avec les CSEh.

- . **Maturité cellulaire** : les cellules produites à partir de cellules souches pluripotentes n'expriment pas nécessairement des phénotypes de cellules matures. Par exemple, les « hépatocytes » obtenus *in vitro* à partir d'iPS expriment l'albumine à des niveaux faibles, l'AFP à un niveau élevé et des cytochromes p450 fœtaux : ces éléments attestent d'un phénotype fœtal, pas nécessairement souhaitable pour traiter des patients adultes.

- . **Pureté des cellules** : les protocoles de différenciation des iPS en cellules matures s'améliorent constamment et les puretés atteintes sont très satisfaisantes pour un certain nombre de tissus, avec ou sans étape de sélection cellulaire. La présence de cellules moins différenciées fait courir un risque de transformation et de formation de tératomes.

Par ailleurs, il faut moduler l'idée selon laquelle le type cellulaire devrait être pur : quasiment aucun tissu n'est constitué d'une population homogène de cellules. La plupart des tissus hébergent des cellules mésenchymateuses et des cellules endothéliales en nombre, et souvent plusieurs types cellulaires spécialisés (voir les îlots de Langerhans, le foie, etc.). Il est possible que la meilleure stratégie consistera à combiner différents types cellulaires pour faciliter la survie et l'intégration des cellules transplantées.

- . **Survie des cellules après injection** : c'est un des plus grands défis de la médecine régénérative, sans doute plus grand que la production des cellules médicamenteuses. Après transplantation dans un tissu solide, les cellules meurent majoritairement (6).

- . **Qualité génétique des cellules iPS** : la reprogrammation de cellules somatiques vers les iPS peut entraîner des mutations, d'une part sous l'effet des vecteurs

utilisés pour la transduction et d'autre part sous l'effet de la reprogrammation elle-même. Des aberrations chromosomiques peuvent survenir au cours de la culture des lignées cellulaires (7). Ces anomalies génétiques dépendent beaucoup du protocole de reprogrammation, des conditions de culture et peut-être également du type de cellules à partir desquelles ont été dérivées les iPS.

Plusieurs exemples de programmes de régénération cellulaire et tissulaire impliquant les iPS peuvent être donnés (voir annexe 4)

### **2.3.2.3 La combinaison des iPS et de la thérapie génique (8).**

Un certain nombre de pathologies sont dues à des anomalies géniques que l'on retrouve au niveau des iPS spécifiques produites à partir de cellules des patients. Combiner la technologie des iPS à celle de la thérapie génique pour corriger les iPS avant leur différenciation puis leur administration au patient ouvre un large potentiel thérapeutique. Les maladies monogéniques potentiellement candidates à ce type d'approche thérapeutique sont très diverses : hématologiques, neurologiques, déficits immunitaires, déficits enzymatiques. La récente découverte de l'outil CRISPR-CAS9 ouvre des perspectives majeures pour modifier un ou plusieurs gènes dans n'importe quel type de cellules. Cet outil utilise l'enzyme Cas9 pour toutes les situations. Un ARN complémentaire de l'ADN à couper est fabriqué et guide ensuite l'enzyme à l'endroit à couper dans le génome (9).

### **2.3.2.4 Les essais cliniques**

Un seul essai de thérapie cellulaire utilisant des iPS dans un contexte de thérapie cellulaire chez l'homme a été autorisé, au Japon. Il s'agit là encore d'un essai dans la dégénérescence maculaire liée à l'âge. La première patiente a été traitée fin 2014, la procédure comportant la création d'iPS à partir des fibroblastes de la patiente, puis leur différenciation en cellules épithéliales pigmentaires rétinienne qui sont cultivées en feuillet qui est ensuite implanté au niveau de la

rétine. Récemment, cet essai a été interrompu en raison de mutations génétiques observées dans les cellules iPS obtenues pour le deuxième patient.

Les technologies de production de cellules dérivées d'iPS associées ou non aux technologies d'ingénierie tissulaire permettront très probablement de procurer aux patients des produits de réparation de nombreuses pathologies constitutionnelles ou acquises et de lésions traumatiques accidentelles. Si aujourd'hui la production d'un médicament personnalisé est concrètement envisageable à moyen terme, une production clinique de lignées iPS autologues pour chaque patient n'est pas envisageable actuellement sur le plan financier. Une diminution drastique des coûts de production et de contrôle de la qualité sera nécessaire avant d'atteindre des applications autologues en routine et nécessitera pour cela une industrialisation du processus de production de lignées iPS de grade clinique.

Toutefois il convient d'insister sur le fait que si le remplacement cellulaire est d'une relative « simplicité », il n'en est pas de même de la correction d'une fonction d'un tissu ou d'un organe. Tissus et organes sont des structures tridimensionnelles renfermant des cellules qui peuvent être fonctionnelles mais ne peuvent restaurer la fonction d'un tissu ou d'un organe qu'en présence des autres éléments de la structure de celui-ci.

### **2.3.3 Les iPS représentent-elles l'avenir dans le champ de l'étude des cellules pluripotentes ?**

Il est évident que la réponse n'est pas catégorique aujourd'hui et qu'il est nécessaire de comparer ces cellules avec ce qui est aujourd'hui la référence : les CSEh.

Les iPS ont les mêmes capacités fonctionnelles que les CSEh, mais :

- Le taux de reprogrammation est faible ;
- La reprogrammation n'est pas nécessairement complète ; les iPS peuvent conserver des anomalies acquises au cours de leur vie antérieure (anomalies épigénétiques) ;
- Les étapes de la reprogrammation peuvent induire des mutations génétiques dont on connaît mal le devenir et les conséquences sur la fonction cellulaire et *a fortiori* en cas

d'application clinique (10, 11). On sait déjà que les iPS sont génétiquement plus instables que les CSEh. Une étude française de J De Vos et al a été approuvée par l'ABM, visant à établir un véritable atlas des anomalies génétiques, caryotypiques et moléculaires, rencontrées dans les lignées iPS et CSEh.

L'identité des iPS avec les CSEh est une question qui s'est posée dès la démonstration de la possibilité de reprogrammer des cellules somatiques vers la pluripotence (1). De nombreuses publications ont pointé les différences entre ces deux types cellulaires. Une revue abordant ce point, rédigée par S. Yamanaka fait le bilan de ces critiques, mais observe également que les études montrant une différence de transcriptome entre iPS et CSEh comportaient régulièrement moins de lignées que les études qui montraient au contraire que ces deux types cellulaires étaient similaires (12). La qualité du protocole de reprogrammation pourrait expliquer ces différences, notamment la stœchiométrie entre les quatre facteurs de reprogrammation (13). Pour schématiser, un bon protocole de reprogrammation produirait de bonnes lignées iPS, avec absence d'anomalies génétiques et d'aberration/mémoire épigénétique, alors qu'un mauvais protocole engendrerait des lignées iPS anormales. Plus récemment plusieurs groupes ont revisité cette question et sont arrivés à la conclusion que l'essentiel de la forte variabilité qui est observée entre lignées de cellules souches pluripotentes (iPS ou CSEh), par exemple dans la capacité à former un type cellulaire en particulier, ou encore dans le profil transcriptionnel et épigénétique, relevait essentiellement du patrimoine génétique de la lignée, et très minoritairement de la méthode de dérivation (14-16).

Il est donc possible d'anticiper que les techniques de reprogrammation vont aller en s'affinant, et que les iPS ainsi obtenues seront de plus en plus proches des CSEh. Cependant, il reste à surmonter plusieurs problèmes tels que le taux faible de reprogrammation des iPS, la possibilité d'anomalies génétiques induites lors de la reprogrammation ou d'anomalies épigénétiques acquise lors de la reprogrammation ou la culture des cellules. Pour ces raisons, les CSEh restent actuellement la référence et le « gold standard » dans le domaine de la pluripotence puisque ces cellules sont issues directement de la fabrique physiologique de la pluripotence (17). Afin de pouvoir

continuer la comparaison entre les deux types de cellules, CSEh et iPS, les travaux de recherche sur les CSEh doivent nécessairement se poursuivre.

A côté des iPS, deux autres voies de reprogrammation de cellules adultes pour obtenir des cellules matures de phénotype donné sont étudiées : soit la reprogrammation partielle qui à partir d'un fibroblaste conduit à un progéniteur engagé dans la voie de différenciation souhaitée sans passer par une cellule souche de type iPS, soit la reprogrammation directe d'un fibroblaste dans la cellule différenciée (18).

#### **2.3.4 Quel est aujourd'hui le niveau de sécurité d'utilisation des iPS ?**

Pour reprogrammer une cellule différenciée en cellule pluripotente il est nécessaire de forcer transitoirement plusieurs gènes habituellement exprimés dans les cellules souches embryonnaires. Typiquement, ces gènes sont les suivants : Oct3/4, Sox2, c-myc, Klf4. On peut les introduire dans les cellules à reprogrammer via des vecteurs. Initialement ce sont des vecteurs viraux qui ont été utilisés. Les premiers vecteurs utilisés ont été des vecteurs de type rétrovirus, dits intégratifs car ils s'intègrent au patrimoine génétique de la cellule. Ces techniques initiales comportent des risques liés à l'intégration non « dirigée » (mutations, cancérisation notamment) qui seraient inacceptables bien évidemment en cas d'usage clinique. D'autres techniques ont été ultérieurement élaborées utilisant des vecteurs viraux non intégratifs (virus EBV, virus Sendai) ou des vecteurs non viraux (plasmide) ou directement des ARNm ou des protéines. Le risque de mutagénèse insertionnelle de ces techniques est nettement diminué voire inexistant pour les virus ARN non intégratifs (Sendai), les ARNm ou les protéines. Les techniques avec le meilleur rapport sécurité/efficacité sont actuellement les plasmides et l'ARNm. Enfin, un des moyens d'obtenir la reprogrammation tout en assurant la sécurité future serait de coupler aux méthodes de reprogrammation l'utilisation d'un gène « suicide » permettant d'éliminer au sein du greffon les cellules non différenciées porteuses des risques de transformation et de formation de tératome (19). Ainsi, la sécurisation de l'utilisation des iPS dans le cadre de la médecine régénérative est envisageable. Il existe plusieurs voies actuellement explorées : l'amélioration des méthodes de reprogrammation (arrêt des vecteurs intégratifs,

suppressions de c-myc...), la possibilité d'éliminer les iPS résiduelles des cultures cellulaires/tissulaires avec des stratégies de type gène suicide telles qu'utilisées pour d'autres cellules (19), l'utilisation de marqueurs spécifiques (soit des iPS, soit des cellules engagées) permettant l'élimination directe ou indirecte des cellules non engagées et la sélection des cellules d'intérêt .

### **2.3.5 Utilisation autologue et utilisation allogénique**

Il existe des avantages certains dans le champ de la thérapie cellulaire à l'utilisation de lignées iPS autologues au patient. Une autre voie potentielle d'utilisation des iPS pour la thérapie serait de constituer des banques d'iPS à partir d'un nombre limité de donneurs sélectionnés sur leurs groupes HLA pour correspondre majoritairement à la diversité de la population, en particulier des individus porteurs d'haplotypes HLA fréquents homozygotes (20). Ainsi, nous pourrions avoir prêtes à l'emploi des iPS validées, dont les potentialités et la sécurité auront été testées. Cette approche combinerait deux avantages : diminution des coûts de production par économies d'échelles, et accélération de la disponibilité des cellules thérapeutiques. En revanche, la compatibilité immunologique ne pouvant pas être complète, un traitement immunosuppresseur, éventuellement de courte durée, peut être nécessaire.

## **3 Les cellules souches : la législation (Annexe 5)**

### **3.1 La recherche recourant aux CSEh**

En France, la recherche sur l'embryon et les CSEh est étroitement encadrée. La législation repose sur la considération que l'embryon doit être regardé comme une « personne humaine potentielle ».

La législation a évolué de l'interdiction absolue de la recherche utilisant des embryons dans la loi du 29 juillet 1994 relative au don et à l'utilisation des éléments et produits du corps humain, à l'assistance médicale à la procréation et au diagnostic prénatal, à l'interdiction avec dérogations sous contrôle de l'ABM de façon temporaire dans la loi du 6 août 2004 relative à la bioéthique, puis de façon pérenne dans la loi du 7 juillet 2011 relative à la bioéthique, et, enfin, à l'autorisation sous

conditions, toujours sous contrôle de l'ABM, dans la loi du 6 août 2013 autorisant sous certaines conditions la recherche sur l'embryon et les cellules souches embryonnaires.

En vertu du II de l'article L. 2151-5 du code de la santé publique, une recherche ne peut être menée qu'à partir d'embryons conçus in vitro dans le cadre d'une assistance médicale à la procréation et qui ne font plus l'objet d'un projet parental. La recherche ne peut être effectuée qu'avec le consentement écrit préalable du couple dont les embryons sont issus, ou du membre survivant de ce couple, par ailleurs dûment informé des possibilités d'accueil des embryons par un autre couple ou d'arrêt de leur conservation. A l'exception de la situation des embryons sur lequel le diagnostic préimplantatoire autorisé a révélé une anomalie responsable d'une maladie génétique d'une particulière gravité reconnue incurable et de celle des embryons non susceptibles d'être transférés ou conservés, le consentement doit être confirmé à l'issue d'un délai de réflexion de trois mois. Le consentement des deux membres du couple ou du membre survivant du couple est révocable sans motif tant que les recherches n'ont pas débuté.

En vertu du I de ce même article L. 2151-5, dans sa rédaction issue de la loi du 6 août 2013, aucune recherche sur l'embryon humain ni sur les cellules souches embryonnaires ne peut être entreprise sans autorisation. Un protocole de recherche conduit sur un embryon humain ou sur des cellules souches embryonnaires issues d'un embryon humain ne peut être autorisé que si

- en premier lieu, la pertinence scientifique de la recherche est établie,
- en deuxième lieu, la recherche, fondamentale ou appliquée s'inscrit dans une finalité médicale,
- en troisième lieu, en l'état des connaissances scientifiques, cette recherche ne peut être menée sans recourir à ces embryons ou ces cellules souches embryonnaires,
- en quatrième et dernier lieu, le projet et les conditions de mise en œuvre du protocole respectent les principes éthiques relatifs à la recherche sur l'embryon et les cellules souches embryonnaires.

Les protocoles de recherche sont autorisés par l'Agence de la biomédecine après vérification que les conditions posées par la loi sont satisfaites. Les ministres chargés de la santé et de la recherche peuvent, dans certaines conditions, demander un nouvel examen du dossier. L'Agence de la biomédecine dispose d'un pouvoir de contrôle des recherches autorisées : elle

peut diligenter des inspections, elle peut suspendre ou retirer l'autorisation en cas de violation des prescriptions législatives et réglementaires ou de celles fixées par l'autorisation.

### **3.2 La recherche recourant aux iPS**

Contrairement aux recherches sur les CSEh, aucun encadrement spécifique n'a jusqu'à présent été prévu pour les recherches sur les iPS qui sont considérées comme n'importe quel type de cellules, par exemple des fibroblastes. Or il y a de grandes différences entre les iPS et les cellules différenciées du corps humain.

Ainsi, la recherche fondamentale est peu encadrée. Cet encadrement dépend de l'origine des cellules, mais il s'agit dans tous les cas d'un régime déclaratif (voir annexe 5).

La recherche clinique fait l'objet d'un encadrement plus contraignant, qui est celui des recherches biomédicales, ou « recherches organisées et pratiquées sur l'être humain en vue du développement des connaissances biologiques ou médicales ». Ce régime repose sur :

- . le respect de principes éthiques, au nombre desquels la primauté de l'intérêt des personnes qui se prêtent à la recherche,
- . le respect de conditions d'expérience du médecin qui assure la direction de la recherche, de conditions matérielles et techniques adaptées, ainsi que de règles ou recommandations de bonnes pratiques,
- . la nécessité d'un avis favorable du comité de protection des personnes et d'une autorisation de l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé.

### **3.3 L'utilisation des cellules souches à des fins thérapeutiques**

Le régime applicable peut être, selon le cas, celui des préparations de thérapie cellulaire ou celui des médicaments et, plus particulièrement, des médicaments de thérapie innovante issu du règlement (CE) n° 1394/2007 du Parlement européen et du Conseil du 13 novembre 2007 concernant les médicaments de thérapie innovante.

Trois régimes juridiques coexistent :

- **les préparations de thérapie cellulaire.** Ce sont des produits qui ne sont pas fabriqués industriellement, dans lesquels les cellules n'ont été soumises à aucune modification substantielle et dont la destination est la même chez le donneur et le receveur : cellules souches hématopoïétique et îlots de Langerhans. Les établissements ou organismes qui exercent des activités de préparation, conservation, distribution ou cession de tels produits doivent être autorisés par l'ANSM (Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé) après avis de l'Agence de la biomédecine (ABM), pour les catégories de préparation considérées, selon des normes définies au niveau national.
  
- **Les médicaments de thérapie innovante préparés ponctuellement** ou MTI-PP sont des médicaments de thérapie innovante, ce qui signifie que les tissus ou cellules ont été soumis à une manipulation substantielle ou ne sont pas destinés à être utilisés pour la même fonction essentielle chez le donneur et le receveur. Ils sont conçus à l'attention d'un malade déterminé pour une prescription précise et sont préparés de façon ponctuelle.

Dans le cadre d'une utilisation autologue, c'est très vraisemblablement de cette dernière catégorie que relèvera l'utilisation d'iPS à des fins thérapeutiques, au moins dans une 1<sup>ère</sup> étape. Pour cette catégorie, le règlement de 2007 prévoit seulement que :

- . la fabrication de ces produits doit être subordonnée à une autorisation de l'autorité compétente de l'État membre ;
- . les États membres doivent veiller à ce que les exigences nationales de traçabilité et de pharmacovigilance, ainsi que les normes de qualité spécifiques soient équivalentes à celles prévues au niveau communautaire pour les médicaments de thérapie innovante fabriqués de façon industrielle.

C'est ainsi au niveau national que les autorisations sont délivrées :

- Aux établissements, par l'ANSM après avis de l'ABM ; à ce titre, les établissements de santé n'ayant pas le statut d'établissement pharmaceutique peuvent être autorisés à préparer et à distribuer des MTI-PP

- Aux médicaments eux-mêmes, par l'ANSM
- **Les médicaments de thérapie innovante ou MTI.** Ce sont, comme les précédents, des produits qui font appel à des modifications substantielles afin d'obtenir des caractéristiques biologiques utiles à la régénération, la réparation ou le remplacement recherché pour un tissu ou un organe, ou qui ne sont pas destinés à être utilisés pour la même fonction essentielle chez le donneur et le receveur. En revanche, ils ne sont pas spécialement conçus pour un malade déterminé. Ils sont considérés comme des médicaments et doivent recevoir une AMM de la Commission européenne après évaluation par l'Agence européenne du médicament. Ils sont soumis, par rapport aux autres médicaments, à un dispositif de pharmacovigilance renforcé et à des exigences de traçabilité. L'utilisation des CSEh ou des iPS allogéniques à des fins thérapeutiques pourrait relever de cette catégorie

#### **Autres utilisations potentielles des cellules souches**

La question pourrait se poser de la possibilité d'utiliser les iPS, notamment autologues, pour des finalités non directement thérapeutiques. L'article L. 1211-1 du code de la santé publique prévoit que les activités afférentes aux éléments et produits du corps humain doivent poursuivre une fin médicale ou scientifique, ou être menées dans le cadre de procédures judiciaires. Par une décision du 4 novembre 2015 (Société Regen Lab, n° 375056), rendue à propos de l'injection de concentrés plaquettaires autologues dans le but d'obtenir un « effet de rajeunissement », le Conseil d'Etat a déduit de ces dispositions que les produits du corps humain ne pouvaient être utilisés pour une finalité purement esthétique

La question voisine de la production d'iPS autologues « de précaution » pourrait également se poser, si l'on entrevoit la possibilité d'une thérapie cellulaire régénératrice ou réparatrice dans un grand nombre de pathologies par l'intermédiaire des iPS. Cette question rappelle celle de la conservation de sang placentaire autologue, source de cellules souches fœtales en vue d'une très éventuelle thérapie cellulaire réparatrice ultérieure qui a été tranchée par la négative en France ; ce type de conservation peut être autorisé ailleurs mais en étant réservé à certains puisqu'il est associé à un coût non pris en charge par la société.

#### **4. Conservation, circulation, brevétisation des iPS (voir Annexe 6)**

La conservation par un organisme pour les besoins de ses programmes de recherche est soumise à déclaration, la conservation à des fins thérapeutiques est soumise à autorisation de l'ANSM. Quant à la conservation de cellules issues du corps humain en vue de leur cession pour un usage scientifique, que ce soit à titre gratuit ou dans le cadre d'une activité commerciale, elle est soumise à autorisation du ministre chargé de la recherche.

Les échanges entre les laboratoires de recherche français et étrangers s'opèrent dans le même cadre que tout autre échange de cellules. L'importation et l'exportation de cellules à des fins scientifiques sont soumises à autorisation du ministre chargé de la recherche. L'importation ou l'exportation à des fins thérapeutiques est quant à elle autorisée par l'ANSM après avis de l'ABM lorsque les cellules sont en provenance ou à destination d'un Etat non membre de l'Union européenne ou non partie à l'accord sur l'Espace économique européen. L'établissement ou l'organisme qui importe des cellules ou des préparations doit s'assurer que ceux-ci ont été prélevés ou collectés avec le consentement préalable du donneur et sans qu'aucun paiement, quelle qu'en soit la forme, n'ait été alloué à ce dernier.

On observe donc à nouveau un régime différent de celui des CSEh, pour lesquelles l'importation et l'exportation sont soumises à l'autorisation de l'ABM, qui ne peut être accordée que si ces cellules ont été obtenues dans le respect des principes fondamentaux prévus par les articles 16 à 16-8 du code civil.

La question de la commercialisation doit être posée, compte tenu du coût de la recherche et du développement de médicaments de thérapie innovante. L'article 16-1 du code civil, issu de la 1<sup>e</sup> loi de bioéthique, du 29 juillet 1994, affirme que « Le corps humain, ses éléments et ses produits ne peuvent faire l'objet d'un droit patrimonial ». Ces dispositions traduisent la volonté du législateur de protéger la personne de la tentation de réification du corps humain. Le CCNE s'est à plusieurs reprises interrogé sur la possibilité de commercialisation ultérieure de produits du corps humain ayant fait l'objet d'un don gratuit. Son avis du 22 juin 2006 propose une distinction entre

- les cellules d'origine, faisant l'objet d'un don gratuit, qui ne peuvent être ni brevetées ni commercialisées,
- et les actes, interventions et opérations qui précèdent, entourent ou suivent des prélèvements de cellules, ainsi que les diverses utilisations dont le produit transformé pourrait être l'objet au terme de modifications profondes, qui peuvent être rémunérés, y compris sous forme commerciale.

Si la valorisation commerciale est nécessaire, la question peut se poser des garde-fous dont les pouvoirs publics disposent, qu'il s'agisse aujourd'hui de la cession de lignées de cellules ou demain de la vente de médicaments de thérapie innovante, dont le prix sera négocié avec l'établissement de santé utilisant le produit. Il convient de concilier des ressources limitées avec le droit reconnu à toute personne de recevoir les soins les plus appropriés. L'exigence éthique est d'autant plus forte que le « matériau » de base est un élément du corps humain qui a fait l'objet d'un don et que les potentialités thérapeutiques apparaissent importantes.

S'agissant enfin de la brevetabilité, elle constitue une protection nécessaire en vue d'une valorisation commerciale, mais doit être conciliée avec différents principes éthiques : principe de non commercialisation du corps humain, notion de patrimoine de l'humanité, exigence de partage des connaissances...

Le droit applicable permet d'envisager la brevetabilité tant pour des procédés (notamment des procédés d'obtention d'iPS) que pour des produits obtenus grâce à ces procédés (par exemple des lignées cellulaires).

La brevetabilité des procédés ne soulève pas de question spécifique, sinon celle de la conclusion de contrats de licence et du montant des redevances dues, pour que l'utilisation de ces procédés soit possible.

La brevetabilité des produits soulève des questions plus délicates. La première est celle du principe même de la brevetabilité d'éléments du corps humain. La directive 98/44/CE du Parlement européen et du Conseil du 6 juillet 1998, à la lumière de laquelle le droit français doit être interprété, précise qu'un élément isolé du corps humain ou autrement produit par un

procédé technique peut constituer une invention brevetable. La seconde est celle de la portée de l'interdiction de brevetabilité des utilisations d'embryons humains à des fins industrielles ou commerciales, qui ont fait l'objet d'arrêts importants de la Cour de justice de l'Union européenne. En l'état des connaissances scientifiques, il n'y a pas d'obstacle de principe à la brevetabilité d'inventions reposant sur l'utilisation d'iPS, à la différence de ce qui est le cas pour l'utilisation de CSEh.

S. Yamanaka indiquait en 2014 que l'Université de Kyoto s'était vu accorder des brevets fondamentaux dans 29 pays et une région, notamment aux États-Unis et en Europe, et affichait la volonté, en déposant des brevets fondamentaux et en concédant des licences non exclusives, de permettre à de nombreuses entreprises d'utiliser la technologie des iPS à un prix adéquat, pour accélérer la réalisation d'applications médicales. En France, une équipe de l'INSERM a déposé en 2014 un brevet concernant la production de cellules rétinienne.

La question de la régulation des aspects commerciaux (brevets, conservation, distribution) mérite un débat approfondi, même si elle n'est pas spécifique aux iPS (21). L'exigence éthique doit conduire – comme dans d'autres domaines de la recherche médicale - à se poser la question de l'allocation des ressources et de l'orientation des recherches en fonction des besoins réels et non de l'attractivité des marchés potentiels, ainsi que des moyens de réduire les coûts à venir pour permettre l'accès du plus grand nombre de patients aux nouvelles thérapies. On peut à cet égard relever que des projets de « banques de cellules iPS », sur le modèle des banques de sang, apparaissent, au Japon, mais aussi aux États-Unis et au Royaume-Uni, compte tenu de l'intérêt, en termes de délais et de coût, de greffes allogéniques – dès lors qu'elles sont suffisamment compatibles – par rapport à la génération de cellules iPS et à leur différenciation en cellules cibles selon un processus propre à chaque patient et à chaque maladie.

Inversement, on peut se poser la question des moyens de prévenir un « tourisme médical » qui se développe d'ores et déjà vers certains pays, recrutant par le biais de sites internet des patients vulnérables, attirés par les « vertus miracles » attribuées aux cellules souches mais susceptibles de courir des risques importants. A cet égard, la société internationale pour la

recherche sur les cellules souches (ISSCR) s'est efforcée de mettre en garde par son « guide à l'intention des patients sur les thérapies à base de cellules souches ».

## **5. La question du consentement du donneur**

La question du consentement du donneur n'est pas propre, là encore, aux cellules iPS, mais se pose avec une acuité particulière, compte tenu du fait que certaines des applications des iPS dans les années à venir ne sont pas encore connues aujourd'hui (22-24). Dans la majorité des cas, la loi impose le recueil du consentement préalable du donneur, « dûment informé de l'objet du prélèvement » ou, le cas échéant de s'assurer de sa non opposition (voir Annexe 5)

La tentation peut être forte de solliciter un consentement étendu. Cette question des modalités de consentement a fait l'objet de plusieurs travaux évaluant les avantages et inconvénients de consentements restreints ou étendus. Un consentement restreint à certaines utilisations aurait l'avantage d'être précis mais l'inconvénient serait de devoir recontacter le donneur si un usage non prévu initialement était envisagé. La tendance est plutôt d'envisager un consentement large. Dans une telle perspective, le document serait particulièrement difficile à élaborer car il devrait à la fois ne pas donner entière liberté au chercheur et expliquer que l'avenir des recherches et de l'utilisation thérapeutique sont pour une grande part inconnus. Un trop grand nombre de détails peut rendre le document confus pour le lecteur, ce qui serait contre productif.

Dans le cadre de la recherche fondamentale, de nombreuses recherches sont centrées sur la mise au point de méthodes de production et de culture des iPS, l'étude des fonctions cellulaires ou de la stabilité génétique notamment, et font appel à des donneurs sains. Les études portant sur la modélisation d'une pathologie ou l'étude d'anomalies génétiques recourent à des donneurs porteurs de la pathologie considérée. Ces études, étant toujours comparatives afin de s'assurer que les faits observés ne sont pas des épiphénomènes liés à la méthodologie, recourent également à des iPS issus de sujets sains. Les recherches d'anomalies moléculaires sont faites grâce à des techniques dites de séquençage génomique à haut débit.

Ces techniques de séquençage à haut débit soulèvent des problèmes éthiques liés à la vie privée de la personne et la confidentialité. Elles peuvent mettre en évidence chez le donneur une susceptibilité à certaines maladies éventuellement graves et susceptibles de mesures préventives ou curatives (25). Cela rejoint le cas de l'examen des caractéristiques génétiques d'une personne (art. L. 1131-1-2 du CSP). On peut relever, même s'il s'applique seulement aux recherches « impliquant une intervention sur l'être humain » que le Protocole additionnel à la Convention sur les Droits de l'Homme et la biomédecine, relatif à la recherche biomédicale, signé à Strasbourg le 25 janvier 2005, prévoit à son article 27, relatif au « devoir de prise en charge », que « Si la recherche fait apparaître des informations pertinentes pour la santé actuelle ou future, ou pour la qualité de vie de personnes ayant participé à la recherche, la communication de ces informations leur est proposée. Cette communication s'inscrit dans le cadre de soins médicaux ou d'un conseil. A cet égard, il faut veiller à protéger la confidentialité et à respecter la volonté éventuelle des intéressés de ne pas être informés. »

Dans le cadre d'une éventuelle utilisation thérapeutique pour des maladies neurologiques comme la maladie de Parkinson ou la maladie d'Alzheimer, il sera nécessaire dans le cadre d'études pré cliniques d'injecter les cellules dans le cerveau d'animaux. Or, le donneur peut être opposé à l'injection de cellules humaines à l'animal.

Toujours dans le cadre d'une éventuelle utilisation d'iPS en thérapie cellulaire, le donneur peut être le malade lui-même ou un donneur sain, notamment dans le cadre de la constitution éventuelle de banques d'iPS allogéniques, destinées à proposer au patient des cellules « les plus compatibles possible ». Le consentement du donneur doit préciser explicitement la possibilité que les cellules dérivées des iPS pourront être transplantées à des patients comme dans le cadre d'une transplantation d'organe. Une raison supplémentaire de ce consentement explicite concerne la sécurité pour le receveur. En effet, si le donneur ou un membre de sa famille développe une pathologie, telle un cancer, le risque peut être accru pour le receveur. Il est de ce fait important de pouvoir recontacter le donneur périodiquement pour connaître son état de santé.

Par ailleurs, le donneur peut demander que les iPS soient anonymisées. Cette situation peut soulever plusieurs problèmes. Que faire en cas de découverte, lors de l'analyse des cellules, d'une anomalie susceptible de rendre nécessaire une prise en charge médicale ? La personne ne pouvant être recontactée, cela rend impossible l'utilisation des iPS à des fins thérapeutiques. Par ailleurs, les techniques de séquençage haut débit pourraient permettre éventuellement d'identifier le donneur et donc de lever l'anonymat.

Un autre aspect concerne l'utilisation des iPS dans le cadre de la reproduction. La possibilité d'obtenir des cellules germinales primordiales ou des gamètes à partir d'iPS peut permettre de progresser dans les connaissances sur la gamétogenèse et les traitements de l'infertilité. Cependant, ce type de recherche sur la reproduction soulève des problèmes éthiques. Un consentement explicite, séparé, serait nécessaire si est envisagée une telle recherche.

Dans la perspective de l'utilisation d'iPS pour des travaux de recherche, des auteurs aux USA recommandent que soient mentionnés sur le formulaire de consentement large les termes suivants (26) :

- Possibilité de modifier génétiquement les cellules dérivées des iPS
- Possibilité d'injecter les iPS ou ses dérivés à un animal, y compris dans le cerveau
- Possibilité de séquençage haut débit du génome
- Possibilité de partager les lignées avec d'autres chercheurs
- L'absence de bénéfice pour le donneur en cas de brevets ou d'utilisation commerciale

Un tel consentement large peut être associé à une information spécifique sur des sujets qui pourraient être considérés comme posant des problèmes éthiques particuliers (utilisation thérapeutique, recherche sur la reproduction, création de chimères). Il devrait faire état des aspects commerciaux.

Conformément au cadre fixé par les textes européens et nationaux, le formulaire de consentement doit indiquer que ce consentement est révoquant à tout moment et il pourrait indiquer la possibilité de refuser certaines applications.

## 6. Des perspectives en questions

Certaines applications potentielles méritent une vigilance toute particulière du législateur par les problèmes éthiques qu'elles soulèvent.

### 6.1 La production de gamètes par différenciation d'IPS

Cette production n'est pas en théorie impossible.

Elle a été réalisée chez la souris (27). Cependant il n'a pas été possible d'obtenir une différenciation complète *in vitro*, celle-ci s'arrêtant au stade de cellules primordiales. Par contre il a été possible, *in vivo*, en « transplantant » ces cellules primordiales dans les testicules ou les ovaires d'obtenir des gamètes mâles ou femelles matures à l'origine après AMP de la naissance de jeunes normaux et fertiles (28). Chez l'homme, aucune production de gamètes matures n'a pu être à ce jour obtenue *in vitro*.

En supposant que les difficultés techniques soient résolues, l'intérêt serait important en recherche fondamentale (étude de la gamétogenèse et de la fécondance des gamètes). Dans cette hypothèse la problématique de création d'embryons à des fins de recherche, aujourd'hui strictement interdite (art. L. 2151-2 du CSP), resurgit, soulevant des problèmes éthiques majeurs (29).

A plus long terme, l'utilisation d'IPS différenciées en cellules germinales à des fins thérapeutiques pourrait ouvrir de nouvelles perspectives à des patients infertiles. Toutefois, l'origine même des gamètes, issus de cellules « reprogrammées », peut faire craindre des risques élevés pour la santé de l'enfant à naître. De ce fait, les questions éthiques préalables sont particulièrement difficiles, portant à la fois sur la création d'embryons à fin de recherche dans une phase d'expérimentation préclinique qui serait indispensable, et sur le degré de risque encouru s'agissant des enfants issus de ce nouveau mode de procréation.

Enfin, la production de spermatozoïdes issus d'iPS de femmes ou d'ovocytes issus d'iPS d'hommes, si elle était techniquement envisageable un jour, poserait de nouvelles questions éthiques liées aux conséquences d'un engendrement qui s'affranchirait de la distinction entre homme et femme. On se reportera aux avis du CO de l'ABM concernant l'ouverture de l'AMP aux couples de femmes et à l'autoconservation des gamètes des personnes transsexuelles souhaitant procéder à un traitement de réassignation sexuelle.

## 6.2 Chimères et iPS

Le terme chimère désigne des organismes contenant des cellules d'origine différente, sans qu'il y ait mélange des matériels génétiques. Il convient de distinguer les chimères dites primaires, qui sont obtenues par le mélange de cellules au sein de l'embryon avant organogenèse, des chimères dites secondaires, qui sont formées par injection ou transfert de cellules au sein d'un individu ou d'un animal déjà constitué (situation rencontrée chez l'Homme, par exemple, lors d'une transplantation d'organe ou d'une greffe de cellules souches hématopoïétiques).

L'établissement de chimères secondaires par transfert d'iPS, ou de précurseurs différenciés issus d'iPS humaines, à un animal dans le cadre d'une recherche fondamentale ou préclinique ne soulève pas d'enjeux éthiques majeurs, sauf à considérer la question de la greffe de cellules neuronales ou de cellules germinales humaines chez le grand singe, et les questions éthiques posées par la recherche sur les animaux. Par exemple, l'injection de cellules iPS humaines à un animal immunodéficient, qui entraîne la formation de tératomes, constitue un test de pluripotence des iPS – comme c'est le cas en routine avec les CSEh.

L'établissement de chimères primaires en introduisant des cellules iPS ou des cellules souches embryonnaires humaines au sein d'embryons non humains soulève des questions éthiques liées au possible développement de cellules humaines au sein d'un animal, puisque ces cellules ont la propriété de pouvoir se différencier en n'importe quel type de cellule de l'organisme, y compris, en théorie, des neurones et des cellules germinales. Dès lors, doit être envisagé le risque de contribution de cellules humaines au développement embryonnaire des ébauches du cerveau et des gonades.

Des travaux utilisant des chimères primaires ont déjà été rapportés, mais il faut distinguer plusieurs approches très différentes :

Une première approche consiste à injecter des cellules humaines au sein d'un embryon animal afin d'étudier leur comportement ainsi que leur capacité à se développer et se différencier. Le nombre de cellules humaines présentes dans ces embryons chimériques est généralement très minoritaire par rapport au nombre de cellules animales (moins de 1%). Récemment, une équipe britannique a montré la capacité de cellules iPS humaines et de CSEh à participer au développement embryonnaire et à la constitution des feuillets germinaux selon une cinétique normale, après injection à des embryons murins au stade gastrula. Les auteurs ont cultivé les embryons chimériques *in vitro* durant 2 jours après injection des cellules humaines. Aucun embryon n'a été transféré en vue de faire naître des animaux chimériques. Le résultat de cette étude montre pour la première fois de façon convaincante la pluripotence des iPS. A l'avenir, on peut aisément imaginer que cette technique devienne un test de référence et que de nombreuses équipes, y compris en France, soient amenées à la mettre en œuvre.

Un tout autre problème est posé par la constitution d'embryons chimères chez des gros animaux, dans le but de produire, chez l'animal, des organes pouvant être greffés chez l'Homme. Des cellules iPS humaines seraient injectées dans un blastocyste d'un animal génétiquement altéré pour bloquer le développement de l'un des organes de l'animal – de sorte que seules les cellules humaines contribuent à la croissance de cet organe – et ce blastocyste serait transféré chez une femelle « porteuse ». A la naissance, l'organe serait d'origine humaine et pourrait être ultérieurement prélevé – l'animal étant sacrifié après avoir atteint la taille requise – en vue de son implantation chez l'homme. A ce titre, l'exemple le plus fréquemment avancé est celui de la production de pancréas humain chez le porc (30-32). C'est dans ce cas que se pose la question évoquée ci-dessus de la contribution de cellules humaines à d'autres tissus sensibles de l'animal, comme le cerveau ou les gonades.

L'expérience de l'évolution des connaissances et des technologies au cours des deux dernières décennies incite à la prudence et à l'anticipation de la réflexion éthique. De

nombreux pays ont déjà débattu de la question. Certains d'entre eux (Allemagne, Canada, Italie, Suisse, Danemark) sont très restrictifs en ce qui concerne la création d'embryons chimériques. D'autres (Singapour, Angleterre, Suède, Etats-Unis) ainsi que des sociétés de recherche internationales ont adopté une position plus souple avec des limites sur les types de chimères autorisées, le temps de culture ou la possibilité d'un transfert. Ces réglementations ont, dans tous les cas, fait l'objet d'un débat poussé impliquant les instances en charge des questions de bioéthique, ainsi qu'un dialogue avec le Gouvernement et parfois un débat public.

En France, un tel débat n'a pas eu lieu. La loi interdit « la création d'embryons transgéniques ou chimériques » (second alinéa de l'art. L. 2151-2 du CSP, issu de la loi de bioéthique du 7 juillet 2011). Cette interdiction était présentée par l'auteur de l'amendement dont elle est issue comme visant des embryons « mélangeant des cellules animales et des cellules humaines » [Rapport n° 388 (2010-2011) de M. Alain MILON, fait au nom de la commission des affaires sociales du Sénat, déposé le 30 mars 2011]. Si cette interdiction concerne à l'évidence la création d'embryons chimériques par injection de cellules animales au sein d'un embryon humain cédé à la recherche, la question se pose s'agissant de l'introduction d'iPS humaines dans un embryon animal. Il serait utile que le législateur s'intéresse de nouveau à la question pour lever les interrogations qui ont pu se faire jour. Il serait particulièrement utile que soient précisées les différentes expériences possibles et autorisables. Il conviendrait notamment que la question sensible du degré de chimérisme soit abordée.

De telles possibilités de chimères soulèvent la question éthique majeure de la transgression des frontières entre l'homme et l'animal. Certes, des études ont déjà été menées qui reposaient sur l'injection de cellules humaines chez l'animal. Mais l'utilisation d'iPS – ou d'autres cellules souches humaines – et la constitution d'embryons chimériques sont radicalement différentes, puisque ces cellules ont la propriété de pouvoir se différencier en n'importe quel type de cellules de l'organisme, y compris des cellules germinales. Dès lors, doit être envisagé le risque de migration de cellules et « d'humanisation » de l'animal. Certains évoquent ainsi les moyens de remédier aux risques, d'une part, de modifications du cerveau de l'animal par migration de cellules d'origine humaine et, d'autre part, de

production de gamètes humains par l'animal (33). En sens inverse, le risque existe de transmission à l'homme d'agents infectieux jusque là présents uniquement chez l'animal.

## **7. L'homme « prolongé », l'homme « augmenté »**

Du fait de l'absence des problèmes éthiques liés à la question de l'embryon et de la facilité d'accès à ces cellules, se posera la question de l'usage social non strictement thérapeutique et médical. La reprogrammation de cellules rend plausible l'idée d'intervenir pour une « régénération sans fin des tissus » (l'homme prolongé – modifiant notre rapport au vieillissement et à la mort) ou une « augmentation ou acquisition » de capacités (l'homme augmenté) et le développement d'une « économie » et d'un « marché ». La prolongation ou l'augmentation ne seront plus additionnelles du fait d'une technique ou d'une technologie que l'on pourrait dire « embarquée » mais naturelle. Cette nouvelle réalité introduirait une « fracture » anthropologique et « sociale » entre les hommes, brisant et clivant l'unité humaine. Le projet d'un transhumanisme, offrant les solutions pour « prolonger » la vie et « l'augmenter », deviendrait alors une réalité sociale et anthropologique qui redéfinirait pour certains la question du temps et de la puissance. Outre le fait d'un marché concurrentiel – libre ou régulé - avec les enjeux de contrôle ou non de ce qui serait à disposition, se posera la question de l'équité sociale des citoyens dans l'accès à ces nouvelles possibilités, mais aussi des incidences dans l'établissement des liens sociaux et humains. L'idée d'un « surhomme », d'une humanité à « deux vitesses anthropologiques », d'une post-humanité pourrait conduire à des nouvelles hiérarchisations et de nouvelles dominations. Le développement de la recherche sur les IPS nécessite un accompagnement critique et éthique des incidences sur les mutations qu'elles ne manqueront pas de générer.

## Conclusion

La découverte en 2007 que des fibroblastes de sujets adultes, prélevés par une biopsie de peau, pouvaient être reprogrammées en l'équivalent de cellules souches embryonnaires a soulevé l'enthousiasme des chercheurs, du public et des patients. Ces cellules iPS sont des cellules pluripotentes comparables aux cellules souches embryonnaires humaines en termes de stabilité, de capacité de prolifération in vitro dans un état indifférencié et de différenciation dans tous les types de cellules de l'organisme et ceci sans avoir la barrière éthique de destruction d'un embryon.

Tout comme pour les CSEh, les applications possibles des iPS dans le domaine de la recherche sont nombreuses : modélisation du développement des tissus et des organes, étude des mécanismes à l'origine de pathologies constitutionnelles ou acquises par l'étude d'iPS des patients, criblage médicamenteux en étudiant la capacité de molécules de restaurer des anomalies observées sur les cellules. A plus long terme, leur utilisation peut être envisagée dans le cadre d'une thérapie cellulaire.

Néanmoins, les iPS ne sont pas équivalentes aux CSEh. Même si les techniques de reprogrammation vont permettre que les iPS soient de plus en plus proches des CSEh, actuellement, il reste à surmonter certains problèmes à savoir, le taux de reprogrammation faible, la possibilité d'anomalies génétiques induites par la reprogrammation ou la culture des cellules, la possibilité d'anomalies épigénétiques acquises avant ou au cours de la reprogrammation. Pour ces raisons, les CSEh restent aujourd'hui la référence dans la pluripotence des cellules souches.

Les progrès rapides et les espoirs sur le plan thérapeutique, qu'ils s'agisse d'iPS autologues ou d'iPS allogéniques, imposent de réfléchir aux aspects éthiques et légaux soulevés par ce nouveau type de cellules.

L'obtention d'iPS dérivées d'un donneur soulève certains problèmes éthiques tels que la possibilité de recontacter le donneur, en particulier si une anomalie que le donneur ignorait est découverte, les droits du donneur sur les découvertes engendrées par les recherches et leurs utilisations commerciales. Sur ces points, les termes du consentement du donneur doivent être soigneusement choisis.

La possibilité d'utiliser les iPS pour le traitement de certaines maladies posera également des questions dans la mesure où le rapport bénéfice/risque devra être soigneusement évalué avant qu'une recherche clinique soit éthiquement autorisée. Des critères admis par la communauté internationale des chercheurs et des autorités de santé devront être établis quant aux conditions de production, les études précliniques chez l'animal et les procédures de contrôle de qualité avant de débiter des essais cliniques. De nombreux obstacles restent à vaincre avant que des applications thérapeutiques puissent voir le jour.

D'autres questions éthiques concernent la possibilité de dériver des cellules germinales à partir d'iPS avec toutes les conséquences que cela pourrait avoir sur la procréation.

Les iPS sont des candidats pour jouer un rôle majeur dans la médecine régénérative. Le risque est important que leur utilisation soit étendue à des applications sans lien avec une pathologie.

Le développement des iPS nécessitera très certainement des débats publics d'ordre éthique et des prises de positions de la part du législateur.

## Bibliographie

1. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*. 2007;131(5):861-72.
2. Zhao J, Jiang WJ, Sun C, Hou CZ, Yang XM, Gao JG. Induced pluripotent stem cells: origins, applications, and future perspectives. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2013;14(12):1059-69.
3. Singh VK, Kalsan M, Kumar N, Saini A, Chandra R. Induced pluripotent stem cells: applications in regenerative medicine, disease modeling, and drug discovery. *Front Cell Dev Biol*. 2015;3:2.
4. Doyle MJ, Lohr JL, Chapman CS, Koyano-Nakagawa N, Garry MG, Garry DJ. Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes as a Model for Heart Development and Congenital Heart Disease. *Stem Cell Rev*. 2015;11(5):710-27.
5. Ko HC, Gelb BD. Concise review: drug discovery in the age of the induced pluripotent stem cell. *Stem Cells Transl Med*. 2014;3(4):500-9.
6. Svendsen CN. Back to the future: how human induced pluripotent stem cells will transform regenerative medicine. *Hum Mol Genet*. 2013;22(R1):R32-8.
7. Bai Q, Desprat R, Klein B, Lemaitre JM, De Vos J. Embryonic stem cells or induced pluripotent stem cells? A DNA integrity perspective. *Current gene therapy*. 2013;13(2):93-8.
8. Simara P, Motl JA, Kaufman DS. Pluripotent stem cells and gene therapy. *Transl Res*. 2013;161(4):284-92.
9. Doudna JA, Charpentier E. Genome editing. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. *Science*. 2014;346(6213):1258096.
10. Abyzov A, Mariani J, Palejev D, Zhang Y, Haney MS, Tomasini L, et al. Somatic copy number mosaicism in human skin revealed by induced pluripotent stem cells. *Nature*. 2012;492(7429):438-42.
11. Hussein SM, Batada NN, Vuoristo S, Ching RW, Autio R, Narva E, et al. Copy number variation and selection during reprogramming to pluripotency. *Nature*. 2011;471(7336):58-62.
12. Yamanaka S. Induced pluripotent stem cells: past, present, and future. *Cell Stem Cell*. 2012;10(6):678-84.
13. Carey BW, Markoulaki S, Hanna JH, Faddah DA, Buganim Y, Kim J, et al. Reprogramming factor stoichiometry influences the epigenetic state and biological properties of induced pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell*. 2011;9(6):588-98.
14. Vallier L. Putting induced pluripotent stem cells to the test. *Nat Biotechnol*. 2015;33(11):1145-6.
15. Choi J, Lee S, Mallard W, Clement K, Tagliacuzzi GM, Lim H, et al. A comparison of genetically matched cell lines reveals the equivalence of human iPSCs and ESCs. *Nat Biotechnol*. 2015;33(11):1173-81.
16. Rouhani F, Kumasaka N, de Brito MC, Bradley A, Vallier L, Gaffney D. Genetic background drives transcriptional variation in human induced pluripotent stem cells. *PLoS Genet*. 2014;10(6):e1004432.
17. Kobold S, Guhr A, Kurtz A, Loser P. Human embryonic and induced pluripotent stem cell research trends: complementation and diversification of the field. *Stem Cell Reports*. 2015;4(5):914-25.
18. Yamakawa H, Ieda M. Strategies for heart regeneration: approaches ranging from induced pluripotent stem cells to direct cardiac reprogramming. *Int Heart J*. 2015;56(1):1-5.
19. Jones BS, Lamb LS, Goldman F, Di Stasi A. Improving the safety of cell therapy products by suicide gene transfer. *Front Pharmacol*. 2014;5:254.
20. Gourraud PA, Gilson L, Girard M, Peschanski M. The role of human leukocyte antigen matching in the development of multiethnic "haplobank" of induced pluripotent stem cell lines. *Stem Cells*. 2012;30(2):180-6.
21. Critchley CR, Bruce G, Farrugia M. The impact of commercialisation on public perceptions of stem cell research: exploring differences across the use of induced pluripotent cells, human and animal embryos. *Stem Cell Rev*. 2013;9(5):541-54.
22. Lomax GP, Hull SC, Lowenthal J, Rao M, Isasi R. The DISCUSS Project: induced pluripotent stem cell lines from previously collected research biospecimens and informed consent: points to consider. *Stem Cells Transl Med*. 2013;2(10):727-30.
23. Lowenthal J, Lipnick S, Rao M, Hull SC. Specimen collection for induced pluripotent stem cell research: harmonizing the approach to informed consent. *Stem Cells Transl Med*. 2012;1(5):409-21.

24. Zarzeczny A, Scott C, Hyun I, Bennett J, Chandler J, Charge S, et al. iPS cells: mapping the policy issues. *Cell*. 2009;139(6):1032-7.
25. Wolf SM, Lawrenz FP, Nelson CA, Kahn JP, Cho MK, Clayton EW, et al. Managing incidental findings in human subjects research: analysis and recommendations. *J Law Med Ethics*. 2008;36(2):219-48, 1.
26. Aalto-Setälä K, Conklin BR, Lo B. Obtaining consent for future research with induced pluripotent cells: opportunities and challenges. *PLoS Biol*. 2009;7(2):e42.
27. Yang S, Bo J, Hu H, Guo X, Tian R, Sun C, et al. Derivation of male germ cells from induced pluripotent stem cells in vitro and in reconstituted seminiferous tubules. *Cell Prolif*. 2012;45(2):91-100.
28. Hayashi K, Ogushi S, Kurimoto K, Shimamoto S, Ohta H, Saitou M. Offspring from oocytes derived from in vitro primordial germ cell-like cells in mice. *Science*. 2012;338(6109):971-5.
29. Le Douarin NM. [Ethical problems raised by new reproductive biotechnologies and stem cells]. *C R Biol*. 2015;338(8-9):571-5.
30. Rashid T, Kobayashi T, Nakauchi H. Revisiting the flight of Icarus: making human organs from PSCs with large animal chimeras. *Cell Stem Cell*. 2014;15(4):406-9.
31. Gafni O, Weinberger L, Mansour AA, Manor YS, Chomsky E, Ben-Yosef D, et al. Derivation of novel human ground state naive pluripotent stem cells. *Nature*. 2013;504(7479):282-6.
32. De Vos J. Les cellules souches pluripotentes induites : une source illimitée de cellules, de tissus et d'organes pour une médecine régénérative *Le Courrier de la Transplantation* 2015;15:146-50.
33. Giquel C, De Vos J, Bourret R, Violla F, Martinez E, Thonnat-Marin A. Creation of chimeric animals bearing human organs. *Médecine & Droit*. 2015;in press.

## ANNEXES

### Annexe 1

#### Définitions

- Cellules souches : cellules ayant la capacité d'autorenouvellement et de différenciation ;
- cellules souches totipotentes : cellules à partir desquelles peuvent se développer un individu complet (foetus) et les annexes (placenta et membranes) ;
- cellules souches pluripotentes : cellules ayant la propriété de pouvoir se différencier en n'importe quel type de cellules de l'organisme, y compris en cellules germinales, mais pas en annexes embryonnaires ;
- cellules souches multipotentes : cellules ayant la propriété de se différencier en un nombre limité de types cellulaires ;
- cellules souches unipotentes : cellules ayant la propriété de se différencier en un seul type cellulaire spécialisé.

## Annexe 2

### Protocoles de recherche clinique avec des CSEh

On peut citer deux exemples de protocoles de recherche clinique initiés ou en voie de l'être en France :

- production de cellules précurseurs des cardiomyocytes avec un essai clinique portant sur l'insuffisance cardiaque post-infarctus débuté fin 2014. J Larghero et P Ménasché (Code Clinicaltrials.gov : NCT02057900) ;
- production de kératinocytes avec un essai clinique dans le cadre du traitement des ulcérations cutanées chez les malades atteints de drépanocytose homozygote. (protocole PACE, B Dreno et G Lemaitre : Décision du 3 mars 2014).

Plusieurs protocoles cliniques ont été initiés hors de France :

- production d'oligodendrocytes dans le cadre du traitement des traumatismes aigus de la moelle épinière : essai américain (société Geron) débuté en 2010 et arrêté en 2011 ;
- production de précurseurs pancréatiques encapsulés dans le cadre du traitement du diabète de type 1, débuté en 2014 (1 patient inclus) (viaCyte, Code Clinicaltrials.gov NCT02239354) ;
- Plusieurs essai de phase I/II testent la sécurité et l'efficacité des cellules pigmentées de la rétine dérivées des CSEh dans la dystrophie héréditaire maculaire de type Stargardt's et la dégénérescence maculaire liée à l'âge :
  - Ocata/ USA California, Florida, Pennsylvania : 14 patients inclus (Codes Clinicaltrials.gov NCT01344993 et Clinicaltrials.gov NCT01345006 ) (1) ;
  - Pfizer/University College London (Code Clinicaltrials.gov NCT01691261) ;

- CHA Bio&Diostech/ CHA Bundang Medical Center, Korea (Code Clinicaltrials.gov NCT01674829) ;
- Cell Cure Neuroscience Ltd./Biotime/Hadassah Ein Kerem University Hospital, Israel (Code Clinicaltrials.gov NCT02286089) ;
- Regenerative Patch Technologies, LLC/USC Keck School of Medicine, Eye Institute/Retina-Vitreous Associates Medical Group, USA (Code Clinicaltrials.gov NCT02590692).

### Référence

1. Schwartz SD, Regillo CD, Lam BL, Elliott D, Rosenfeld PJ, Gregori NZ, et al. Human embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelium in patients with age-related macular degeneration and Stargardt's macular dystrophy: follow-up of two open-label phase 1/2 studies. *Lancet*. 2015;385(9967):509-16.

### Annexe 3

#### Modélisation de maladies avec les iPS

- Les maladies neurologiques, telles la maladie de Parkinson, la maladie de Huntington, la sclérose en plaques (2).
- En cardiologie, les cardiopathies congénitales et les troubles du rythme constitutionnels ont fait l'objet de nombreuses recherches dans des modèles utilisant les iPS (3).
- Dans le cadre du diabète, les iPS (comme les CSEh) ont une grande capacité à se différencier en cellules  $\beta$ , sécrétant de l'insuline, y compris les iPS provenant de patients atteints de divers types de diabète (4).
- Dans le cadre des maladies inflammatoires du tube digestif, les iPS peuvent se différencier en cellules épithéliales fonctionnelles (5).
- Les maladies dégénératives de la rétine (6, 7).
- En hépatologie, modélisation de maladies enzymatiques génétiques à partir d'hépatocytes dérivés d'iPS provenant de patients (8).
- De multiples autres pathologies (maladies métaboliques, affections dysimmunitaires, hémoglobinopathies...) ont fait l'objet de programmes de recherche permettant de les modéliser à partir d'iPS issues de patients atteints de ces pathologies (9).
- Les maladies du vieillissement et de la réparation de l'ADN sont un autre domaine où les iPS sont un modèle de choix, par exemple, le syndrome de Werner (10).
- Les pathologies tumorales : Il est nécessaire de disposer de modèles humains pour comprendre la progression des cancers (11) (12).
- Les pathologies hématologiques comme des syndromes myéloprolifératifs de l'adulte et de l'enfant (13, 14).
- Des infections virales ont également été modélisées sur des cellules neuronales, hépatiques, cardiaques dérivées d'iPS, de même que des susceptibilités individuelles à certaines infections virales (15).

#### Références

2. Barker RA, de Beaufort I. Scientific and ethical issues related to stem cell research and interventions in neurodegenerative disorders of the brain. *Progress in neurobiology*. 2013;110:63-73.
3. Yang C, Al-Aama J, Stojkovic M, Keavney B, Trafford A, Lako M, et al. Concise Review: Cardiac Disease Modeling Using Induced Pluripotent Stem Cells. *Stem Cells*. 2015;33(9):2643-51.
4. Abdelalim EM, Emara MM. Advances and challenges in the differentiation of pluripotent stem cells into pancreatic beta cells. *World journal of stem cells*. 2015;7(1):174-81.
5. Liu J, Shi B, Shi K, Zhang H. Applications of induced pluripotent stem cells in the modeling of human inflammatory bowel diseases. *Curr Stem Cell Res Ther*. 2015;10(3):228-35.
6. Wiley LA, Burnight ER, Songstad AE, Drack AV, Mullins RF, Stone EM, et al. Patient-specific induced pluripotent stem cells (iPSCs) for the study and treatment of retinal degenerative diseases. *Prog Retin Eye Res*. 2015;44:15-35.
7. Cereso N, Pequignot MO, Robert L, Becker F, De Luca V, Nabholz N, et al. Proof of concept for AAV2/5-mediated gene therapy in iPSC-derived retinal pigment epithelium of a choroideremia patient. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2014;1:14011.
8. Subba Rao M, Sasikala M, Nageshwar Reddy D. Thinking outside the liver: induced pluripotent stem cells for hepatic applications. *World J Gastroenterol*. 2013;19(22):3385-96.
9. Botman O, Wyns C. Induced pluripotent stem cell potential in medicine, specifically focused on reproductive medicine. *Frontiers in surgery*. 2014;1:5.
10. Shimamoto A, Yokote K, Tahara H. Werner Syndrome-specific induced pluripotent stem cells: recovery of telomere function by reprogramming. *Front Genet*. 2015;6:10.
11. Kim C. Disease modeling and cell based therapy with iPSC: future therapeutic option with fast and safe application. *Blood Res*. 2014;49(1):7-14.
12. Laplane L, Beke A, Vainchenker W, Solary E. Concise Reviews: Induced Pluripotent Stem Cells as New Model Systems in Oncology. *Stem Cells*. 2015.
13. Arai S, Miyauchi M, Kurokawa M. Modeling of hematologic malignancies by iPS technology. *Exp Hematol*. 2015;43(8):654-60.
14. Kim J, Zaret KS. Reprogramming of human cancer cells to pluripotency for models of cancer progression. *The EMBO journal*. 2015;34(6):739-47.
15. Trevisan M, Sinigaglia A, Desole G, Berto A, Pacenti M, Palu G, et al. Modeling Viral Infectious Diseases and Development of Antiviral Therapies Using Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Systems. *Viruses*. 2015;7(7):3835-56.

## Annexe 4

### Exemples de programmes de régénération cellulaire ou tissulaire

- La rétine est un tissu complexe formé non seulement de photorécepteurs mais aussi entre autres de l'épithélium rétinien pigmentaire dont la dégradation est à l'origine de la dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA). La transplantation d'iPS chez la souris porteuse d'un équivalent murin de la DMLA a permis la restauration partielle de la vision. Plusieurs questions se posent dans ce domaine : le mode d'administration des cellules - la transplantation semble plus appropriée que l'injection dans le vitré ; le support tissulaire le plus efficient pour obtenir un épithélium pigmentaire rétinien polarisé et en monocouche, comme l'est l'épithélium naturel (16, 17) ;
- En cardiologie, la génération de cardiomyocytes dans la zone du myocarde après un infarctus (18) ou les réparations possibles des cardiomyopathies constitutionnelles (18) ;
- La reprogrammation partielle (sans repasser par le stade de pluripotence) de cellules rénales différenciées (voire de cellules épithéliales rénales présentes dans les urines) en cellules rénales progénitrices pourrait être envisagée dans le traitement des insuffisances rénales terminales aujourd'hui prises en charge par la dialyse ou la transplantation (19) ;
- La transplantation d'hépatocytes dérivés d'iPS humains améliore la fonction hépatique après insuffisance hépatique d'origine toxique chez la souris (20) ;
- La régénération osseuse (21) ou dentaire (22) ;
- Le traitement de la surdité en association avec les implants cochléaires (23) ;
- Le traitement des lésions médullaires post traumatiques (24).

### Références

16. Alonso-Alonso ML, Srivastava GK. Current focus of stem cell application in retinal repair. World journal of stem cells. 2015;7(3):641-8.
17. Jha BS, Bharti K. Regenerating Retinal Pigment Epithelial Cells to Cure Blindness: A Road Towards Personalized Artificial Tissue. Curr Stem Cell Rep. 2015;1(2):79-91.

18. Nonaka M, Morimoto S. Experimental models of inherited cardiomyopathy and its therapeutics. *World J Cardiol.* 2014;6(12):1245-51.
19. Morales EE, Wingert RA. Renal stem cell reprogramming: Prospects in regenerative medicine. *World journal of stem cells.* 2014;6(4):458-66.
20. Asgari S, Moslem M, Bagheri-Lankarani K, Pournasr B, Miryounesi M, Baharvand H. Differentiation and transplantation of human induced pluripotent stem cell-derived hepatocyte-like cells. *Stem Cell Rev.* 2013;9(4):493-504.
21. Lou X. Induced Pluripotent Stem Cells as a new Strategy for Osteogenesis and Bone Regeneration. *Stem Cell Rev.* 2015;11(4):645-51.
22. Liu P, Zhang Y, Chen S, Cai J, Pei D. Application of iPS cells in dental bioengineering and beyond. *Stem Cell Rev.* 2014;10(5):663-70.
23. Gunewardene N, Dottori M, Nayagam BA. The convergence of cochlear implantation with induced pluripotent stem cell therapy. *Stem Cell Rev.* 2012;8(3):741-54.
24. Fujimoto Y, Abematsu M, Falk A, Tsujimura K, Sanosaka T, Juliandi B, et al. Treatment of a mouse model of spinal cord injury by transplantation of human induced pluripotent stem cell-derived long-term self-renewing neuroepithelial-like stem cells. *Stem Cells.* 2012;30(6):1163-73.

## Annexe 5

### Législation à propos des cellules souches humaines

#### Les cellules souches adultes et placentaires

Le cadre légal est celui qui s'applique de façon générale aux cellules issues du corps humain.

S'agissant des recherches, il sera détaillé à propos des iPS (application notamment du régime des recherches biomédicales).

S'agissant de l'utilisation, le régime applicable peut être, selon le cas, celui des préparations de thérapie cellulaire ou celui des médicaments et, plus particulièrement, des médicaments de thérapie innovante.

Il résulte du règlement (CE) n° 1394/2007 du Parlement européen et du Conseil du 13 novembre 2007 concernant les médicaments de thérapie innovante qui relèvent du régime des médicaments qui non seulement sont utilisés chez l'être humain pour régénérer, réparer ou remplacer un tissu humain (ce qui est également le cas des préparations de thérapie cellulaire), mais, en outre, contiennent des cellules ou tissus issus de « l'ingénierie cellulaire ou tissulaire », ce qui signifie que l'une au moins des conditions suivantes est remplie :

- . les cellules ou tissus ont été soumis à une manipulation substantielle (modifiant leurs caractéristiques biologiques, leurs fonctions physiologiques ou leurs propriétés structurales),
- . ils ne sont pas destinés à être utilisés pour la (ou les) même(s) fonction(s) essentielle(s) chez le receveur et chez le donneur.

Dans le cas des préparations de thérapie cellulaire, régies par les articles L. 1243-1 et suivants du code de la santé publique (par exemple : cellules souches hématopoïétiques à visée de reconstitution hématologique), l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé délivre, après avis de l'ABM, les autorisations aux établissements ou organismes exerçant les activités de préparation, conservation, distribution et cession, à des fins thérapeutiques autologues ou allogéniques, des préparations de thérapie cellulaire (art. L. 1243-2). L'autorisation porte notamment sur les catégories de préparations de thérapie cellulaire que l'établissement ou l'organisme peut préparer, et l'ANSM la délivre après avoir fait porter son contrôle, notamment, sur le procédé de préparation mis en œuvre et sur les indications thérapeutiques revendiquées (art. R. 1243-4). Les préparations de thérapie cellulaire sont soumises à un dispositif de biovigilance (art. R. 1243-27 et R. 1211-29).

Dans le cas des médicaments de thérapie innovante, deux régimes différents existent :

. les médicaments de thérapie innovante qui ne sont pas spécialement conçus pour un malade déterminé font l'objet, après une procédure d'évaluation spécifique par l'Agence européenne des médicaments, d'une autorisation de mise sur le marché délivrée par la Commission européenne (sur le fondement du règlement (CE) n°726/2004 du 31 mars 2004 établissant des procédures communautaires pour l'autorisation et la surveillance en ce qui concerne les médicaments à usage humain et à usage vétérinaire, et instituant une Agence européenne des médicaments) ; ils sont soumis à un dispositif de pharmacovigilance renforcé et à des exigences de traçabilité, harmonisés au niveau européen par le règlement de 2007 ;

. les médicaments de thérapie innovante préparés de façon ponctuelle - pour exécuter une prescription médicale déterminée pour un produit spécialement conçu à l'intention d'un malade déterminé - font l'objet d'une autorisation par l'autorité nationale, c'est-à-dire, en France, l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé ; on reviendra plus en détail sur ce régime au point 4.

Quelques points plus spécifiques peuvent être abordés.

Les cellules issues de la différenciation de CSH ou de CSM adultes ou fœtales peuvent avoir une origine allogénique, c'est-à-dire provenir de donneurs, avec comme corollaire les problèmes de compatibilité immunologique et les risques de rejet. Cette origine allogénique pose, d'autre part, les questions éthiques de tout don d'organe, élément ou produit du corps humain, notamment la possibilité de connaître le patrimoine génétique du donneur, voire de découvrir de façon aléatoire une anomalie génétique l'affectant. On peut relever que si le don de cellules est, en France, soumis aux principes généraux de consentement préalable, de gratuité et d'anonymat posés par le code de la santé publique, le législateur a prévu que le consentement au prélèvement, en vue de don à des fins thérapeutiques de cellules hématopoïétiques de la moelle osseuse ou du sang périphérique devrait être recueilli par un juge (art. L. 1241-1).

Ces cellules peuvent également avoir une origine autologue, c'est à dire provenant du patient lui-même. Dans le cas particulier des cellules souches hématopoïétiques de sang de cordon ombilical la conservation « primaire » de sang placentaire autologue est techniquement possible. Elle pourrait être envisagée dans l'optique d'une éventuelle autogreffe dans le cadre du traitement d'une maladie maligne dans la toute première enfance ou d'une hypothétique thérapie cellulaire réparatrice ultérieure. Discutable au plan scientifique dans les deux éventualités (possible présence d'anomalies

génétiques dans les cellules du greffon cryoconservé en vue d'une autogreffe; pas de valeur ajoutée par rapport aux CSH adultes en vue d'une thérapie cellulaire), elle n'est pas autorisée en France sauf dérogation.

Le législateur, à l'occasion du vote de la loi du 7 juillet 2011, a clairement choisi que le prélèvement de cellules hématopoïétiques du sang de cordon et du sang placentaire ainsi que de cellules du cordon et du placenta ne puisse être effectué qu'en vue « d'un don anonyme » ou, par dérogation, en vue d'un don « dédié à l'enfant né ou aux frères ou sœurs de cet enfant en cas de nécessité thérapeutique avérée et dûment justifiée lors du prélèvement », ce qui interdit une conservation à finalité autologue hypothétique (art. L. 1241-1 du CSP).

L'étude d'impact de la loi de 2011 montre la volonté de lutter contre le développement d'une offre commerciale reposant sur la diffusion d'informations inexacts par des sociétés proposant aux familles la conservation du sang de cordon de leur enfant, alors que

. « d'une part, l'effet thérapeutique et les avantages du sang de cordon autologue (...) sont même mis en cause par la communauté médicale (effet immunothérapeutique anti-tumoral de la greffe allogénique absent - existence d'un risque de transmission du gène de la maladie combattue ou présence de cellules de la maladie dès la naissance) »,

. et que, « d'autre part, les résultats des rares études mis en avant par ces sociétés montrent qu'aucun patient n'a été guéri ou amélioré de manière scientifiquement mesurable, c'est-à-dire par comparaison avec un groupe contrôle valide ».

Saisi d'une question prioritaire de constitutionnalité, le Conseil constitutionnel a considéré qu'il ne lui appartenait pas de remettre en cause, au regard de l'état des connaissances et des techniques, les dispositions ainsi prises par le législateur (décision n° 2012-249 QPC du 16 mai 2012).

En ce qui concerne l'utilisation autologue des CSM, le problème est celui de l'accès aux soins. En effet, les coûts de production actuels des CSM à usage clinique sont très élevés, de l'ordre de 25 000 € à 40 000 € en fonction du tissu d'origine et de la dose.

### **Les cellules souches embryonnaires humaines (CSEh)**

L'utilisation des cellules souches embryonnaires d'origine humaine (CSEh) pose des problèmes éthiques évidents liés au statut ontologique de l'embryon et aux interrogations faisant intervenir des considérations tant philosophiques, morales et religieuses que scientifiques, relatives au début de la vie humaine. En amont des questions relatives à l'utilisation d'embryons ou de cellules souches

embryonnaires d'origine humaine, impliquant la destruction d'embryons, à des fins de recherche, se posent celles relatives à la création, dans le cadre de l'assistance médicale à la procréation, d'embryons surnuméraires et au devenir de ces embryons lorsqu'ils ne sont plus nécessaires au projet parental du couple.

Toutes ces questions sont l'objet de débats bien connus. La nécessité d'une régulation est apparue impérieuse mais celle-ci n'est pas universelle dans la mesure où différents choix ont été faits selon les pays.

En France, la législation repose sur la considération que l'embryon doit être regardé comme une « personne humaine potentielle ». « Sans permettre de rejoindre entièrement celles et ceux qui demandent que tous les attributs de la personne humaine lui soient reconnus, cette qualification justifie du moins de lui apporter des protections qui lui soient propres, en pensant non seulement à ce qu'il est mais aussi à ce qu'il a vocation à devenir » (Conseil d'Etat, La révision des lois de bioéthique, Etude adoptée par l'assemblée générale plénière le 9 avril 2009, La Documentation française). La législation a évolué de l'interdiction absolue de la recherche utilisant des embryons dans la loi du 29 juillet 1994 *relative au don et à l'utilisation des éléments et produits du corps humain, à l'assistance médicale à la procréation et au diagnostic prénatal*, à l'interdiction avec dérogations sous contrôle de l'ABM de façon temporaire dans la loi du 6 août 2004 *relative à la bioéthique*, puis pérenne dans la loi du 7 juillet 2011 *relative à la bioéthique*, et, enfin, à l'autorisation sous conditions, toujours sous contrôle de l'ABM, dans la loi du 6 août 2013 *autorisant sous certaines conditions la recherche sur l'embryon et les cellules souches embryonnaires*.

La loi interdit la conception in vitro d'embryons ou la constitution par clonage d'embryons humains à des fins de recherche, de même que la création d'embryons transgéniques ou chimériques (art. L. 2151-2 du code de la santé publique).

En vertu du II de l'article L. 2151-5 du code de la santé publique, une recherche ne peut être menée qu'à partir d'embryons conçus in vitro dans le cadre d'une assistance médicale à la procréation et qui ne font plus l'objet d'un projet parental. La recherche ne peut être effectuée qu'avec le consentement écrit préalable du couple dont les embryons sont issus, ou du membre survivant de ce couple, par ailleurs dûment informés des possibilités d'accueil des embryons par un autre couple ou d'arrêt de leur conservation. A l'exception de la situation des embryons sur lequel le diagnostic préimplantatoire autorisé a révélé une anomalie responsable d'une maladie génétique d'une particulière gravité reconnue incurable et de celle des embryons non susceptibles d'être transférés ou conservés, le

consentement doit être confirmé à l'issue d'un délai de réflexion de trois mois. Le consentement des deux membres du couple ou du membre survivant du couple est révocable sans motif tant que les recherches n'ont pas débuté.

En vertu du I de ce même article L. 2151-5, dans sa rédaction issue de la loi du 6 août 2013, aucune recherche sur l'embryon humain ni sur les cellules souches embryonnaires ne peut être entreprise sans autorisation. Un protocole de recherche conduit sur un embryon humain ou sur des cellules souches embryonnaires issues d'un embryon humain ne peut être autorisé que si

- en premier lieu, la pertinence scientifique de la recherche est établie ;
- en deuxième lieu, la recherche, fondamentale ou appliquée s'inscrit dans une finalité médicale ;
- en troisième lieu, si, en l'état des connaissances scientifiques, cette recherche ne peut être menée sans recourir à ces embryons ou ces cellules souches embryonnaires ;
- en quatrième et dernier lieu, le projet et les conditions de mise en œuvre du protocole respectent les principes éthiques relatifs à la recherche sur l'embryon et les cellules souches embryonnaires.

Les protocoles de recherche sont autorisés par l'Agence de la biomédecine après vérification que les conditions posées par la loi sont satisfaites. Les ministres chargés de la santé et de la recherche peuvent, dans un délai d'un mois et conjointement, demander un nouvel examen du dossier en cas de doute sur le respect des principes éthiques ou sur la pertinence scientifique d'un protocole autorisé, ou bien dans l'intérêt de la santé publique ou de la recherche scientifique lorsque le protocole a été refusé. L'Agence de la biomédecine dispose d'un pouvoir de contrôle des recherches autorisées : elle peut diligenter des inspections, elle peut suspendre ou retirer l'autorisation en cas de violation des prescriptions législatives et réglementaires ou de celles fixées par l'autorisation (III de l'art. L. 2151-5 du CSP).

Enfin, les embryons sur lesquels une recherche a été conduite ne peuvent être transférés à des fins de gestation (IV de l'art. L. 2151-5 du CSP).

### **Le cadre légal aujourd'hui applicable aux iPS**

Ce cadre est celui applicable de façon générale aux cellules issues du corps humain. Il pose la question de son adaptation au regard des potentialités qu'offre la « reprogrammation » de cellules en iPS (25).

## La recherche recourant aux iPS

La recherche fondamentale est peu encadrée. Cet encadrement dépend de l'origine des cellules, mais il s'agit dans tous les cas d'un régime déclaratif.

Lorsque le prélèvement est opéré sur une personne décédée, il résulte des dispositions combinées des articles L. 1241-6, L. 1232-1, L. 1232-3 et R. 1232-15 du code de la santé publique que :

- . la personne ne doit pas avoir fait connaître, de son vivant, son refus d'un tel prélèvement ;
- . le ministre chargé de la recherche peut suspendre ou interdire la mise en oeuvre du protocole, lorsque la nécessité du prélèvement ou la pertinence de la recherche n'est pas établie.

Lorsque le prélèvement est opéré à l'issue d'une interruption de grossesse, il résulte de la combinaison des articles L. 1241-5, R. 1232-15 et R. 1241-20 du code de la santé publique que :

- . la femme doit avoir donné son consentement écrit après avoir reçu une information appropriée sur les finalités du prélèvement, donnée postérieurement à sa décision d'interrompre sa grossesse ;
- . le ministre chargé de la recherche peut suspendre ou interdire la réalisation du protocole, lorsque sa pertinence scientifique ou la nécessité du prélèvement n'est pas établie, ou lorsque le respect des principes éthiques n'est pas assuré.

Lorsque le prélèvement est opéré sur une personne vivante, ce qu'autorise l'article L. 1241-1 du code de la santé publique, il est subordonné par l'article L. 1211-2 au consentement préalable du donneur. Toutefois, en vertu de l'article L. 1245-2, lorsque les cellules sont prélevées à l'occasion d'une intervention chirurgicale pratiquée dans l'intérêt de la personne opérée, il suffit, pour qu'elles puissent être utilisés à des fins thérapeutiques ou scientifiques, que la personne n'ait pas exprimé d'opposition après avoir été informée des finalités de cette utilisation, et ce consentement n'est pas révocable. La finalité de la recherche est portée à la connaissance de l'autorité administrative par le biais du contrôle de l'activité de conservation et de préparation à des fins scientifiques de tissus et de cellules issus du corps humain, laquelle inclut la constitution et l'utilisation de collections d'échantillons biologiques humains. En vertu de l'article L. 1243-3, l'organisme qui assure cette conservation et cette préparation pour les besoins de ses programmes de recherche doit en faire la déclaration préalable auprès du ministre chargé de la recherche, en même temps qu'il soumet son projet de déclaration à l'avis

préalable du comité de protection des personnes, qui a pour mission d'évaluer la qualité de l'information des participants, les modalités de recueil du consentement et la pertinence éthique et scientifique du projet. Le ministre peut s'opposer à l'exercice des activités déclarées notamment au regard de la pertinence éthique et scientifique du projet.

La recherche clinique fait l'objet d'un encadrement plus contraignant, qui est celui des recherches biomédicales, ou « recherches organisées et pratiquées sur l'être humain en vue du développement des connaissances biologiques ou médicales » (art. L. 1121-1 du code de la santé publique). Ce régime repose sur :

- . le respect de principes éthiques, au nombre desquels la primauté de l'intérêt des personnes qui se prêtent à la recherche (art. L. 1121-2)
- . le respect de conditions d'expérience du médecin qui assure la direction de la recherche, de conditions matérielles et techniques adaptées, ainsi que de règles ou recommandations de bonnes pratiques (art. L. 1121-3) (26)
- . la nécessité d'un avis favorable du comité de protection des personnes et d'une autorisation de l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (art. L. 1121-4).

S'agissant de la recherche fondamentale – dont il est désormais admis qu'elle est possible sur les CSEh - on observe ainsi un écart important entre l'encadrement de la recherche sur les CSEh et celui qui prévaut en cas de recours aux iPS.

### **L'utilisation d'iPS à des fins thérapeutiques**

Le cadre légal dans lequel cette utilisation s'inscrira, le moment venu, a évolué récemment, avec l'entrée en vigueur en 2013 du régime des « médicaments de thérapie innovante préparés ponctuellement », plus exigeant que celui des préparations de thérapie cellulaire dont l'utilisation des iPS aurait pu relever.

Compte tenu de la « reprogrammation » dont les cellules font l'objet, les produits utilisant des iPS à des fins thérapeutiques entrent dans la définition que le règlement (CE) n° 1394/2007 du 13 novembre 2007 concernant les médicaments de thérapie innovante donne de ces médicaments.

Comme indiqué au point 2, ce règlement prévoit un régime d'autorisation européenne. Toutefois, il en exclut les médicaments de thérapie innovante préparés de façon ponctuelle, c'est-à-dire « préparés de

façon ponctuelle, selon des normes de qualité spécifiques, et utilisés au sein du même État membre, dans un hôpital, sous la responsabilité professionnelle exclusive d'un médecin, pour exécuter une prescription médicale déterminée pour un produit spécialement conçu à l'intention d'un malade déterminé ». C'est très vraisemblablement de cette dernière catégorie que relèvera l'utilisation d'iPS à des fins thérapeutiques, au moins dans une 1<sup>e</sup> étape. Pour cette catégorie, le règlement prévoit seulement que :

- . la fabrication de ces produits doit être subordonnée à une autorisation de l'autorité compétente de l'État membre ;
- . les États membres doivent veiller à ce que les exigences nationales de traçabilité et de pharmacovigilance, ainsi que les normes de qualité spécifiques soient équivalentes à celles prévues au niveau communautaire pour les médicaments de thérapie innovante fabriqués de façon industrielle.

Ces médicaments sont donc soumis à un régime national respectant ces exigences, qui résulte en France de la loi n° 2011-302 du 22 mars 2011 portant diverses dispositions d'adaptation de la législation au droit de l'Union européenne en matière de santé, de travail et de communications électroniques et du décret n° 2012-1236 du 6 novembre 2012 relatif aux médicaments de thérapie innovante, entrés en vigueur en mai 2013. A ce titre :

- . La préparation, la conservation, la distribution et la cession de ces médicaments est réservée aux établissements pharmaceutiques et aux établissements ou organismes spécialement autorisés à cette fin, pour une durée de cinq ans renouvelable, par l'Agence nationale du médicament et des produits de santé (ANSM) après avis de l'Agence de la biomédecine (ABM) (art. L. 4211-9-1 du CSP). Cette autorisation est subordonnée notamment à la nomination d'une personne responsable, à la présence de personnels compétents, à la disposition de locaux et de matériels et à la mise en place de procédures conformes aux règles de bonnes pratiques (art. R. 4211-32 et s. du CSP).
- . Les médicaments eux-mêmes font l'objet d'une autorisation de l'ANSM, qui peut être assortie de conditions particulières ou de restrictions d'utilisation, et dont l'ABM est informée (art. L. 5121-1, 17°, du CSP). Sous certaines conditions, l'utilisation peut être autorisée au vu d'essais précliniques uniquement (art. R. 5121-210 du CSP).

. La préparation, la conservation, la distribution et la cession de ces médicaments doivent être réalisées en conformité avec des bonnes pratiques dont les principes sont définis par décision de l'ANSM, après avis du directeur général de l'ABM (art. L. 5121-5 du CSP).

### **Aspects législatifs concernant le consentement**

La loi impose le recueil du consentement écrit préalable du donneur, « dûment informé de l'objet du prélèvement » (art. L. 1241-1 du code de la santé publique). La seule exception concerne les « résidus opératoires », pour lesquels l'art. L. 1245-2 exige seulement l'absence d'opposition, laquelle peut être vérifiée a posteriori. L'article R. 1241-3 précise, depuis un décret du 19 septembre 2014, que « toute personne majeure qui se prête à un prélèvement ou à un recueil de tissus ou de cellules reçoit, préalablement à son consentement au don ou à sa non-opposition à l'utilisation de ces tissus ou de ces cellules lorsqu'ils ont été prélevés à l'occasion d'une intervention chirurgicale pratiquée dans son intérêt, une information sur les finalités, les modalités et les conséquences de ce prélèvement ou de ce recueil. (...) Ces informations portent sur : (...) 1° La nature et l'objectif du don à finalité thérapeutique, notamment ses avantages potentiels pour le receveur ; (...) 5° La nécessité de prélever et de conserver des échantillons biologiques à visée de biovigilance ainsi que sur leur possible utilisation à des fins scientifiques (...) ».

On peut noter qu'en vertu de l'article 16-10 du code civil, un consentement spécifique est prévu en cas d'examen des caractéristiques génétiques d'une personne, qui doit être dûment informée de la nature et de la finalité de l'examen.

L'article L. 1211-2 du code de la santé publique prévoit l'hypothèse d'une modification ultérieure de la finalité : « L'utilisation d'éléments et de produits du corps humain à une fin médicale ou scientifique autre que celle pour laquelle ils ont été prélevés ou collectés est possible, sauf opposition exprimée

par la personne sur laquelle a été opéré ce prélèvement ou cette collecte, dûment informée au préalable de cette autre fin. (...) Il peut être dérogé à l'obligation d'information lorsque celle-ci se heurte à l'impossibilité de retrouver la personne concernée, ou lorsqu'un des comités consultatifs de protection des personnes mentionnés à l'article L. 1123-1, consulté par le responsable de la recherche, n'estime pas cette information nécessaire », sauf pour les tissus ou cellules germinaux.

### Références

25. Ishii T, Pera RA, Greely HT. Ethical and legal issues arising in research on inducing human germ cells from pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell*. 2013;13(2):145-8.
26. King NM, Perrin J. Ethical issues in stem cell research and therapy. *Stem Cell Res Ther*. 2014;5(4):85

## Annexe 6

### Conservation, circulation, brevétisation des iPS

La conservation par un organisme pour les besoins de ses programmes de recherche est soumise à déclaration en vertu de l'article L. 1243-3 du code de la santé publique, la conservation à des fins thérapeutiques est soumise à autorisation de l'ANSM en vertu de l'article L. 1243-2). Quant à la conservation de cellules issues du corps humain en vue de leur cession pour un usage scientifique, que ce soit à titre gratuit ou dans le cadre d'une activité commerciale, elle est soumise à autorisation du ministre chargé de la recherche, après avis du comité consultatif sur le traitement de l'information en matière de recherche dans le domaine de la santé, en vertu de l'article L. 1243-4. Le ministre vérifie notamment la présentation de garanties suffisantes pour assurer le respect des principes généraux sur le don et l'utilisation des éléments et produits du corps humains.

Les échanges entre les laboratoires de recherche français et étrangers s'opèrent dans le même cadre que tout autre échange de cellules. En vertu de l'article L. 1245-5 du code de la santé publique, l'importation et l'exportation de cellules à des fins scientifiques sont soumises à autorisation du ministre chargé de la recherche. L'importation ou l'exportation à des fins thérapeutiques est quant à elle autorisée par l'ANSM ; le contrôle porte à la fois sur l'activité et sur les cellules ou préparations de thérapie cellulaires et la procédure fait intervenir l'avis de l'ABM lorsque les tissus ou cellules sont en provenance ou à destination d'un Etat non membre de l'Union européenne ou non partie à l'accord sur l'Espace économique européen. L'établissement ou l'organisme qui importe des cellules ou des préparations doit s'assurer que ceux-ci ont été prélevés ou collectés avec le consentement préalable du donneur et sans qu'aucun paiement, quelle qu'en soit la forme, n'ait été alloué à ce dernier (art. R. 1245-1).

On observe donc à nouveau un régime différent de celui des CSEh, pour lesquelles l'importation et l'exportation sont soumises à l'autorisation de l'ABM, qui ne peut être accordée, en vertu de l'art. L. 2151-6 du CSP, que si ces cellules ont été obtenues dans le respect des principes fondamentaux prévus par les articles 16 à 16-8 du code civil.

La question de la commercialisation doit être posée, compte tenu du coût de la recherche et du développement de médicaments de thérapie innovante. L'article 16-1 du code civil, issu de la 1<sup>e</sup> loi de bioéthique, du 29 juillet 1994, affirme que « Le corps humain, ses éléments et ses produits ne peuvent faire l'objet d'un droit patrimonial ». Ces dispositions traduisent la volonté du législateur de protéger la personne de la tentation de réification du corps humain. Le CCNE s'est à plusieurs reprises interrogé sur la possibilité de commercialisation ultérieure de produits du corps humain ayant fait l'objet d'un don gratuit (cf son avis n° 21 du 13 décembre 1990 sur la non commercialisation du corps humain puis son avis n° 93 du 22 juin 2006 sur la commercialisation des cellules souches humaines et autres lignées cellulaires). Son avis de 2006 propose une distinction entre

- Les cellules d'origine, faisant l'objet d'un don gratuit, qui ne peuvent être ni brevetées ni commercialisées,
- et les actes, interventions et opérations qui précèdent, entourent ou suivent des prélèvements de cellules, ainsi que les diverses utilisations dont le produit transformé pourrait être l'objet au terme de modifications profondes, qui peuvent être rémunérés, y compris sous forme commerciale.

L'utilisation du sang donne un exemple, depuis de nombreuses années, de cette distinction, assortie d'un encadrement spécifique. Trois niveaux doivent être distingués :

- Le don de sang, gratuit ;
- La cession des produits sanguins labiles, dont les tarifs sont fixés par arrêté interministériel (art. L. 1221-9 du code de la santé publique) ;
- La commercialisation des médicaments dérivés du sang, dont les prix sont fixés par le Comité économique des produits de santé lorsqu'ils sont vendus en officine et remboursés par l'assurance maladie, ou négociés avec les établissements de santé lorsqu'ils sont utilisés par ces derniers.

S'agissant enfin de la brevetabilité, elle constitue une protection nécessaire en vue d'une valorisation commerciale, mais doit être conciliée avec différents principes éthiques : principe de non commercialisation du corps humain, notion de patrimoine de l'humanité, exigence de partage des connaissances... Le CCNE s'est prononcé notamment par ses avis n° 27 du 2 décembre 1991 sur la non

commercialisation du génome humain et n° 64 du 8 juin 2000 sur l'avant-projet de loi portant transposition dans le code de la propriété intellectuelle de la directive 98/44/CE relative à la protection juridique des inventions biotechnologiques.

Le droit applicable permet d'envisager la brevetabilité tant pour des procédés (notamment des procédés d'obtention d'iPS) que pour des produits obtenus grâce à ces procédés (par exemple des lignées cellulaires). L'article L. 611-10 du code de la propriété intellectuelle prévoit ainsi que sont brevetables les inventions nouvelles impliquant une activité inventive et susceptibles d'application industrielle, « portant sur un produit constitué en totalité ou en partie de matière biologique, ou sur un procédé permettant de produire, de traiter ou d'utiliser de la matière biologique ». L'article L. 611-18 du même code dispose que « Le corps humain, aux différents stades de sa constitution et de son développement, ainsi que la simple découverte d'un de ses éléments, (...) ne peuvent constituer des inventions brevetables. Seule une invention constituant l'application technique d'une fonction d'un élément du corps humain peut être protégée par brevet (...) », et précise que les « utilisations d'embryons humains à des fins industrielles ou commerciales » ne sont pas brevetables.

La brevetabilité des procédés ne soulève pas de question spécifique, sinon celle de la conclusion de contrats de licence et du montant des redevances dues, pour que l'utilisation de ces procédés soit possible. Le droit français comporte d'ailleurs à ce égard des limitations : les méthodes de traitement thérapeutique du corps humain ne sont pas brevetables (art. L. 611-16 du code de la propriété intellectuelle) et le ministre compétent peut, si l'intérêt de la santé publique l'exige, soumettre au régime de la licence d'office un médicament ou son procédé d'obtention (art. L. 613-16 du code de la propriété intellectuelle).

La brevetabilité des produits soulève des questions plus délicates. La première est celle du principe même de la brevetabilité d'éléments du corps humain. La directive 98/44/CE du Parlement européen et du Conseil du 6 juillet 1998 relative à la protection juridique des inventions biotechnologiques, à la lumière de laquelle le droit français doit être interprété, tranche plus clairement la question, puisqu'elle précise qu'un élément isolé du corps humain ou autrement produit par un procédé technique peut constituer une invention brevetable. La seconde est celle de la portée de l'interdiction relative aux embryons, qui est directement issue de la directive. Selon la jurisprudence de la Cour de

justice de l'Union européenne, elle exclut la brevetabilité d'une invention lorsque l'enseignement technique qui fait l'objet de la demande de brevet requiert la destruction préalable d'embryons humains ou leur utilisation comme matériau de départ (CJUE, Gde Ch., 18 octobre 2011, aff. C-34/10). Doit être regardé comme un embryon humain au sens de cette disposition tout organisme qui, à la lumière des connaissances actuelles de la science, dispose, « en tant que tel, de la capacité intrinsèque de se développer en un être humain » (CJUE, Gde Ch., 18 décembre 2014, aff. C-364/13). En l'état des connaissances scientifiques, il n'y a donc pas d'obstacle de principe à la brevetabilité d'inventions reposant sur l'utilisation d'iPS, à la différence de ce qui est le cas pour l'utilisation de CSEh.