

Dossier de Presse

3^{èmes} Journées de l'Agence de la biomédecine

CONFERENCE DE PRESSE
30 Mai 2013



Sommaire du dossier de presse des Journées de l'Agence

Communiqué de synthèse

P.3

Partie 1 : La génétique postnatale

Fiche 1 : le risque de maladie génétique chez un individu

P.5

- Exemple, le cas de François : faire un test génétique pour prévenir la survenue d'un accident grave
- Qui est concerné par les maladies génétiques ?
- Le choix de ne pas connaître les résultats du test

Fiche 2 : les différentes étapes de la prise en charge du malade et les types de maladies génétiques

P.7

- La prise en charge du malade : information, consentement, analyse génétique et rendu des résultats
- Les différents types de maladies génétiques
- Orphanet : un serveur d'information en libre accès pour tous publics sur les maladies rares et les médicaments orphelins

Fiche 3 : les spécificités et les limites des tests génétiques

P.9

- Les tests génétiques : prédire, prévenir ou détecter une maladie génétique
- Les difficultés et les limites d'un test génétique
- Les problèmes psychologiques face aux résultats
- Un encadrement médical adapté

Fiche 4 : les missions de l'Agence de la biomédecine en génétique constitutionnelle

P.11

- Les analyses de génétique dans le cadre de la génétique constitutionnelle
- Autorisation et formation des praticiens, évaluation des pratiques et des résultats, participation à la structuration de l'activité génétique sur le territoire

Fiche 5 : la génétique postnatale pendant les Journées de l'Agence

P.13

- La compatibilité du don d'organes avec certaines maladies génétiques
- La greffe de CSH pour le traitement de certaines maladies génétiques

Partie 2 : La recherche sur l'embryon : plan du DP

Fiche 1 : Les cellules souches embryonnaires humaines, l'embryon humain et la recherche : de quoi s'agit-il ?

P.15

- La recherche sur les cellules souches embryonnaires et sur l'embryon
- Les cellules souches et les cellules différenciées

Fiche 2 : Les autorisations de recherche sur l'embryon et les cellules souches embryonnaires humaines (CSEh) : missions de l'Agence de la biomédecine

P.17

- L'Agence de la biomédecine autorise les travaux de recherche sur les CSEh et l'embryon
- L'autorisation des protocoles de recherche
- Les étapes d'attribution des autorisations
- La traçabilité des recherches
- Le contrôle des recherches
- Le suivi des protocoles de recherche
- La mission d'inspection de l'Agence
- La conservation, l'importation et l'exportation des CSEh

Fiche 3 : Quelques chiffres concernant les autorisations délivrées depuis 2004

P.20

- Nombre d'autorisations, de refus, de renouvellements et de retraits de protocoles de recherche
- L'origine des embryons et des lignées de cellules souches embryonnaires humaines (CSEh)
- Les autorisations de protocoles et les équipes de recherche en 2012

Fiche 4 : Bilan de 5 années de recherche en France

P.22

- L'évolution de la recherche depuis 7 ans
- La plupart des équipes actives effectue des recherches utilisant des lignées de CSEh
- La dérivation de nouvelles lignées de CSEh
- La recherche sur les embryons

Annexe 1 : Extrait du *Rapport annuel 2011* de l'Agence de la biomédecine (p91-98): « Bilan de 5 années de recherche sur les CSEh en France : principaux résultats et perspectives »

P.24

Anne 2 : Liste des publications scientifiques françaises sur la recherche sur l'embryon et les cellules souches embryonnaires humaines depuis 2007

P.35

Communiqué de synthèse
Paris, 30 mai 2013

Recherche sur l'embryon et génétique médicale aux 3^{èmes} Journées de l'Agence de la biomédecine

La 3^{ème} édition des Journées de l'Agence de la biomédecine se tient les 30 et 31 mai 2013 au Centre Universitaire des Saints Pères (45 rue des Saints Pères – Paris VI). Ces Journées constituent un moment fort pour l'Agence et un lieu de partage et d'échange d'informations pour les professionnels de santé concernés par ses domaines d'activité que sont le prélèvement et la greffe d'organes, de cellules souches hématopoïétiques et de tissus, la procréation, l'embryologie et la génétique humaines.

Ces deux jours sont notamment l'occasion de faire le point sur la génétique postnatale et la recherche sur l'embryon et les cellules souches embryonnaires humaines. Deux activités, récentes dans le paysage de la santé en France, dont la structuration et l'encadrement font partie des missions de l'Agence de la biomédecine.

Dans le domaine de la génétique postnatale, l'amélioration de la prise en charge des patients passe par un meilleur accès aux soins et une information précoce pour éviter des situations d'errance diagnostique.

Dans le domaine de la recherche sur l'embryon, l'Agence autorise les protocoles de recherche et assure également un suivi et un contrôle de ces recherches. Elle a établi un bilan de 5 années de recherche en France.

L'Agence de la biomédecine participe à la structuration de l'activité de génétique.

Dans le domaine de la génétique humaine, la prescription médicale et le rendu des résultats se font dans le cadre d'une consultation : la prise en charge médicale est primordiale.

La génétique humaine est une activité médicale récente dont l'organisation est en train de se mettre en place. Cet effort de structuration doit permettre d'améliorer la qualité de vie des personnes et des familles concernées, en adaptant les prises en charge et en évitant les situations d'errance diagnostique auxquelles sont trop souvent confrontés les patients et leur entourage concernés par une maladie rare (au nombre d'environ 6 000 et dont environ 80 % sont d'origine génétique). Pour améliorer l'accès aux soins et au conseil en génétique sur le territoire, l'Agence participe aux différentes démarches telles que :

- L'élaboration des Sros génétiques (schémas régionaux d'organisation des soins) et périnatalité qui participent à l'organisation du diagnostic génétique aussi bien prénatal que postnatal.
- La mise en place du second Plan national Maladies rares qui couvre la période 2011-2014.

Cette structuration qui a pour but d'assurer une expertise adaptée à la maladie de chaque patient, passe notamment par l'organisation en réseaux des laboratoires, et en centres de compétences et de références pour les consultations.

L'Agence de la biomédecine autorise, suit et contrôle les protocoles de recherche sur l'embryon et les cellules souches embryonnaires humaines.

Sept ans après la création de l'Agence et la délivrance des premières autorisations d'importation, de conservation et de recherche sur l'embryon et les cellules souches embryonnaires, les chercheurs ont relevé le défi, et ont établi en France avec succès ce nouveau champ de recherches. Les recherches sur l'embryon et les CSEh imposent des contraintes techniques très importantes, nécessitant des moyens très significatifs, qui ne peuvent être mis en jeu que dans une perspective de long terme.

Pour cette raison, la plupart des équipes autorisées en 2006-2007 ont renouvelé leurs autorisations et poursuivent leurs travaux 6 ans plus tard. Ces contraintes expliquent aussi que les recherches soient réalisées dans des équipes conséquentes, bénéficiant de plateformes et d'infrastructures, le plus souvent dans des centres de recherche.

La majorité des résultats émanant de projets autorisés ont été publiés depuis 2010 (environ 50 articles originaux), ce décalage étant tout à fait normal dans un nouveau champ de recherches pour lequel les équipes françaises n'avaient aucune expérience préalable. Depuis 2004, l'Agence de la biomédecine a rendu 215 décisions dont 64 autorisations, 12 modifications et 35 renouvellements de protocoles de recherche. Les autres décisions comprennent notamment 12 refus et 13 retraits de protocoles de recherche.

A propos de l'Agence de la biomédecine

L'Agence de la biomédecine est un établissement public national créé par la loi de bioéthique du 6 août 2004, relevant du ministère du Travail, de l'Emploi et de la Santé. Elle exerce ses missions dans les domaines du prélèvement et de la greffe d'organes, de tissus et de cellules, ainsi que de la procréation, de l'embryologie et de la génétique humaines. L'Agence de la biomédecine met tout en œuvre pour que chaque malade reçoive les soins dont il a besoin, dans le respect des règles de sécurité sanitaire, d'éthique et d'équité. Par son expertise, elle est l'autorité de référence sur les aspects médicaux, scientifiques et éthiques relatifs à ces questions.

L'Agence de la biomédecine développe également l'information auprès du grand public et des professionnels sur tous les thèmes dont elle a la charge.

→ Suivez l'actualité de l'Agence de la biomédecine sur le compte twitter : @ag_biomedecine

Contact presse :

PrPa pour l'Agence de la biomédecine :

Tel: 01 46 99 69 69

Catherine Gros / catherine.gros@prpa.fr

Sophie Matos / sophie.matos@prpa.fr

Isabelle Closet / isabelle.closet@prpa.fr

Le risque de maladie génétique chez un individu

Pour les patients, effectuer un test génétique dans le cadre d'une prescription médicale permet d'éviter des situations d'errance diagnostic dues à des symptômes incompris.

Exemple : le cas de François : faire un test génétique pour prévenir la survenue d'un accident grave

François, 27 ans, a fait un arrêt cardiaque à la piscine. Les maîtres-nageurs le prennent en charge en attendant le Samu. Amené aux urgences, il est finalement sauvé. Après avoir questionné François, les médecins découvrent que son grand père et son oncle sont tous deux décédés jeunes d'un arrêt cardiaque. Ils soupçonnent une maladie génétique. Il est adressé à un généticien qui, après avoir informé François sur les enjeux de la réalisation d'un test génétique et recueilli son consentement, lui prescrit le test.

Les résultats du test génétique montrent que François est atteint de la maladie de Steinert (maladie génétique). Ces résultats lui sont communiqués par le médecin généticien lors d'une consultation. Il lui explique aussi les conséquences de ce résultat pour les membres de sa famille et la nécessité de les informer. En effet, toute personne atteinte de la maladie génétique aura les mêmes risques de mort subite que François, même en l'absence de signe clinique. La simple pose d'un pacemaker pourra prévenir ce risque.

Qui est concerné par les maladies génétiques ?

La plupart des maladies génétiques sont détectées dès la naissance ou pendant l'enfance mais certaines sont diagnostiquées à l'âge adulte. La recherche de maladie génétique est obligatoirement menée par un médecin.

Tout le monde n'est pas concerné par les maladies génétiques : il faut avoir des symptômes incompris par le médecin ou un membre de sa famille atteint par une maladie génétique transmissible. Le cas contraire existe également, lorsqu'une maladie génétique est diagnostiquée chez un individu, il est important d'informer ses parents, ses frères et sœurs, ses cousins et cousines germains, ses oncles et tantes, qui peuvent l'avoir tout en étant asymptomatiques.

Quelques chiffres :

On recense environ 25 000 gènes dans le génome. On répertorie plus de 6 000 maladies génétiques différentes. En France, environ 3% des naissances présentent une particularité génétique plus ou moins grave identifiable cliniquement ou par un test diagnostique (génétique ou autre). On compte environ 830 000 naissances annuelles en France.

Maladies génétiques les plus fréquentes :

-La mucoviscidose : 1 naissance sur 3 000

-L'amyotrophie spinale: 1 naissance sur 4 000

-Le groupe des maladies caractérisées par les retards mentaux : 1 enfant sur 200

Le choix de ne pas connaître les résultats du test :

Toute personne faisant l'objet d'un test génétique a le droit de connaître les informations recueillies sur sa santé au moyen de ce test. Certaines personnes préfèrent ne pas savoir qu'elles pourraient développer une maladie pour laquelle il n'existe pas encore de traitement disponible. La volonté d'une personne de ne pas être informée doit être respectée. Par ailleurs, en France, l'utilisation de données génétiques par les assurances est interdite.

Les différentes étapes de la prise en charge du malade et les types de maladies génétiques

Le patient atteint de maladie génétique est au cœur d'un dispositif d'accompagnement et d'encadrement médical, légal et associatif. Le site d'informations Orphanet rassemble toutes les informations utiles au patient.

La prise en charge du malade : information, consentement, analyse génétique et rendu des résultats

En France, à partir du moment où une équipe médicale ou un médecin suspecte une maladie génétique, le patient bénéficie d'une prise en charge spécifique qui peut aller jusqu'à la prescription d'un test génétique et son accompagnement médical.

Une **information** préalable appropriée doit lui être communiquée pour qu'il prenne une décision éclairée sur la réalisation ou non de ce test. Ces informations doivent notamment porter sur la nature, la finalité ainsi que sur les implications du test pour lui et pour les membres de sa famille. Il existe plusieurs types de tests. Parmi eux, le test pré-symptomatique permet d'établir pour la personne testée une mutation génétique liée à la maladie dont les symptômes ne sont pas apparents. La plupart des maladies génétiques sont causées par une combinaison de facteurs génétiques et environnementaux. On parle de maladies multifactorielles. Le test de prédisposition fournit des informations sur la composante génétique d'une maladie multifactorielle. Selon les tests, un conseil génétique est proposé au patient afin, en particulier, de l'aider à bien comprendre toutes les implications et faire des choix éclairés.

Le **conseil génétique** permet d'aider le patient à mieux comprendre les implications des résultats pour sa santé et celle de sa famille, et à prendre des décisions, y compris des choix en matière de procréation. Le conseil génétique, en France, est un service de haute qualité rendu au patient par un médecin ou par un conseiller en génétique, compétents en génétique. La notion de « conseil génétique » doit être entendue ici comme un processus de communication et d'accompagnement visant à permettre à des individus et, le cas échéant, des familles, d'effectuer des choix éclairés concernant un test génétique et ses implications.

Le patient doit ensuite donner son **consentement** écrit libre et éclairé au test génétique. Celui-ci est réalisé à partir de cellules extraites la plupart du temps du sang, mais aussi de la salive, de la peau, etc.

L'analyse génétique est faite sur ces échantillons corporels. Il s'agit d'une étude des chromosomes ou de l'ADN. Pour **étudier les chromosomes**, il faut préparer un caryotype. La division d'une cellule est stimulée, puis bloquée au stade où les chromosomes sont condensés au maximum. On fait alors éclater la cellule. Les chromosomes colorés artificiellement sont photographiés au microscope puis classés. Pour **étudier l'ADN**, il faut

l'extraire des cellules, le purifier et l'amplifier. Les progrès technologiques permettent de repérer et d'identifier les mutations de plus en plus rapidement.

Les **résultats** d'un test génétique peuvent être difficiles à interpréter. Ils exigent des compétences spécifiques et la prise en compte de l'histoire du patient. La loi française précise que le résultat ne peut être rendu au patient que par le médecin prescripteur (article L. 1131- 1-3 du code de la santé publique).

Les différents types de maladies génétiques :

Les maladies génétiques, qui regroupent l'ensemble des pathologies résultant d'une altération des gènes, peuvent être héréditaires (même si elles se révèlent tardivement dans l'existence) ou provoquées par une nouvelle mutation. Les maladies génétiques sont classées en deux groupes qui correspondent chacun à un type de transmission et à des techniques d'exploration différentes :

- Des maladies diagnostiquées par cytogénétique (examen des chromosomes) :

Elles sont caractérisées par un changement dans le nombre de chromosomes ou dans leur structure. On parle de maladie chromosomique.

Exemple : Le syndrome de Turner est une anomalie provoquée par la perte partielle ou totale d'un chromosome X. Une trisomie (13, 18 ou 21) est due à un chromosome en excès.

- Des maladies diagnostiquées par génétique moléculaire (étude de l'ADN) :

Elles sont caractérisées par la modification (appelée mutation) d'un ou plusieurs gènes (modification à l'échelle moléculaire de la structure de l'ADN). On parle alors de maladies géniques qui peuvent alors être monogéniques ou multigéniques.

Exemple : La drépanocytose, une maladie du sang qui est due à la mutation d'un gène situé sur le chromosome n°11, est une maladie monogénique.

La plupart des maladies génétiques sont des maladies multifactorielles.

Exemple : Certains diabètes insulino-dépendants (type I) ont des causes environnementales encore mal connues, mais semblent aussi associés pour certaines personnes à une prédisposition génétique due à des mutations sur des gènes du chromosome n°6.

Orphanet : un serveur d'informations en libre accès pour tous publics sur les maladies rares et les médicaments orphelins.

En France, on dit qu'une maladie est rare si moins d'une personne sur 2 000 en est atteintes. Les maladies rares ont pour la plupart une origine génétique. Par exemple, la mucoviscidose, l'hémophilie et la trisomie 18 sont des maladies rares. A ce jour, il y a plus de 6 000 maladies rares identifiées touchant au final de nombreuses personnes (estimation : près de 4 millions de personnes en France).

Le but d'Orphanet (www.orpha.net) est de contribuer à améliorer le diagnostic, la prise en charge et le traitement des maladies rares. Il propose pour chaque maladie un résumé ainsi qu'un lien vers les centres de référence et les associations.

Les spécificités et les limites des tests génétiques

Les tests génétiques : prédire, prévenir ou détecter une maladie génétique

Un test génétique consiste en l'analyse des caractéristiques génétiques d'une personne et permet d'identifier une anomalie (mutation, délétion, anomalie chromosomique) pouvant être à l'origine d'une maladie ou pouvant être un facteur favorisant cette maladie s'il est associé à d'autres facteurs (génétiques, environnementaux...). L'information résultant de ces tests permet de confirmer le diagnostic d'une maladie génétique chez une personne qui en présente les symptômes.

Elle peut aussi avoir un rôle prédictif en renseignant sur les risques de développer une maladie.

L'intérêt d'identifier les maladies génétiques est de pouvoir prendre en charge la personne de manière optimale, éventuellement de lui proposer des mesures de prévention ou de soin. De plus, la connaissance du caractère génétique d'une maladie permet d'envisager sa dimension familiale et donc sa transmission dans la famille, notamment à ses descendants.

Selon les cas, les résultats des tests génétiques peuvent permettre d'adapter les traitements à la maladie identifiée, de prendre des mesures préventives permettant de limiter les symptômes ou de prévenir l'apparition de la maladie, à travers notamment une surveillance régulière de l'apparition des symptômes.

Un test génétique consiste à analyser du matériel génétique (en général chromosome ou ADN) afin d'identifier une éventuelle anomalie génétique. Ce type d'analyse ne nécessite qu'un petit échantillon de matériel biologique (sang, quelques cellules obtenues en frottant l'intérieur de la joue, etc). En France, il est encadré par la loi et doit faire l'objet d'une information préalable et d'un consentement écrit donné par le patient avant d'être prescrit. Ce type de test ne peut être prescrit, en France, que par un médecin (article L. 1131-1-2 du code de la santé publique) lors d'une consultation médicale individuelle (article R. 1131-5 du code de la santé publique).

Les difficultés et les limites d'un test génétique :

Comme tout test biologique, les tests génétiques doivent répondre à des critères scientifiques corrects pour assurer leur fiabilité. Très peu de matériel biologique est nécessaire pour réaliser un test génétique. La difficulté réside dans la qualité et de la fiabilité des tests proposés et, plus encore, dans l'analyse des résultats.

Par exemple, même si une mutation liée à une maladie est identifiée, il est parfois impossible de prédire à quel moment et avec quelle gravité cette maladie va se manifester. Pour une même mutation, certaines personnes présenteront des signes bénins, alors que d'autres souffriront de graves troubles. Dans le cas de mutations liées à des maladies multifactorielles, la maladie peut ne jamais se développer. Par ailleurs, il est nécessaire d'avoir des informations sur les anomalies génétiques liées à cette maladie (gène, chromosome) pour chercher une mutation. Or, l'état actuel des connaissances génétiques ne nous permet pas toujours de chercher au bon endroit.

A l'inverse, la présence d'une mutation responsable d'une maladie multifactorielle n'est pas toujours suffisante pour que la maladie se développe. Dans certaines situations, on est amené à ne donner qu'une simple probabilité d'apparition de celle-ci. Le résultat positif d'un test ne signifie pas nécessairement que la personne tombera malade.

Les problèmes psychologiques face aux résultats :

Les résultats d'un test génétique peuvent profondément affecter la vie de la personne concernée et celle de sa famille. Savoir que l'on est porteur d'une maladie génétique peut entraîner des troubles psychologiques. Cela peut influencer la décision d'avoir des enfants. Des parents peuvent se sentir coupables d'avoir transmis une anomalie génétique à leurs enfants. Savoir que l'on n'est pas porteur d'une maladie génétique peut être un soulagement. Toutefois, pour certaines personnes, cela peut au contraire générer un sentiment de culpabilité si d'autres membres de leur famille sont porteurs de l'anomalie génétique. C'est pourquoi l'encadrement médical et le conseil génétique sont essentiels dans la prise en charge du patient.

Un encadrement médical adapté :

Le personnel médical doit informer la personne des risques et bénéfices potentiels du test génétique.

En particulier lorsque les implications peuvent être importantes comme pour les tests prédictifs, un conseil génétique doit être proposé. Tous les renseignements doivent être traités de façon confidentielle. Le médecin doit respecter le secret médical, base de la confiance de son patient. Le personnel de santé doit être formé à la problématique des tests génétiques, y compris les aspects éthiques.

L'encadrement médical est essentiel, ce qui n'est pas le cas sur Internet :

Un test génétique sur Internet est un test sans encadrement médical individualisé, l'accès à des tests génétiques pose un certain nombre de problèmes et notamment :

- l'inadaptation du test génétique ;
- le manque d'information appropriée de la personne ;
- l'absence de prise en compte de la situation individuelle de la personne ;
- le problème de la qualité de l'accompagnement et notamment du conseil génétique qui peut lui être délivré.

Les missions de l'Agence de la biomédecine en génétique constitutionnelle

L'Agence de la biomédecine travaille avec les autorités sanitaires pour faire en sorte que tous les malades confrontés en France à une maladie génétique aient accès, où qu'ils résident, aux ressources que propose la génétique médicale : diagnostic des maladies et prise en charge des malades.

Les analyses de génétique dans le cadre de la génétique constitutionnelle :

Le domaine des tests de génétique est large et les missions de l'Agence de la biomédecine ne concernent que la génétique constitutionnelle, qui étudie le patrimoine génétique d'une personne (héréditaire), excluant la génétique somatique, qui étudie le patrimoine génétique d'une tumeur (non héréditaire). Les caractéristiques génétiques constitutionnelles ont la particularité d'être définitives et les résultats des tests ont des conséquences non seulement pour la personne testée mais souvent aussi pour sa famille.

D'un point de vue technique, les analyses de génétique sont actuellement classées en deux grandes spécialités (avec des autorisations et des agréments séparés) : la génétique moléculaire (étude de la molécule d'ADN) et la cytogénétique (étude des chromosomes). La frontière est de plus en plus perméable car de nombreuses analyses sont utilisées par les deux types de laboratoires, comme par exemple : les puces à ADN.

La génétique constitutionnelle intervient dans trois situations différentes : pour confirmer le diagnostic de maladies génétiques (géniques, chromosomiques) y compris chez un sujet à risque avant que n'apparaissent les premiers symptômes, pour identifier des facteurs de risque génétique ayant un impact soit sur la santé soit sur la prise en charge thérapeutique de la personne (pharmacogénétique) et pour détecter des porteurs sains dans le cadre du conseil génétique sur les risques de transmission à la descendance.

En France, les examens génétiques ne peuvent être prescrits et réalisés que dans l'intérêt d'une personne. Ils doivent faire l'objet d'une explication préalable lors d'une consultation dédiée et d'un consentement écrit du sujet.

Autorisation et formation des praticiens, évaluation des pratiques et des résultats, participation à la structuration de l'activité de génétique sur le territoire :

L'Agence de la biomédecine délivre les agréments des praticiens pour les activités de génétique postnatale. Elle donne aussi son avis sur les autorisations données par les ARS aux laboratoires réalisant des examens génétiques.

Elle évalue les pratiques et les résultats des techniques en recueillant et analysant les données des centres et laboratoires. Elle est ainsi en mesure d'établir chaque année un rapport des activités de diagnostic génétique.

Elle élabore avec les professionnels les recommandations de bonnes pratiques.

Elle a été particulièrement sollicitée pour la génétique postnatale en raison de la préparation des schémas régionaux d'organisation des soins (SROS) en génétique dans le cadre des programmes régionaux de santé (PRS) de la génétique.

Elle établit un état des lieux de l'offre de soins et de la prise en charge des maladies génétiques en France ; à cet effet, elle a développé une collaboration avec le registre Orphanet de l'Inserm, serveur d'informations sur les maladies rares.

Elle apporte également son expertise technique en génétique dans des groupes de travail externes tels que ceux de l'INCa, de la HAS ou du ministère de la Santé. L'Agence est aussi partie prenante dans le suivi du nouveau Plan national Maladies rares 2011-2014 : présente dans le comité de suivi, elle participe activement, sur le terrain, à certains groupes de travail qui exploitent les chiffres de son rapport annuel d'activité.

L'Agence de la biomédecine forme les professionnels, en particulier au management de la qualité dans les laboratoires de génétique moléculaire et cytogénétique.

Elle apporte aux ARS, à leur demande, un soutien en termes de formation et d'évaluation.

La génétique postnatale pendant les Journées de l'Agence

La génétique postnatale est présente aux 3^{èmes} Journées à travers plusieurs sessions, dont certaines portent sur :

- Le développement des connaissances sur les maladies rares en lien avec la possibilité de don d'organes (et de tissus),
- La greffe de cellules souches hématopoïétiques pour le traitement de certaines maladies génétiques.

La compatibilité du don d'organes avec certaines maladies génétiques :

Dans le cas de la greffe d'organes associée à une maladie rare, il s'agit de calculer s'il est préférable pour le patient de ne pas avoir de greffe du tout plutôt que de bénéficier d'un greffon issu d'une personne ayant une maladie rare.

La possibilité pour une personne atteinte de maladie rare d'être donneur d'organes est encore peu connue. En France, on dit qu'une maladie est rare si moins de 30 000 personnes en sont atteintes. Les maladies rares ont pour la plupart une origine génétique. Par exemple, la mucoviscidose, l'hémophilie et la trisomie 18 sont des maladies rares. A ce jour, il y a plus de 6 000 maladies rares identifiées touchant près de 4 millions de personnes en France. Pour aider la recherche et améliorer la prise en charge des patients, un 2^{ème} Plan national Maladies rares (PNMR) a été mis en place pour 2011-2014.

Pour la première fois en France, en 2012, l'activité de greffe d'organes franchit le seuil des 5 000 greffes. C'est une nouvelle encourageante pour les malades qui, comme chaque année, sont toujours plus nombreux sur la liste nationale d'attente. En 2012, plus de 17 000 malades ont eu besoin d'une greffe d'organes. Certains parmi les receveurs étaient atteints d'une maladie rare amenant à la greffe.

Entre autres services, le site d'informations tout public « Orphanet » propose une encyclopédie en ligne écrite par des experts européens, qui contient notamment des fiches « urgences » dans lesquelles une information sur les possibilités de prélèvement d'organes est possible ou non en fonction de la maladie. Pour la rédaction de ces fiches, une étroite collaboration entre l'Inserm, les centres de référence des maladies et l'Agence de la biomédecine est nécessaire. Cette dernière apporte son expertise sur l'évaluation du bénéfice-risque.

Le principe dans le domaine de la greffe d'organes est celui du bénéfice-risque pour le receveur : le bénéfice de la greffe est largement connue, le risque premier pour le receveur est vital, c'est celui de décéder sur liste d'attente faute de greffons. Il s'agit pour chaque situation d'évaluer si le risque pressenti lors de l'évaluation du donneur, pour un greffon donné destiné à un receveur donné est acceptable (soit parce qu'il est standard, soit calculé, soit parce que l'état du receveur le nécessite) ou non.

La greffe de CSH pour le traitement de certaines maladies génétiques :

Certaines maladies génétiques touchent de façon plus particulière la moelle osseuse à l'origine des éléments du sang et sont responsables de pathologies graves, pour lesquelles l'indication de greffe de CSH peut être posée.

Ces maladies ont pour origine un déficit quantitatif, par absence de fabrication d'une lignée cellulaire (exemple : les déficits immunitaires sévères) ou bien un déficit qualitatif (exemple : anomalies de l'hémoglobine, telles que la drépanocytose).

D'autres maladies génétiques, plus complexes, peuvent avoir un impact sur la production des CSH et peuvent elles aussi bénéficier à un moment de leur évolution d'une indication de greffe de CSH (exemple : désordres métaboliques constitutionnels, tels que l'adréno-leucodystrophie).

Les cellules souches embryonnaires humaines, l'embryon humain et la recherche : de quoi s'agit-il ?

La recherche sur les cellules souches embryonnaires et sur l'embryon :

Actuellement, la recherche porte essentiellement sur les cellules obtenues à partir d'embryons, cellules que l'on appelle « cellules souches embryonnaires ». Deux projets de recherche portent directement sur l'étude de l'embryon humain.

La rencontre d'un spermatozoïde et d'un ovule aboutit à un embryon. Des embryons sont obtenus « in vitro », c'est-à-dire dans une éprouvette en verre, pour des couples infertiles, dans le cadre d'une assistance médicale à la procréation. Tous les embryons obtenus ne peuvent être placés en même temps dans l'utérus de la femme pour conduire à une grossesse. Certains sont alors congelés et conservés pour une autre tentative de transfert en cas d'échec de l'implantation précédente. Ils sont qualifiés de « surnuméraires ».

Lorsque le couple n'a plus de projet parental, il peut donner son accord pour que les embryons ainsi conservés fassent l'objet d'une recherche. Ces embryons sont congelés et conservés à un stade très précoce de leur développement. La recherche sur l'embryon comme le prélèvement de cellules souches embryonnaires pour la recherche impliquent la décongélation de l'embryon puis sa destruction.

Les cellules souches embryonnaires humaines sont obtenues à partir des embryons surnuméraires donnés à la recherche. Elles sont mises en culture pour obtenir des lignées. Elles présentent la particularité d'être pluripotentes c'est-à-dire de pouvoir se transformer en tout type de cellules du corps humain (peau, cerveau, cœur,...). Leur étude peut donc aider à comprendre les mécanismes qui commandent ces transformations. La recherche sur ces cellules ouvre également des pistes pour le traitement de certaines maladies graves. La perspective d'une « médecine régénérative » est parfois évoquée.

Les cellules souches et les cellules différenciées :

Les cellules souches se distinguent des cellules différenciées qui sont des cellules spécialisées dans une fonction tissulaire précise. Il existe deux grandes catégories de cellules souches : les cellules souches embryonnaires et les cellules souches adultes.

Comme indiqué précédemment, les cellules souches embryonnaires présentent la particularité d'être pluripotentes c'est-à-dire de pouvoir se transformer en tout type de cellules du corps humain (peau, cerveau, cœur,...).

Parmi les cellules souches adultes, il existe :

- des cellules souches multipotentes qui peuvent donner naissance à plusieurs types de cellules et qui sont déjà engagées dans un programme tissulaire spécifique ;
- des cellules souches unipotentes qui ne peuvent former qu'un seul type de cellules différenciées.

Enfin, les progrès de la science ont récemment permis d'obtenir des cellules pluripotentes induites (dites IPS). Elles sont obtenues à partir de **cellules humaines différenciées adultes** « reprogrammées » pour retrouver des capacités comparables à celles des cellules souches embryonnaires (cellules pluripotentes).

Les potentialités thérapeutiques des cellules souches adultes font aujourd'hui l'objet de recherches. Certaines de ces cellules souches adultes sont d'ores et déjà utilisées dans la pratique quotidienne des soins (exemple : la greffe de cellules souches hématopoïétiques utilise des cellules souches hématopoïétiques issues de la moelle osseuse pour le traitement de certaines maladies graves du sang).

La recherche sur l'embryon et les cellules souches embryonnaires humaines (CSEh) : missions de l'Agence de la biomédecine

L'Agence de la biomédecine autorise les travaux de recherche sur les cellules souches embryonnaires humaines et l'embryon humain.

La recherche sur l'embryon est interdite en France mais autorisée à titre dérogatoire. L'Agence de la biomédecine est chargée de délivrer ces autorisations. Ce dispositif permet aux chercheurs de créer et de travailler sur des lignées de cellules souches embryonnaires humaines issues d'embryons surnuméraires conçus *in vitro* dans le cadre d'une assistance médicale à la procréation sur le territoire français et sur des lignées de cellules importées de pays étrangers et créées dans les mêmes conditions.

L'Agence de la biomédecine a également pour mission d'assurer aux autorités comme à tout citoyen que les recherches sur l'embryon humain et sur les cellules qui en dérivent sont effectuées avec toutes les garanties d'éthique, de sécurité, de qualité et de transparence requises, dans le strict respect de la loi de bioéthique. Elle évalue la pertinence scientifique des protocoles de recherches en fonction des connaissances scientifiques et les conditions de leur mise en œuvre. En pratique, elle intervient à la fois dans l'autorisation, la traçabilité, le contrôle et le suivi des recherches. L'Agence de la biomédecine a établi un bilan de ces recherches, disponible dans son rapport annuel 2011 (http://www.agence-biomedecine.fr/IMG/pdf/ra_biomed_2011_bd_web.pdf), pages 91 à 98.

L'autorisation des protocoles de recherche :

L'Agence de la biomédecine examine et autorise les protocoles de recherche proposés par les équipes scientifiques françaises. Elle autorise également les importations, les exportations et la conservation de cellules souches embryonnaires humaines, activités subordonnées à la recherche sur les CSEh.

La prise en compte des enjeux scientifiques et éthiques des travaux sur l'embryon et les cellules souches embryonnaires humaines est au cœur des missions de l'Agence de la biomédecine. Pour mener à bien cette mission, l'Agence de la biomédecine s'appuie sur une instance originale dans le paysage français des agences de santé : le conseil d'orientation.

Réunissant experts scientifiques et médicaux, experts en sciences humaines, représentants d'associations, parlementaires et représentants de diverses institutions, le conseil d'orientation veille à la cohérence de la politique médicale et scientifique de l'Agence, ainsi qu'au respect des principes réglementaires et éthiques applicables à ses activités. En l'espèce, il examine chaque projet de recherche ou d'étude sur l'embryon et les cellules embryonnaires et donne un avis préalable à la décision d'autorisation, en s'appuyant sur le rapport d'un collège d'experts scientifiques.

Les étapes d'attribution des autorisations :

Tout **dossier de demande d'autorisation** pour un protocole de recherche doit être adressé à la **directrice générale de l'Agence de la biomédecine**, au cours de périodes fixées par l'Agence.

- Chaque dossier est examiné par un collège d'**experts scientifiques**, composé de chercheurs, qui examine la pertinence scientifique des projets soumis. L'Agence peut faire, le cas échéant, appel à des experts scientifiques extérieurs au collège.
- Le rapport de ces experts scientifiques est transmis au **conseil d'orientation** de l'Agence, qui délivre un avis.
- **La directrice générale prend alors la décision.**
- Cette décision, accompagnée de l'avis du conseil d'orientation, est communiquée aux **ministres chargés de la santé et de la recherche**. En cas de décision négative, les ministres de la santé et de la recherche peuvent éventuellement demander un nouvel examen du protocole par l'Agence. En cas de décision positive, les ministres peuvent interdire ou suspendre la réalisation de ce protocole lorsque sa pertinence scientifique n'est pas établie ou lorsque le respect des principes éthiques n'est pas assuré.

La traçabilité des recherches :

L'Agence garantit l'identification et la traçabilité des embryons humains utilisés pour les recherches, ainsi que des lignées de cellules souches embryonnaires créées à partir de ces embryons, ou bien importées de l'étranger.

L'Agence tient un registre national des embryons et des cellules embryonnaires humaines. Les informations sont transmises par les organismes autorisés à importer ou créer de telles lignées. Ces organismes doivent également tenir un registre du matériel biologique détenu. Les systèmes d'identification assurent la traçabilité des embryons et des cellules qui en sont dérivées, tout en garantissant l'anonymat des personnes à l'origine des embryons.

Le contrôle des recherches :

L'Agence a également une mission de contrôle et peut diligenter des inspections. Si le cadre de l'autorisation n'est pas respecté ou s'il y a violation de principes législatifs ou réglementaires, la recherche peut être suspendue à tout moment pour une durée maximale de trois mois par la directrice générale de l'Agence, qui en informe le conseil d'orientation. L'autorisation peut également être retirée après avis du conseil d'orientation. Avant toute décision de suspension ou de retrait d'autorisation, le titulaire de l'autorisation est mis en demeure de mettre fin à ses manquements ou de présenter ses observations dans un délai imparti par la directrice générale.

Le suivi des protocoles de recherche :

Chaque équipe autorisée pour une recherche doit transmettre à l'Agence un bilan annuel de ses travaux. Ces bilans sont examinés par l'Agence.

Une fois le protocole autorisé, la personne responsable de la recherche adresse à l'Agence un rapport annuel sur l'avancement des travaux, puis un rapport final au terme de l'autorisation. Si le protocole fait l'objet de modifications en cours de recherche, l'équipe de recherche doit les soumettre à l'Agence de la biomédecine. Elle les examine alors selon le même processus que la demande initiale.

La mission d'inspection de l'Agence :

La mission d'inspection de l'Agence de la biomédecine instruit systématiquement tous les dossiers de demande d'autorisation ou de renouvellement d'autorisation des projets de recherche sur l'embryon ou les CSEh quant aux conditions matérielles et techniques et remet un rapport au conseil d'orientation.

Tous les projets de recherche qui font l'objet d'une première autorisation sont inspectés dans l'année qui suit le démarrage de la recherche et tous les projets sollicitant un renouvellement d'autorisation sont inspectés dans le cadre de l'instruction du dossier de renouvellement. De leur côté, les équipes de recherche sont tenues de remettre annuellement à l'Agence un rapport rendant compte de l'état d'avancement de leur projet, ainsi qu'un rapport final.

Pour assurer l'expertise scientifique des contrôles, le médecin inspecteur est accompagné d'un expert Inserm dans le domaine de la recherche sur les cellules souches embryonnaires. L'expert fait avec les chercheurs, l'état d'avancement de la recherche, vérifie les publications et donc la conformité du projet à l'autorisation. Le médecin inspecteur vérifie toutes les autres conditions, sur place dans les locaux et sur pièce dans les registres et documents réglementaires.

La conservation, l'importation et l'exportation des CSEh :

- **La conservation :**

Pour mener à bien une activité de recherche, il est nécessaire d'avoir accès aux lignées de cellules souches embryonnaires humaines adéquates et de pouvoir les conserver in situ ou bien chez un organisme partenaire avec qui une convention de conservation est établie.

Ces activités sont également placées sous le contrôle de l'Agence de la biomédecine, qui assure donc à la fois l'encadrement des recherches sur l'embryon humain et les cellules embryonnaires et des activités subordonnées à ces travaux.

- **L'importation et l'exportation :**

Tout organisme souhaitant importer des tissus ou des cellules embryonnaires ou fœtaux doit également bénéficier d'une autorisation de recherche ou de conservation. Il doit par ailleurs s'assurer qu'ils ont été obtenus dans le respect des principes éthiques inscrits dans la loi (consentement du couple parental, absence de rémunération...). L'Agence délivre également des autorisations d'exportation de ces tissus et cellules.

L'importation ou l'exportation autorisée par l'Agence de la biomédecine, après avis du conseil d'orientation, doit être effectuée dans les 12 mois qui suivent la décision de l'Agence.

Quelques chiffres concernant les autorisations délivrées depuis 2004 en France

Nombre d'autorisations, de refus, de renouvellements et de retraits de protocoles de recherche :

En 2012, l'Agence de la biomédecine a autorisé 4 nouveaux protocoles de recherche et rendu 3 mesures de retrait d'autorisations précédemment délivrées. 5 demandes de renouvellement ont été accordées. 3 demandes ont par ailleurs été refusées.

Au 31 décembre 2012, 215 décisions avaient été rendues, dont **190** autorisations :

- 76 concernent des protocoles de recherche (64 protocoles autorisés et 12 modifications substantielles),
- 28 pour la conservation de cellules souches embryonnaires,
- 49 pour l'importation de lignées de cellules souches embryonnaires.

En outre : 35 renouvellements d'autorisation (24 de protocoles de recherche et 11 de conservation) ont été accordés pour permettre aux équipes de terminer leurs recherches et 2 autorisations de prorogation délivrées pour les recherches dont le démarrage avait été différé par rapport à la date d'autorisation. 12 demandes ont été refusées et 13 protocoles de recherche ont été retirés.

	Décisions / arrêtés	Autorisations	Refus	Retraits	Protocoles de recherche	Conservation	Importation
1 ^{er} sept. 2004 → 6 fév. 2006 ⁽¹⁾	44	40	4	-	17 autorisations	9	14
6 fév. 2006 → fin 2011	148	133	5	4	43 autorisations + 11 modifications substantielles + 19 renouvellements + 2 prorogations	15 +11 renvltts	32
2012	23	17	3	3	4 autorisations + 1 modification substantielle + 5 renouvellements	4	3
Total	215 dont 171 Agence	190 dont 150 Agence	12	13	64 protocoles (dont 12 sur l'embryon) + 12 modifications substantielles + 24 renouvellements + 2 prorogations	28 autorisations +11 renvltts	49 autorisations

(1) dispositif transitoire reposant sur un comité ad hoc (compétence des ministres chargés de la santé et de la recherche)

L'origine des embryons et des lignées de cellules souches embryonnaires humaines (CSEh) :

Les projets de recherche utilisent des embryons, soit pour une recherche portant sur le développement de l'embryon, soit pour dériver des lignées de CSEh.

Au 31 décembre 2010, 17 179 embryons, issus de 4 854 couples, étaient dépourvus de projet parental et avaient fait l'objet d'un consentement à leur utilisation en recherche.

Sur les 51 protocoles de recherche autorisés de 2004 à juin 2010, menés par 36 équipes de recherche :

- 11 protocoles ont utilisé 1 087 embryons – dont 243 pour la recherche sur le développement embryonnaire et 844 pour dériver 28 lignées de CSEh,
- 40 protocoles ont utilisé des lignées de CSEh importées.

En 2012, les 49 embryons utilisés par la recherche l'ont tous été dans le cadre de projets portant uniquement sur le développement de l'embryon.

Les autorisations de protocoles et les équipes de recherche en 2012 :

Au 31 décembre 2012, 34 équipes menaient une recherche sur les cellules souches embryonnaires humaines (CSEh) ou l'embryon, la quasi-totalité de ces équipes bénéficiant d'une autorisation de recherche antérieure à 2012.

Seuls 4 nouveaux protocoles de recherche ont été autorisés en 2012, dont l'un concerne une activité de sécurisation sanitaire des cellules, dans le cadre d'essais cliniques envisagés.

Ce chiffre relativement faible se distingue des années précédentes (si l'on exclut 2011, au cours de laquelle l'Agence n'avait pu ouvrir une fenêtre de dépôt de demandes d'autorisation qu'en septembre, après le vote de la nouvelle loi). Le nombre d'équipes en activité est donc stable et correspond, compte tenu de la haute technicité nécessaire, aux équipes susceptibles de développer une recherche sur les CSEh ou l'embryon en France à l'heure actuelle.

Par ailleurs, ces nouveaux protocoles sont généralement soumis par des équipes intégrées au sein de centres de recherche comprenant déjà d'autres équipes autorisées. Par exemple, 2 des nouveaux protocoles de recherche autorisés en 2012 seront développés au sein de I-Stem (Evry), institut dont l'activité est dédiée à la recherche sur les cellules souches pluripotentes humaines.

Bilan de 5 années de recherche en France

L'évolution de la recherche depuis 7 ans :

Les premières autorisations de recherche sur les CSEh et les embryons ont été délivrées en 2005, et beaucoup ont été renouvelées en 2010-2012. On peut donc faire un premier bilan fin 2012 des résultats obtenus. Au 31 décembre 2012, trente-quatre équipes ont des programmes en cours utilisant des CSEh ou des embryons. Ces derniers ont tous une finalité médicale, à plus ou moins longue échéance. Douze équipes ont également été autorisées entre 2005 et 2012, mais leur projet est arrivé à échéance ou a été abandonné.

La diversité de ces programmes de recherche reflète ce qui se fait dans les autres laboratoires internationaux. Elle associe des recherches rapidement transposables dans le domaine médical, et d'autres plus fondamentales, mais indispensables aux progrès médicaux futurs.

Les recherches sur l'embryon et les CSEh imposent des contraintes techniques très importantes, nécessitant des moyens très significatifs, qui ne peuvent être mis en jeu que dans une perspective de long terme. Ces contraintes expliquent aussi que les recherches soient réalisées dans des équipes conséquentes, bénéficiant de plateformes et d'infrastructures, le plus souvent dans des centres de recherche.

Il est intéressant d'analyser l'évolution des projets : s'ils étaient initialement déposés uniquement par des équipes purement scientifiques, à ces projets fondamentaux s'associent aujourd'hui des équipes de recherche clinique – chargées de la culture des dérivés des CSEh de grade clinique - et des sociétés responsables du contrôle sanitaire des lignées qui seront utilisées dans les essais cliniques. Cela témoigne que l'objectif thérapeutique des projets initiaux est en train d'aboutir concrètement.

Enfin, la France, comme tous les autres pays, n'est pas à l'écart de la recherche utilisant les iPS ; beaucoup des grosses équipes ayant investi dans des recherches sur les CSEh travaillent en parallèle sur des cellules de type iPS, mais pour toutes (et c'est un consensus international), mener des recherches sur ces deux types de cellules en parallèle est indispensable pour décrypter leurs intérêts et différences respectifs, et surtout, à terme, définir pour chaque indication médicale, le meilleur choix de produits de thérapie cellulaire adaptés, la diversité étant ici certainement le meilleur gage de soins efficaces.

- L'état des lieux complet de la recherche en France est disponible dans le rapport annuel 2011 de l'Agence : <http://www.agence-biomedecine.fr/L-Agence> (Rubrique En 1 clic)

La plupart des équipes actives effectue des recherches utilisant des lignées de CSEh :

Celles-ci sont, le plus souvent, des lignées importées (et souvent des lignées dérivées il y a plus de dix ans et utilisées dans de multiples laboratoires dans le monde).

Beaucoup d'équipes se focalisent sur la **production de cellules thérapeutiques normales**, c'est-à-dire de cellules visant à restaurer les fonctions d'un organe ou d'un tissu défaillant. Dans les domaines cardiovasculaire, dermatologique, hématologique et ophtalmologique, elles espèrent aboutir au développement d'un protocole clinique dans des maladies déjà identifiées. Cet objectif est plus lointain pour d'autres programmes très compétitifs au niveau international et qui concernent la différenciation de CSEh en neurones, hépatocytes (cellules du foie), progéniteurs hématopoïétiques, progéniteurs vasculaires, ou encore muscle squelettique, mais les obstacles à franchir sont importants.

Une seconde finalité médicale, en amont de la précédente, consiste à **comprendre les mécanismes sous-jacents à une pathologie**. C'est un prérequis pour améliorer la détection de cette dernière (par exemple : trouver des biomarqueurs) et proposer ensuite des stratégies thérapeutiques appropriées (par exemple : tester des molécules qui rectifient le dysfonctionnement des cellules). C'est le cas de la maladie de Steinert, des maladies à prion, d'une forme grave d'épilepsie, ou encore d'anomalies du développement neurologique.

Pour utiliser les CSEh dans des protocoles cliniques ou de modélisation de maladies, il est essentiel d'assurer leur **qualité** : c'est-à-dire définir les protocoles de culture qui permettent d'optimiser leurs propriétés, de minimiser les anomalies éventuelles, analyser leur stabilité génétique, standardiser les protocoles de différenciation pour en assurer la reproductibilité. Cela demande de gros efforts de recherche, consentis par quelques équipes autorisées.

La dérivation de nouvelles lignées de CSEh :

Les embryons à l'origine des lignées dérivées sont issus de l'assistance médicale à la procréation (AMP) : soit ils résultent d'une FIV (le couple a choisi de donner les embryons surnuméraires à la recherche), soit ils ne pouvaient pas être transférés dans l'utérus parce que porteurs d'une mutation après un diagnostic préimplantatoire.

Quatre équipes ont dérivé 28 lignées de CSEh. Les lignées issues d'embryons porteurs d'une pathologie génétique pourront servir de modèles pour étudier la physiopathologie de maladies humaines graves. Certaines sont utilisées dans les projets des équipes nationales. Aucune n'ont été exportées à ce jour mais des demandes sont en cours. Toutes ces lignées sont inscrites sur le registre de l'Agence de la biomédecine.

La recherche sur les embryons :

Deux équipes développent actuellement des recherches non pas sur les lignées de CSEh mais sur les embryons. Ces projets cherchent à comprendre certains aspects du développement très précoce de l'embryon, ce qui peut avoir un impact médical en expliquant certains aspects de pathologies congénitales humaines.

Annexe 1 : Extrait du Rapport annuel 2011 de l'Agence de la biomédecine (p91-98): « Bilan de 5 années de recherche sur les CSEh en France : principaux résultats et perspectives

En 2011, 36 équipes ont un projet en cours utilisant des cellules souches embryonnaires humaines (CSEh) et certaines d'entre elles ont plusieurs autorisations (une même équipe doit demander une autorisation pour chaque nouveau protocole projeté). Douze équipes sont hors Île-de-France, dont 5 à Montpellier. La taille de ces unités est très variable : parmi ces unités, l'institut I-Stem (Evry) représente une exception par sa taille (environ 80 personnes) et parce que l'ensemble des programmes de cet institut est consacré entièrement à des recherches utilisant des cellules souches pluripotentes. C'est aussi le cas de l'Unité 935 (Villejuif) à une plus petite échelle. La taille des autres équipes est plus réduite (moins de 10 personnes, 1 à 2 statutaires) et sont pour la plupart insérées dans des unités Inserm/CNRS/universités qui mènent parallèlement d'autres programmes de recherche. Neuf équipes ne dépendent pas de l'Inserm (4 CNRS, 1 équipe Pasteur, 3 CHU, 1 structure privée).

L'état des lieux des équipes et protocoles engagés en France appelle deux remarques.

- 50 protocoles concernant les CSEh ont été autorisés depuis 2004 : cela indique que s'engager dans ces projets est un investissement lourd en termes financiers ou humains et que les premiers résultats ne peuvent pas être escomptés à court terme (plusieurs années en général). Compte tenu de cet investissement et pour ne pas compromettre les résultats, il est important qu'une stabilité réglementaire ait été assurée par la nouvelle loi de bioéthique et que leur légitimité ne soit pas remise en question.
- Le nombre de nouvelles équipes se lançant sur la thématique est faible, en France mais aussi à l'étranger. Les causes sont diverses et parfois difficiles à déterminer. L'existence de l'alternative des iPS, pour certains types de projets, joue probablement un rôle. La nécessité d'une maîtrise des techniques liées à la manipulation des CSEh et des embryons humains restreint aussi le nombre des équipes potentielles, qui sont déjà toutes engagées sur la thématique.

Principales réalisations depuis 2005

Dans la plupart des cas, les programmes impliquant l'utilisation d'embryons humains ou de CSEh sont difficiles, ils engagent à long terme des moyens humains et financiers importants et n'aboutissant à des résultats significatifs qu'après plusieurs années. Sept ans après l'autorisation des premiers protocoles de recherche, on peut tenter de dresser un bilan des principales réalisations et formuler quelques conclusions sur l'évolution de ce secteur en France.

L'évolution des recherches en France est similaire à ce que l'on observe dans d'autres pays : on voit actuellement se mettre en place des projets précliniques (au nombre de trois pour l'instant) qui regroupent autour de l'équipe fondamentale initiale des équipes que l'on peut qualifier de « support » dont l'objectif est avant tout de mettre au point les conditions d'obtention d'un produit cellulaire répondant aux normes cliniques et d'assurer la sécurisation du produit (microbiologie et analyse génomique), en étroite collaboration avec l'équipe fondamentale. Les projets qui ont pour objectif une application de thérapie cellulaire font écho aux essais cliniques qui viennent de démarrer aux États-Unis et au Royaume-Uni (voir ci-dessus). En France, deux protocoles, concernant l'insuffisance cardiaque post-ischémique d'une part et les ulcères chroniques de la drépanocytose d'autre part, font déjà l'objet de discussions avec l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (l'ANSM s'est substituée à l'Afssaps le 1er mai 2012) dans la perspective d'une autorisation d'essai clinique de thérapie cellulaire. Seuls les travaux suffisamment avancés pour avoir donné lieu à des publications sont mentionnés dans le présent rapport (mars 2012).

1. Des cellules souches embryonnaires pluripotentes aux précurseurs différenciés : source de cellules thérapeutiques

La plupart des protocoles qui concernent la différenciation de CSEh en précurseurs différenciés tissulaires, sont développés par des équipes qui étaient déjà impliquées dans le domaine de recherche concerné, mais utilisaient des CSE murines et/ou des cellules souches fœtales/adultes. Nous détaillerons 5 exemples de ces recherches en soulignant l'apport qu'a constitué l'accès aux CSEh, les difficultés rencontrées, en montrant comment elles ont enrichi nos connaissances et quelles sont les perspectives, éventuellement médicales, de ces travaux. De nombreuses autres équipes, que nous ne pouvons pas toutes citer, ont également obtenu des résultats intéressants. Tous ces projets ont un objectif plus ou moins lointain d'application médicale. Pour tous également (sauf peut-être pour les cellules souches hématopoïétiques, qui se distinguent par leur fonctionnement unique) la justification de l'utilisation de CSEh vient de l'absence de sources de cellules souches humaines facilement accessibles et efficaces. Les exemples que nous détaillons illustrent bien les difficultés auxquelles se sont heurtées les équipes, principalement de trois ordres :

- la nécessité d'une connaissance approfondie de l'ontogenèse du tissu concerné, afin de reproduire in vitro la restriction progressive des cellules dans une seule voie de différenciation à partir d'un feuillet embryonnaire aux multiples potentialités ;
- l'obtention de cellules spécialisées fonctionnelles de type adulte. Pour chacun de ces projets en effet, le défi est de reconstruire des cellules intactes dans leur complexité et donc susceptibles de fonctionner in vivo chez un adulte, ce qui implique une connaissance approfondie du tissu concerné et le choix de la lignée adéquate, imposant l'essai de multiples lignées ;
- l'évaluation préclinique de l'efficacité de ces cellules in vivo, les modèles animaux étant très contraignants et ne reflétant que très imparfaitement la physiologie humaine.

1a. Production de cardiomyocytes (M. Pucéat, P. Ménasché, J. Larghero)

Ce projet, dont les premières autorisations remontent à 2005, comprend deux volets :

- un aspect de compréhension des mécanismes de différenciation menant finalement aux progéniteurs cardiaques, puis aux cardiomyocytes, cellules musculaires du cœur;
- un but de recherche clinique visant à utiliser des précurseurs myogéniques obtenus à partir de CSEh pour le traitement de certaines insuffisances cardiaques.

Ces deux volets sont étroitement imbriqués et se nourrissent mutuellement.

Dans la perspective clinique, le projet a dès le début inclus des structures d'accompagnement visant à satisfaire les contraintes particulières à une application clinique : une unité de thérapie cellulaire assurant la production d'un produit thérapeutique de grade clinique (J. Larghero), un laboratoire GMP de la société Mabgène (Alès) et un laboratoire privé de sécurité microbiologique (TexCell).

Les cardiomyocytes ont la particularité d'établir des connexions solides avec leurs voisins et de propager ainsi, via un réseau tridimensionnel complexe, l'excitation qui assure la force de la contractilité du muscle cardiaque. Il est donc essentiel que les cellules produites soient capables de reproduire cette structure tissulaire complexe. Une solide connaissance de l'embryologie a permis à l'équipe de purifier un progéniteur mésodermique et ensuite de l'engager vers la voie cardiogénique, produisant in vitro un progéniteur probablement très proche des progéniteurs cardiogéniques embryonnaires humains normaux. Ce progéniteur est multipotent et produit, outre des cardiomyocytes, des précurseurs vasculaires, cellules endothéliales et musculaires lisses. Dans une perspective clinique, il peut être purifié grâce à l'identification d'un marqueur, réduisant les risques de contamination par des cellules CSE indifférenciées potentiellement tumorales. L'efficacité fonctionnelle de ces précurseurs a été testée dans des modèles d'infarctus de rat, de mouton et, plus récemment, chez le singe, dernière étape avant un essai clinique pilote chez un petit nombre de patients souffrant d'insuffisance cardiaque sévère. L'ensemble a été publié dans un journal international de haut niveau (J Clin Invest 2010 ; 120 : 1125-39).

Toujours dans l'optique d'un essai clinique à venir, deux autres paramètres ont été étudiés et ont donné lieu à des résultats publiés : l'immunogénicité des précurseurs cardiaques dérivés de CSEh et les conditions techniques de leur implantation thérapeutique. Contrairement à ce qui avait été initialement envisagé, les cellules myogéniques différenciées à partir des CSEh induisent une réponse immune in vitro et il est probable que cette immunogénicité sera acquise aussi in vivo après transplantation. Mais, cette réponse peut être minimisée d'une part si les cardiomyocytes sont cultivés (et cotransplantés) avec des cellules souches mésenchymateuses adultes dont on connaît le pouvoir immunomodulateur et d'autre part par le relatif déficit immun des patients cardiaques étudiés, ce qui suggère que le traitement immunosuppresseur pourrait être allégé (J Cell Mol Med 2011 ; sous presse Bel A, et al. Circulation 2010 ; 122 : S118-122). Enfin, chez le singe, les cellules mésenchymateuses autologues (tissu adipeux) peuvent être utilement associées aux précurseurs cardiogéniques qui fournissent substrat nutritif et stimulant pro-angiogénique et permettent un greffon

épiscardique efficace. Toutes les étapes précliniques ont donc été franchies, permettant à l'équipe d'envisager un essai clinique chez l'homme.

1b. Production de cellules hépatiques (A. Weber, M.C. Daujat)

Deux équipes travaillent sur la différenciation hépatique de CSEh avec des objectifs quelque peu différents.

L'équipe de A. Weber cherche à obtenir des hépatocytes matures fonctionnels pouvant à terme être utilisés en thérapeutique. Les hépatocytes sont des cellules très complexes, véritables petites usines chargées en particulier de détoxifier et/ou métaboliser médicaments et produits intermédiaires. L'équipe a identifié les conditions permettant de franchir successivement les étapes clés du développement hépatique : différenciation des CSEh en endoderme définitif (Vallier L et al, Stem Cells. 2009 ; 27 : 2655-66 ; PLoS One 2009 ; 4 : e6082), puis intestin antérieur, puis spécification hépatique et enfin différenciation en hépatoblastes, qui sont les progéniteurs communs aux hépatocytes et aux cellules biliaires, et en hépatocytes foetaux (Touboul T et al, Hepatology 2010 ; 51 : 1754-65). La progression d'une étape à une autre est assurée par une combinaison de facteurs de croissance et d'inducteurs et vérifiée par l'analyse des gènes transcrits. Une dernière étape importante (en cours en mars 2012) consiste à démontrer que ces cellules peuvent terminer, in vivo ou in vitro, leur maturation en hépatocytes adultes, ce qui nécessitera probablement la mise en place de cocultures car les hépatocytes fonctionnent in vivo en étroite interaction avec les autres cellules du foie. Mais si cette dernière étape est cruciale pour une utilisation de criblage en pharmacotoxicologie, elle l'est moins pour une application de thérapie cellulaire. On peut penser qu'il serait plus logique de greffer des hépatoblastes qui matureraient in situ de façon plus efficace que in vitro. Les essais de greffe d'hépatoblastes issus de CSEh chez la souris ont conforté cette hypothèse. Ce projet a pris de l'ampleur depuis 2005 puisqu'il s'insère dans deux projets européens (LIV-ES, terminé en 2011, et INNOVALIV, tous deux coordonnés par l'équipe française) et, en France, intègre une nouvelle équipe (A. Corlu). À terme, ce programme devrait déboucher sur la proposition d'un essai clinique dans une pathologie hépatique.

L'équipe de M.C. Daujat-Chavanieu suit une stratégie similaire et a également réussi à différencier des CSEh en hépatocytes immatures (Funakoshi N et al, Stem Cell Rev 2011 ; 7 : 518-31). L'accent a été mis sur l'analyse de la fonction de détoxification du foie et, pour l'analyser, les cellules ES-Hep ont été transduites avec un lentivirus exprimant le xénorecepteur CAR. Plusieurs gènes impliqués dans la détoxification ont été induits dans ces cellules après transduction de CAR, notamment les CYP2B6, 2C9, 3A4, UDP-glycosyltransférase 1A1, SLC21A6, ainsi que la biotransformation de certains substrats spécifiques de ces enzymes.

Outre les publications, deux thèses ont été soutenues avec succès sur ce sujet.

1c. Production de précurseurs kératinocytaires (C. Baldeschi, G. Lemaître, M. Peschanski, B. Dreno)

À ce jour, le principal traitement des grands brûlés passe par la greffe de lambeaux de peau obtenus et amplifiés à partir d'un prélèvement de peau saine du patient. Cependant, cela implique un délai de quelques semaines de culture cellulaire entre le prélèvement de cellules

autologues et l'obtention d'un greffon suffisant, et donc l'utilisation de pansements transitoires. L'équipe de C. Baldeschi, de l'Institut I-Stem (Inserm/ CECS, Evry) a identifié les conditions d'obtention de deux populations de cellules cutanées à partir de CSEh : d'une part

les kératinocytes, d'autre part les mélanocytes (synthétisant le pigment). La particularité des kératinocytes *in vivo* est qu'ils s'organisent en un épithélium pluristratifié à la base duquel se situent les progéniteurs, ceux-ci remplaçant en permanence les cellules matures qui desquament à sa surface. L'autre caractéristique est la cohésion nécessaire des kératinocytes entre eux pour assurer l'étanchéité de la peau. Comme pour les deux exemples précédents, la démarche de l'équipe a consisté à mimer avec les CSEh les différentes étapes de l'ontogenèse : induction de l'ectoderme, puis spécification en kératinocytes, avec ceci de nouveau que les précurseurs obtenus prolifèrent activement et peuvent reconstruire un épithélium stratifié en culture organotypique et *in vivo* chez la souris (Lancet 2009 ; 374 : 1745-53 ; Dev Biol 2011 ; 356 : 506-15). Les expériences sont actuellement en cours pour vérifier ces résultats dans des conditions de grade clinique (à partir d'une lignée de grade clinique importée d'Ecosse) et une collaboration a été établie avec un centre d'investigation clinique (UTCG, Unité de thérapie cellulaire et génique, CHU de Nantes), pour envisager la faisabilité d'un essai clinique qui consisterait en un feuillet épidermique allogénique de précurseurs de kératinocytes dans un but de pansement biologique temporaire. Outre les kératinocytes, l'équipe a également démontré l'obtention de mélanocytes fonctionnels à partir des CSEh (Proc Natl Acad Sci USA 2011 ; 108 : 14861-6), ce qui offre des perspectives dans d'autres pathologies de défaut de pigmentation cutanée. L'ensemble du projet est mené par un consortium associant des équipes de recherche fondamentale, un laboratoire de thérapie cellulaire et des cliniciens de l'hôpital Tenon, à Paris.

Toujours dans ce domaine, il faut mentionner qu'une autre équipe (D. Aberdam) avait, dès 2006, travaillé à l'obtention de progéniteurs issus de l'ectoderme à partir de CSEh et décrit les conditions de leur engagement vers la voie kératinocytaire (Aberdam E et al, Stem Cells 2008 ; 26 : 440-4).

1d. Production de cellules hématopoïétiques

Cet exemple se distingue des précédents par les caractéristiques des deux types de cellules hématopoïétiques qui pourraient être utiles pour un objectif thérapeutique en hématologie/immunologie : les cellules souches hématopoïétiques (CSH), telles qu'on les trouve déjà dans les greffons de moelle osseuse ou de sang de cordon et les cellules sanguines circulantes utilisées quotidiennement sous forme de transfusion de globules rouges (GR) ou de plaquettes. Cependant, si ces produits thérapeutiques sont déjà disponibles et leur efficacité validée, que ce soit pour les CSH ou les globules rouges, le thérapeute est dépendant de donneurs rares et de greffons parfois insuffisants. Or, nous ne savons pas amplifier les CSH, ni encore produire des cellules sanguines « synthétiques » dans un but transfusionnel (quantité limitante).

Quatre équipes travaillent dans ce domaine (L. Douay, W. Vainchenker, A. Bennaceur et S. Garcia) à partir de CSEh. Si l'objectif est de définir les conditions d'obtention de CSH, et de cellules sanguines fonctionnelles, globules rouges, plaquettes ou lymphocytes, c'est encore souvent une recherche essentiellement cognitive, et la faisabilité de l'objectif transfusionnel à

partir de CSEh est encore loin. L'équipe de L. Douay a réussi à produire des globules rouges en appliquant aux CSEh (Lapillone H et al, Haematologica. 2010 ; 95 : 1651-9) un protocole qui a fait ses preuves à partir de progéniteurs issus de sang de cordon (dans ce dernier cas,

la fonctionnalité des globules rouges obtenus a été testée in vivo chez un receveur). Les GR étant des cellules anucléées et à durée de vie limitée, le risque de leur utilisation est minime.

Les programmes de l'équipe de W. Vainchenker sont surtout cognitifs : cette équipe est connue mondialement pour sa connaissance de la physiologie des mégacaryocytes, précurseurs des plaquettes. Elle a réussi à reproduire, à partir de CSEh, l'ensemble des étapes aboutissant à la production en culture de ces mégacaryocytes, cellules très complexes, produisant des plaquettes par fragmentation de leur cytoplasme. Mais l'éventualité d'une production de plaquettes fonctionnelles est lointaine et se heurtera aux difficultés inhérentes aux caractéristiques uniques de ces éléments (Klimchenko O et al, Blood. 2009 ; 114 : 1506-17). Au cours de ses travaux, l'équipe de W. Vainchenker a en outre permis de comprendre certains aspects très originaux de l'hématologie embryonnaire : citons l'analyse des particularités des mégacaryocytes issus de CSEh – elles sont très différentes de mégacaryocytes adultes de la moelle osseuse – qui permettra peut-être de comprendre pourquoi deux types de leucémies à mégacaryoblastes surviennent exclusivement chez les nourrissons ou le jeune enfant. Citons aussi le rôle inattendu de monocytes dans la construction tissulaire chez l'embryon (Klimchenko O et al, Blood. 2011 Mar 17;117(11):3065-75) et une thèse soutenue avec succès sur ce sujet.

La différenciation lymphoïde des CSEh est étudiée par deux équipes. Celle de S. Garcia (Institut Pasteur) essaie d'induire la différenciation de CSEh en lymphocytes T in vivo dans un modèle de souris immunodéficientes exprimant certaines molécules HLA humaines (et donc capables d'assurer en partie la maturation de ces lymphocytes T). On injecte à des souris des progéniteurs hématopoïétiques dérivés de CSEh. Ce modèle sera particulièrement utile pour modéliser les réponses immunitaires humaines à un agent infectieux. Celle d'A. Bennaceur travaille in vitro à l'induction de la différenciation de CSEh en cellules lymphoïdes NK (natural killer), B et dendritiques (article en révision, mars 2012). Cette équipe a aussi récemment démontré que des cellules souches mésenchymateuses – proches de celles qui sont purifiées de la moelle osseuse ou du tissu adipeux – issues de la différenciation de CSEh, pouvaient induire la tolérance via l'inactivation des fonctions NK (Giuliani M, et al, Blood. 2011; 118 : 3254-62). Enfin, des travaux des équipes de W. Vainchenker et A. Bennaceur sont en cours pour modéliser, à partir de CSEh, plusieurs hémopathies porteuses d'anomalies chromosomiques spécifiques, afin d'étudier les mécanismes de la leucémogénèse.

D'autres protocoles autorisés examinent d'autres voies de différenciation en cellules tissulaires spécialisées, notamment différents types de neurones, cellules hématopoïétiques, (en particulier globules rouges), épithélium respiratoire. La perspective thérapeutique est cependant plus lointaine.

1e. Autorisations liées à l'évaluation d'un produit thérapeutique issu de CSEh

Avec la maîtrise progressive, en France et dans le monde, des protocoles de différenciation et l'anticipation d'essais cliniques, et au-delà des aspects de compréhension de la pluripotence, il est essentiel de mettre en place les outils pour obtenir des produits cellulaires

de grade clinique, mais aussi pour évaluer les risques engendrés par l'utilisation de ces cellules.

Dans le cadre du passage aux essais cliniques, les équipes proches de cet objectif se sont rapprochées d'unités de thérapie cellulaire (J. Larghero, B. Dreno), mais aussi de sociétés spécialisées, qui assurent des prestations de services pour l'évaluation de la sécurité sanitaire (absence de contaminations bactériennes et virales) des préparations cellulaires (par exemple l'autorisation délivrée à TexCell).

Certaines équipes ont également analysé en détail les anomalies chromosomiques associées à la culture prolongée des lignées CSEh et une collaboration entre les équipes de M. Peschanski et A.L. Bennaceur a notamment permis de montrer que ces anomalies ciblaient un site particulier du génome (Lefort N et al, Nat Biotech, 2008, 26, 1364-7). Plus récemment, la description par l'équipe d'I-Stem d'anomalies chromosomiques dans les cellules souches neurales dérivées de CSEh incite également à la prudence (Varela C, et al J Clin Invest 2012, 122, 569-74).

2. Les CSEh comme modèles de maladies humaines

Les modèles des maladies étudiées constituent un outil essentiel pour aborder la physiopathologie humaine. Il est rarement possible d'en disposer avec des modèles animaux très imparfaits. La disponibilité de CSEh obtenues à partir d'embryons issus de diagnostic préimplantatoire (DPI), et donc porteuses de la mutation pathologique, offre une opportunité importante. Elle a motivé la dérivation en France de nombreuses lignées, dont certaines sont utilisées dans les exemples que nous détaillerons ici. Rappelons qu'entre 2006 et 2009, 28 lignées de CSEh ont été dérivées en France, par quatre équipes autorisées. Parmi ces lignées, 3 ont un caryotype normal et 25 sont issues d'embryons DPI et sont donc porteuses des mutations pathologiques et potentiellement utiles à des protocoles de modélisation de maladies humaines. Les pathologies correspondantes sont indiquées dans le tableau ci-dessous.

Pathologie	Nbre de lignées	Laboratoire	Utilisation dans protocole recherche
Neurofibromatose	3	Strasbourg	Oui
Huntington	1	Strasbourg	
VHL (maladie Von Hippel-Lindau)	1	Montpellier	
APC (polypose adénomateuse familiale)	2	Strasbourg	Envisagé
FRAXA (X fragile)	3	Strasbourg	Envisagé
CFTR (mucoviscidose)	4	Strasbourg, Montpellier	
Men2a (Néoplasie endocrinienne multiple de type 2a)	2	Strasbourg	
Sca2 (ataxie spino-cérébelleuse type 2)	1	Strasbourg	Oui
CMT1a (Charcot Marie Tooth)	1	Strasbourg	
MFS (syndrome de Marfan)	1	Strasbourg	
Gla (syndrome de Fabry)	1	Strasbourg	
MTMx (myopathie myotubulaire liée à l'X)	2	Strasbourg	
Transl chromosomiques	3	Paul Brousse	Oui

Nous prendrons deux exemples ayant fait l'objet de publications : la dystrophie myotonique de Steinert et les maladies neurodégénératives, tous deux provenant de recherches réalisées à l'Institut I-Stem.

2a. Maladie de Steinert ou dystrophie myotonique (C. Martinat)

Cette maladie complexe se traduit par des anomalies musculaires (coeur) et neuronales principalement, conséquences de la présence d'agrégats ribonucléoprotéiques dans le noyau des cellules qui perturbent le métabolisme de nombre d'autres gènes et notamment l'épissage d'ARN. L'origine est une répétition de séquence ADN dans le gène DMPK. Dans cet exemple, la modélisation a utilisé des CSEh issues de DPI et porteuses de la mutation, mais aussi des CSEh normales dans lesquelles le transgène mutant est introduit. Les cellules ont été différenciées en cellules mésenchymateuses et neuronales. Grâce à ces modèles cellulaires, l'équipe a identifié plusieurs gènes dérégulés intervenant dans la régulation de l'insuline ou de gènes assurant la connexion entre motoneurones et cibles musculaires et correspondant à des symptômes cliniques. Au-delà de la compréhension mécanistique de la maladie, un crible a été fait (utilisant des microARN interférents ou des molécules chimiques) à la recherche de gènes modulateurs susceptibles de restaurer une fonction normale des gènes altérés. Un gène a été identifié qui module l'expression de transcrits déficients dans la maladie et qui peut être ciblé par une molécule déjà utilisée en thérapeutique, ce qui peut en faciliter l'utilisation. Dans un crible mené en parallèle, un composé chimique a été identifié qui élimine aussi les agrégats nucléaires. Ce projet est une belle démonstration de validité de la démarche d'utilisation de CSEh pour la modélisation de maladies humaines et la recherche de molécules possiblement thérapeutiques (Marteyn A, et al. Cell Stem Cell 2011 ; 8 : 434-44).

2b. Maladies neurodégénératives (A. Perrier)

L'équipe de A. Perrier développe deux modèles : celui de la maladie de Huntington, une maladie héréditaire fatale et sans traitement, mais dont l'anomalie génétique (gène codant pour la huntingtine) et la région cérébrale atteinte sont bien caractérisés et celui de la maladie d'Alzheimer, plus diffuse. Dans les deux cas, l'objectif est de découvrir des médicaments novateurs. Une thérapie cellulaire pourrait également être envisagée, mais avec une faisabilité plus lointaine.

De multiples étapes sont donc nécessaires : recréer les anomalies principales de la pathologie à l'aide de CSEh porteuses de la mutation dont on induit la différenciation neuronale, essayer d'identifier les molécules dysfonctionnelles, puis cribler des banques de composés chimiques à la recherche de ceux qui corrigeraient ces anomalies, tester une approche de thérapie cellulaire utilisant ces progéniteurs. Un prérequis est de maîtriser la différenciation de différentes lignées de CSEh en cellules souches neurales puis en neurones spécifiques de la région atteinte. Dans le modèle Huntington, le plus abouti, l'équipe a induit la différenciation des CSN en neurones du striatum (région atteinte dans la maladie). Cette première étape a été franchie avec succès en 2008 (Aubry L, et al, PNAS, 2008, 105, 16707-12) et les essais se poursuivent maintenant dans des modèles animaux in vivo. Dans ce modèle, elle a comparé (analyse transcriptomique) l'expression des gènes dans les CSEh et cellules souches neurales normales et porteuses de la mutation Huntington et identifié les gènes dont l'expression diffère fortement entre cellules normales

et malades, et montré leur liaison avec la présence de la protéine mutée. Le criblage à haut débit pourrait identifier d'éventuelles molécules thérapeutiques capables de restaurer un fonctionnement normal des gènes modifiés et donc des cellules.

L'approche expérimentale menée dans la maladie de Huntington, qui se poursuit avec succès depuis 5 ans, est emblématique des différentes approches thérapeutiques que permettent les CSEh : thérapie cellulaire avec des précurseurs différenciés, mécanisme de la maladie, identification de marqueurs et caractérisation de molécules thérapeutiques. Elle montre aussi l'importance et la lourdeur des recherches avant d'aboutir à un résultat objectif.

Les cellules souches neurales obtenues par l'équipe de A. Perrier, pourraient aussi être engagées vers différents lignages spécifiques d'autres régions du cerveau et possiblement d'intérêt dans d'autres pathologies. Elles ont été testées, par exemple chez le rat, dans un modèle d'accident ischémique cérébral, par l'équipe de B. Onteniente (Stroke 2010 Onteniente).

Plusieurs autres protocoles autorisés, débutés plus récemment, s'attachent aussi à modéliser des maladies humaines : anomalies de développement du cervelet chez les prématurés, neurofibromatose (maladie de Recklinghausen), pathologies rétiniennes. Certains comprennent également une partie de criblage pharmacologique à la recherche de molécules chimiques potentiellement utiles, par exemple la recherche de molécules activant la prolifération de progéniteurs neuronaux pour la maladie d'Alzheimer.

3. Recherche sur l'embryon. Un exemple d'étude d'un processus fondamental du développement embryonnaire : inactivation du chromosome X

Parmi les protocoles autorisés, seuls cinq concernent directement la biologie et le développement précoce de l'embryon.

L'équipe de C. Patrat analyse les importantes modifications épigénétiques qui surviennent lors des premières divisions de l'embryon pour effacer les marques associées à l'identité mâle ou femelle des gamètes et permettre la formation d'un nouvel individu. L'une de ces marques concerne le processus d'inactivation d'un des deux chromosomes X. Ce processus est fondamental car il permet d'égaliser la quantité de protéines produites dans les cellules mâles (un seul X) et femelles (deux X). Rien n'était connu de ce processus chez l'humain, pourtant essentiel à analyser, notamment pour évaluer le retentissement des techniques d'assistance médicale à la procréation, et parce que ses anomalies peuvent conduire à des maladies humaines. Les résultats de cette équipe – publiés dans une revue prestigieuse (Okamoto I, et al. Nature 2011, 472, 370-4) – montrent, grâce à l'élaboration de techniques très délicates qu'elle est parmi les seules à maîtriser dans le monde, que chez l'humain, les deux X sont encore actifs au stade de blastocyste, même si certains régulateurs de l'inactivation sont déjà en place. Ce processus est donc fondamentalement différent chez l'humain et les autres mammifères. Le suivi du processus d'inactivation de l'X et des modifications chromatiniennes associées sera particulièrement intéressant.

Il faut citer un autre projet en cours (équipe de C. Rougeulle, Université Paris Diderot) analysant ce processus d'inactivation de l'X non plus dans l'embryon, mais dans les CSEh où, contrairement à l'embryon, un des deux X est déjà sous forme inactivée dans la plupart des lignées testées (Mitjavila-Garcia M, et al. J Mol Cell Biol, 2010, 2, 291-8). Ces résultats

peuvent par ailleurs avoir des retentissements dans l'évaluation de différentes lignées de CSEh dans une optique d'utilisation en thérapie cellulaire.

4. Comprendre le processus de pluripotence

Outre la maîtrise de leur différenciation, la compréhension des mécanismes de maintien de l'état pluripotent des CSEh est un aspect essentiel du succès des recherches faites avec ces cellules. Parmi les équipes travaillant sur le sujet, certaines ont cherché à comprendre en amont comment améliorer leur autorenouvellement. L'équipe de J. de Vos (CHU Montpellier) utilise depuis plusieurs années l'analyse transcriptomique à large échelle pour décrypter d'une part les déterminants de la pluripotence – avec une approche originale de comparaison des transcrits des CSEh et des ovocytes (Assou S, et al. Hum Reprod Update 2011 ; 17 : 272- 90), deux types de cellules capables d'induire une reprogrammation, et d'autre part, la cinétique de disparition de ces marqueurs lors de l'induction de la différenciation (Bai Q, et al. Stem Cell Rev 2012 ; 8 : 150- 62 ; Ramirez JM et al. Stem Cells, 2011 29 : 1469-74). Ces résultats offrent donc une palette de marqueurs particulièrement utiles pour suivre et contrôler l'état des cellules, critère essentiel dans les suspensions thérapeutiques.

La seconde équipe (P. Savatier, INSERM Lyon) essaie de comprendre pourquoi une des voies de signalisation essentielles à la pluripotence des CSE murines est inactive dans les CSE humaines. L'idée sous-jacente est de réactiver cette voie dans les CSEh, ce qui pourrait leur conférer un potentiel identique à celui des CSEm, alors qu'elles sont considérées comme plus « matures » que ces dernières.

Conclusion

Cet aperçu rapide des travaux de recherche effectués en France en souligne la richesse, mais aussi la diversité (précisons à nouveau qu'il n'est fait état que des travaux qui ont abouti en 2011 à des publications et que de nombreuses équipes non citées obtiennent également des résultats tout à fait probants qui feront l'objet de nombreux articles). Une proportion très importante des projets de recherche autorisés durant les années 2005 et 2006 ont fait l'objet d'autorisations de renouvellement en 2010 et 2011, ce qui reflète la complexité scientifique et technique de ces projets supposant la maîtrise de plusieurs savoir-faire, mais aussi l'investissement à long terme indispensable en moyens financiers et humains, ce d'autant que des problèmes techniques et logistiques ont parfois entraîné des retards de plusieurs mois. Il est important de rappeler que, comme pour toute recherche qui débute sur une thématique nouvelle et contraignante, les résultats ne doivent pas être attendus avant 4 à 5 ans. La publication en 2010 et 2011 d'articles émanant de la plupart des équipes françaises autorisées à travailler sur les CSEh dans des journaux internationaux d'excellente qualité prouve la valeur de leur recherche et justifie et valide la délivrance des autorisations initiales. Ce rythme devrait se poursuivre, puisque la plupart des équipes ont renouvelé leur autorisation récemment.

Plusieurs équipes n'ont pas encore exposé leurs résultats dans des journaux scientifiques internationaux, ce qui prouve qu'une durée de 5 ans peut être courte pour des projets utilisant des supports innovants, comme c'est le cas pour les CSEh. Dans plusieurs cas,

depuis l'autorisation de renouvellement de leur protocole, des équipes ont été capables de publier dans des journaux d'excellente qualité (Nature, Journal of Clinical Investigation, Journal of Molecular and Cellular Biology, Blood, Cell Stem Cell, PNAS). Au vu de ces publications et des résultats exposés dans les rapports annuels d'activité envoyés par les équipes autorisées par l'Agence, il apparaît que la recherche dans le domaine des CSEh (et, dans une moindre mesure en raison du faible nombre d'équipes autorisées, dans le domaine de la recherche sur l'embryon humain) a atteint en France une maturité certaine, caractérisée par l'obtention et la publication régulière de résultats de valeur. La perspective d'application clinique de plusieurs de ces protocoles est également un marqueur de la vitalité de la recherche française dans ce domaine et bénéficiera de la qualité reconnue de la recherche clinique en France.

Annexe 2 : Liste des publications scientifiques françaises sur la recherche sur l'embryon et les cellules souches embryonnaires humaines depuis 2007

2013

[Side Scatter Intensity Is Highly Heterogeneous in Undifferentiated Pluripotent Stem Cells and Predicts Clonogenic Self-Renewal.](#) Ramirez JM, Bai Q, Péquignot M, Becker F, Kassambara A, Bouin A, Kalatzis V, Dijon-Grinand M, De Vos J. **Stem Cells Dev.** 2013 Mar 5

[Comparative analysis of protein expression of three stem cell populations: models of cytokine delivery system in vivo.](#) Roche S, D'Ippolito G, Gomez LA, Bouckennooghe T, Lehmann S, Montero-Menei CN, Schiller PC. *Int J Pharm.* 2013 Jan 2;440(1):72-82

[XACT, a long noncoding transcript coating the active X chromosome in human pluripotent cells.](#) Vallot C, Huret C, Leseqque Y, Resch A, Oudrhiri N, Bennaceur-Griscelli A, Duret L, **Rougeulle C.** *Nat Genet.* 2013 Mar;45(3):239-41.

[Subcellular dynamics of the maternal cell death regulator BCL2L10 in human preimplantation embryos.](#) Guérin JF, Cornut-Thibaut A, Giscard-Destaing S, Pouvreau S, Guillemain Y, Aouacheria A. **Hum Reprod.** 2013 Mar;28(3):729-39

Revues

[Embryonic stem cells or induced pluripotent stem cells? A DNA integrity perspective.](#) Bai Q, Desprat R, Klein B, Lemaitre JM, De Vos J. *Curr Gene Ther.* 2013 Apr 1;13(2):93-8.

2012

[The HOXB4 homeoprotein promotes the ex vivo enrichment of functional human embryonic stem cell-derived NK cells.](#) Larbi A, Gombert JM, Auvray C, l'Homme B, Magniez A, Féraud O, Coulombel L, Chapel A, Mitjavila-Garcia MT, Turhan AG, Haddad R, Bennaceur-Griscelli A. *PLoS One.* 2012;7(6):e39514.

[Long Term Functional Benefits of Epicardial patches as Cell Carriers.](#) Hamdi H, Planat-Benard VE, Bel A, Neamatalla H, Saccenti L, Calderon D, Bellamy VE, Bon M, Perrier MC, Mandet C, Bruneval P, Casteilla L, Hagège AA, Pucéat M, Agbulut O, Menasché P. *Cell Transplant.* 2012 Nov 1

[Early transcriptional changes linked to naturally occurring Huntington's disease mutations in neural derivatives of human embryonic stem cells.](#) Feyeux M, Bourgois-Rocha F, Redfern A, Giles P, Lefort N, Aubert S, Bonnefond C, Bugi A, Ruiz M, Deglon N, Jones L, Peschanski M, Allen ND, Perrier AL. *Hum Mol Genet.* 2012 Sep 1;21(17):3883-95

[ATAD3B is a human embryonic stem cell specific mitochondrial protein, re-expressed in cancer cells, that functions as dominant negative for the ubiquitous ATAD3A.](#) Merle N, Féraud O, Gilquin B, Hubstenberger A, Kieffer-Jacquinet S, Assard N, Bennaceur-Griscelli A, Honnorat J, Baudier J. *Mitochondrion.* 2012 Jul;12(4):441-
[Identification of spectral modifications occurring during reprogramming of somatic cells.](#) Sandt C, Féraud O, Oudrhiri N, Bonnet ML, Meunier MC, Valogne Y, Bertrand A, Raphaël M, Griscelli F, Turhan AG, Dumas P, Bennaceur-Griscelli A. *PLoS One.* 2012;7(4):e30743.

[Expression of the 49 human ATP binding cassette \(ABC\) genes in pluripotent embryonic stem cells and in early- and late-stage multipotent mesenchymal stem cells: possible role of ABC plasma membrane transporters in maintaining human stem cell pluripotency.](#) Barbet R, Peiffer I, Hutchins JR, Hatzfeld A, Garrido E, Hatzfeld JA. *Cell Cycle.* 2012 Apr 15;11(8):1611-20.

[miR-125 potentiates early neural specification of human embryonic stem cells.](#) Boissart C, Nissan X, Giraud-Triboulet K, Peschanski M, Benchoua A. *Development.* 2012 Apr;139(7):1247-57.

[Conditional induction of Math1 specifies embryonic stem cells to cerebellar granule neuron lineage and promotes differentiation into mature granule neurons.](#) Srivastava R, Kumar M, Peineau S, Csaba Z, Mani S, **Gressens P, El Ghouzi V.** *Stem Cells.* 2012 Apr;31(4):652-65.

[Recurrent genomic instability of chromosome 1q in neural derivatives of human embryonic stem cells.](#) Varela C, Denis JA, Polentes J, Feyeux M, Aubert S, Champon B, Piétu G, Peschanski M, Lefort N. *J Clin Invest.* 2012 Feb 1;122(2):569-74

[Immune response to human embryonic stem cell-derived cardiac progenitors and adipose-derived stromal cells.](#) Calderon D, Planat-Benard V, Bellamy V, Vanneaux V, Kuhn C, Peyrard S, Larghero J, Desnos M, Casteilla L, Pucéat M, Menasché P, Chatenoud LJ. *Cell Mol Med.* 2012 Jul;16(7):1544-52

[Dissecting the first transcriptional divergence during human embryonic development.](#) Bai Q, Assou S, Haouzi D, Ramirez JM, Monzo C, Becker F, Gerbal-Chaloin S, Hamamah S, De Vos J. *Stem Cell Rev.* 2012 Mar;8(1):150-62.

[Methylation profile of the promoters of Nanog and Oct4 in ICSI human embryos.](#) Al-Khtib M, Blachère T, Guérin JF, Lefèvre A. *Hum Reprod.* 2012 Oct;27(10):2948-54

Revues

[Derivation of striatal neurons from human stem cells.](#) Viegas P, Nicoleau C, Perrier AL. *Prog Brain Res.* 2012;200:373-404

[Embryonic stem cells in the treatment of severe cardiac insufficiency.](#) Menasché P. *Biol Aujourd'hui.* 2012;206(1):31-44

[Pluripotent stem cells: a cell model for early cardiac development.](#) Pucéat M. *Biol Aujourd'hui.* 2012;206(1):25-9

[Embryonic stem cells for severe heart failure: why and how?](#) Menasché P. *J Cardiovasc Transl Res.* 2012 Oct;5(5):555-65

[Human pluripotent stem cells for disease modelling and drug screening.](#) Maury Y, Gauthier M, Peschanski M, Martinat C. *Bioessays.* 2012 Jan;34(1):61-71.

[In vitro strategies for human gametes production from stem cells.](#) Tosca L, Courtot AM, Bennaceur-Griscelli A, Tachdjian G. *Med Sci (Paris).* 2011 Oct;27(10):866-74.

2011

[Rejuvenating senescent and centenarian human cells by reprogramming through the pluripotent state.](#) Lapasset L, Milhavet O, Prieur A, Besnard E, Babled A, Aït-Hamou N, Leschik J, Pellestor F, Ramirez JM, De Vos J, Lehmann S, Lemaître JM. *Genes Dev.* 2011 Nov 1;25(21):2248-53

[Comparison of Gene Expression in Human Embryonic Stem Cells, hESC-Derived Mesenchymal Stem Cells and Human Mesenchymal Stem Cells.](#) Barbet R, Peiffer I, Hatzfeld A, Charbord P, Hatzfeld JA. *Stem Cells Int.* 2011;2011:368192

[Functional melanocytes derived from human pluripotent stem cells engraft into pluristratified epidermis.](#) Nissan X, Larribere L, Saidani M, Hurbain I, Delevoye C, Feteira J, Lemaître G, Peschanski M, Baldeschi C. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011 Sep 6;108(36):14861-6

[miR-203 modulates epithelial differentiation of human embryonic stem cells towards epidermal stratification.](#) Nissan X, Denis JA, Saidani M, Lemaître G, Peschanski M, Baldeschi C. *Dev Biol.* 2011 Aug 15;356(2):506-15.

[Mutant human embryonic stem cells reveal neurite and synapse formation defects in type 1 myotonic dystrophy.](#) Marteyn A, Maury Y, Gauthier MM, Lecuyer C, Vernet R, Denis JA, Pietu G, Peschanski M, Martinat C. *Cell Stem Cell.* 2011 Apr 8;8(4):434-44

[Comparison of hepatic-like cell production from human embryonic stem cells and adult liver progenitor cells: CAR transduction activates a battery of detoxification genes.](#) Funakoshi N, Duret C, Pascussi JM, Blanc P, Maurel P, Daujat-Chavanieu M, Gerbal-Chaloin S. *Stem Cell Rev.* 2011 Sep;7(3):518-31

[Monocytic cells derived from human embryonic stem cells and fetal liver share common differentiation pathways and homeostatic functions.](#) Klimchenko O, Di Stefano A, Georger B, Hamidi S, Opolon P, Robert T, Routhier M, El-Benna J, Delezoide AL, Boukour S, Lescure B, Solary E, Vainchenker W, Norol F. *Blood.* 2011 Mar 17;117(11):3065-75.

[Global transcriptional profiling of neural and mesenchymal progenitors derived from human embryonic stem cells reveals alternative developmental signaling pathways.](#) Denis JA, Rochon-Beaucourt C, Champon B, Pietu G. *Stem Cells Dev.* 2011 Aug;20(8):1395-409

[Brief report: benchmarking human pluripotent stem cell markers during differentiation into the three germ layers unveils a striking heterogeneity: all markers are not equal.](#) Ramirez JM, Gerbal-Chaloin S, Milhavet O, Qiang B, Becker F, Assou S, Lemaître JM, Hamamah S, De Vos J. *Stem Cells.* 2011 Sep;29(9):1469-74.

[Involvement of BCL2 family members in the regulation of human oocyte and early embryo survival and death: gene expression and beyond.](#) Boumela I, Assou S, Auouacheria A, Haouzi D, Dechaud H, De Vos J, Handyside A, Hamamah S. *Reproduction.* 2011 May;141(5):549-61

[Eutherian mammals use diverse strategies to initiate X-chromosome inactivation during development.](#) Okamoto I, Patrat C, Thépot D, Peynot N, Fauque P, Daniel N, Diabangouaya P, Wolf JP, Renard JP, Duranthon V, Heard E. *Nature.* 2011 Apr 21;472(7343):370-4

Revues

[Concise review: Epidermal grafting: the case for pluripotent stem cells.](#) Lemaître G, Nissan X, Baldeschi C, Peschanski M. *Stem Cells*. 2011 Jun;29(6):895-9.

[Linking X chromosome inactivation to pluripotency: Necessity or fate?](#) Makhoul M, Rougeulle C. *Trends Mol Med*. 2011 Jun;17(6):329-36

[Stem cell therapy for neonatal brain injury: perspectives and challenges.](#)

Titomanlio L, Kavelaars A, Dalous J, Mani S, **El Ghouzzi V**, Heijnen C, Baud O, **Gressens P**. *Ann Neurol*. 2011 Nov;70(5):698-712

2010

[Partial reversal of the methylation pattern of the X-linked gene HUMARA during hematopoietic differentiation of human embryonic stem cells.](#) Mitjavila-Garcia MT, Bonnet ML, Yates F, Haddad R, Oudrhiri N, Féraud O, Magniez A, Makhoul M, Vallot C, Rougeulle C, Bennaceur-Griscelli A, Turhan AG. *J Mol Cell Biol*. 2010 Oct;2(5):291-8.

[Dynamic changes in gene expression during human early embryo development: from fundamental aspects to clinical applications.](#) Assou S, Boumela I, Haouzi D, Anahory T, Dechaud H, De Vos J, Hamamah S. *Hum Reprod Update*. 2011 Mar-Apr;17(2):272-90

[Composite cell sheets: a further step toward safe and effective myocardial regeneration by cardiac progenitors derived from embryonic stem cells.](#) Bel A, Planat-Bernard V, Saito A, Bonnevie L, Bellamy V, Sabbah L, Bellabas L, Brinon B, Vanneaux V, Pradeau P, Peyrard S, Larghero J, Pouly J, Binder P, Garcia S, Shimizu T, Sawa Y, Okano T, Bruneval P, Desnos M, Hagège AA, Casteilla L, Pucéat M, Menasché P. *Circulation*. 2010 Sep 14;122(11 Suppl):S118-23.

[Red blood cell generation from human induced pluripotent stem cells: perspectives for transfusion medicine.](#) Lapillonne H, Kobari L, Mazurier C, Tropel P, Giarratana MC, Zanella-Cleon I, Kiger L, Wattenhofer-Donzé M, Puccio H, Hebert N, Francina A, Andreu G, Viville S, Douay L. *Haematologica*. 2010 Oct;95(10):1651-9.

[A purified population of multipotent cardiovascular progenitors derived from primate pluripotent stem cells engrafts in postmyocardial infarcted nonhuman primates.](#) Blin G, Nury D, Stefanovic S, Neri T, Guillevic O, Brinon B, Bellamy V, Rücker-Martin C, Barbry P, Bel A, Bruneval P, Cowan C, Pouly J, Mitalipov S, Gouadon E, Binder P, Hagège A, Desnos M, Renaud JF, Menasché P, Pucéat M. *J Clin Invest*. 2010 Apr;120(4):1125-39.

[Generation of functional hepatocytes from human embryonic stem cells under chemically defined conditions that recapitulate liver development.](#) Touboul T, Hannan NR, Corbineau S, Martinez A, Martinet C, Branchereau S, Mainot S, Strick-Marchand H, Pedersen R, Di Santo J, Weber A, Vallier L. *Hepatology*. 2010 May;51(5):1754-65

[High-efficiency derivation of human embryonic stem cell lines following pre-implantation genetic diagnosis.](#) Tropel P, Tournois J, Côme J, Varela C, Moutou C, Fagner P, Cailleret M, Laâbi Y, Peschanski M, Viville S. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*. 2010 Apr;46(3-4):376-85

[The postischemic environment differentially impacts teratoma or tumor formation after transplantation of human embryonic stem cell-derived neural progenitors.](#) Seminatore C, Polentes J, Ellman D, Kozubenko N, Itier V, Tine S, Tritschler L, Brenot M, Guidou E, Blondeau J, Lhuillier M, Bugi A, Aubry L, Jendelova P, Sykova E, Perrier AL, Finsen B, Onteniente B. *Stroke*. 2010 Jan;41(1):153-9

[Human embryonic stem-cell derivatives for full reconstruction of the pluristratified epidermis: a preclinical study.](#) Guenou H, Nissan X, Larcher F, Feteira J, Lemaître G, Saidani M, Del Rio M, Barrault CC, Bernard FX, Peschanski M, Baldeschi C, Waksman G. *Lancet*. 2009 Nov 21;374(9703):1745-53.

[Optimization of physiological xenofree molecularly defined media and matrices to maintain human embryonic stem cell pluripotency.](#) Peiffer I, Barbet R, Hatzfeld A, Li ML, Hatzfeld JA. *Methods Mol Biol*. 2010;584:97-108

Revues

[Human pluripotent stem cells: from biology to cell therapy.](#) Ramirez JM, Bai Q, Dijon-Grinand M, Assou S, Gerbal-Chaloin S, Hamamah S, De Vos J. *World J Stem Cells*. 2010 Apr 26;2(2):24-33

[\[Robust differentiation of fetal hepatocytes from human embryonic stem cells and iPS\].](#) Touboul T, Vallier L, Weber A. *Med Sci (Paris)*. 2010 Dec;26(12):1061-6

[Human pluripotent stem cells in drug discovery and predictive toxicology.](#)Laustriat D, Gide J, Peschanski M. *Biochem Soc Trans.* 2010 Aug;38(4):1051-7.

[Cardiac regeneration: still a 21st century challenge in search for cardiac progenitors from stem cells and embryos.](#)Neri T, Stefanovic S, Pucéat M. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2010 Jul;56(1):16-21

[Human embryonic and induced pluripotent stem cells in basic and clinical research in cardiology.](#)Blin G, Neri T, Stefanovic S, Pucéat M. *Curr Stem Cell Res Ther.* 2010 Sep;5(3):215-26

2009

[Characterization of human PGD blastocysts with unbalanced chromosomal translocations and human embryonic stem cell line derivation?](#)Frydman N, Féraud O, Bas C, Amit M, Frydman R, Bennaceur-Griscelli A, Tachdjian G. *Reprod Biomed Online.* 2009;19 Suppl 4:4199.

[A boost of BMP4 accelerates the commitment of human embryonic stem cells to the endothelial lineage.](#)Goldman O, Féraud O, Boyer-Di Ponio J, Driancourt C, Clay D, Le Bousse-Kerdiles MC, Bennaceur-Griscelli A, Uzan G. *Stem Cells.* 2009 Aug;27(8):1750-9

[A common bipotent progenitor generates the erythroid and megakaryocyte lineages in embryonic stem cell-derived primitive hematopoiesis.](#)Klimchenko O, Mori M, Distefano A, Langlois T, Larbret F, Lecluse Y, Féraud O, Vainchenker W, Norol F, Debili N. *Blood.* 2009 Aug 20;114(8):1506-17

[Comparative proteomic analysis of human mesenchymal and embryonic stem cells: towards the definition of a mesenchymal stem cell proteomic signature.](#)

Roche S, Delorme B, Oostendorp RA, Barbet R, Caton D, Noel D, Boumediene K, Papadaki HA, Cousin B, Crozet C, Milhavet O, Casteilla L, Hatzfeld J, Jorgensen C, Charbord P, Lehmann S.

Proteomics. 2009 Jan;9(2):223-32.

[A gene expression signature shared by human mature oocytes and embryonic stem cells.](#)

Assou S, Cerecedo D, Tondeur S, Pantesco V, Hovatta O, Klein B, Hamamah S, De Vos J.

BMC Genomics. 2009 Jan 8;10:10.

[An in vitro beating heart model for long-term assessment of experimental therapeutics.](#)

Habeler W, Pouillot S, Plancheron A, Pucéat M, Peschanski M, Monville C.

Cardiovasc Res. 2009 Feb 1;81(2):253-9

[Can mesenchymal stem cells induce tolerance to cotransplanted human embryonic stem cells?](#)Puymirat E, Geha R, Tomescot A, Bellamy V, Larghero J, Trinquart L, Bruneval P, Desnos M, Hagège A, Pucéat M, Menasché P. *Mol Ther.* 2009 Jan;17(1):176-82.

Revues

[Human embryonic stem cells and genomic instability.](#)Lefort N, Perrier AL, Laâbi Y, Varela C, Peschanski M. *Regen Med.* 2009 Nov;4(6):899-909

[Embryonic stem cells in pharmacology.](#)Laustriat D, Gide J, Héchard C, Peschanski M. *Med Sci (Paris).* 2009 May;25 Spec No 2:32-8.

[Human embryonic stem cells: from the human embryo transgressed to the regenerative medicine of tomorrow.](#)De Vos J, Assou S, Tondeur S, Dijon M, Hamamah S. *Gynecol Obstet Fertil.* 2009 Jul-Aug;37(7-8):620-6

[Human embryonic stem cells and cardiac cell fate.](#)Nury D, Neri T, Pucéat M. *J Cell Physiol.* 2009 Mar;218(3):455-9

2008

[Human embryonic stem cells reveal recurrent genomic instability at 20q11.21.](#)

Lefort N, Feyeux M, Bas C, Féraud O, Bennaceur-Griscelli A, Tachdjian G, Peschanski M, Perrier AL.

Nat Biotechnol. 2008 Dec;26(12):1364-6.

[Striatal progenitors derived from human ES cells mature into DARPP32 neurons in vitro and in quinolinic acid-lesioned rats.](#)Aubry L, Bugi A, Lefort N, Rousseau F, Peschanski M, Perrier AL. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008 Oct 28;105(43):16707-12

[Improvement of culture conditions of human embryoid bodies using a controlled perfused and dialyzed bioreactor system.](#)Côme J, Nissan X, Aubry L, Tournois J, Girard M, Perrier AL, Peschanski M, Cailleret M. *Tissue Eng Part C Methods*. 2008 Dec;14(4):289-98.

[Protocols for cardiac differentiation of embryonic stem cells.](#)Pucéat M. *Methods*. 2008 Jun;45(2):168-71.

[Tex19, a mammalian-specific protein with a restricted expression in pluripotent stem cells and germ line.](#)Kuntz S, Kieffer E, Bianchetti L, Lamoureux N, Fuhrmann G, Viville S. *Stem Cells*. 2008 Mar;26(3):734-44.

[A pure population of ectodermal cells derived from human embryonic stem cells.](#)Aberdam E, Barak E, Rouleau M, de LaForest S, Berrih-Aknin S, Suter DM, Krause KH, Amit M, Itskovitz-Eldor J, Aberdam D. *Stem Cells*. 2008 Feb;26(2):440-4.

Revues

[\[Human embryo stem cells and gametes: science fiction or near future?\].](#)Assou S, De Vos J, Hamamah S. *Gynecol Obstet Fertil*. 2008 Sep;36(9):908-12.

[\[Biology and potential of human embryonic stem cells\].](#)Tondeur S, Assou S, Nadal L, Hamamah S, De Vos J. *Ann Biol Clin (Paris)*. 2008 May-Jun;66(3):241-7.

2007

[Simultaneous differentiation of endothelial and trophoblastic cells derived from human embryonic stem cells.](#)Peiffer I, Belhomme D, Barbet R, Haydont V, Zhou YP, Fortunel NO, Li M, Hatzfeld A, Fabiani JN, Hatzfeld JA. *Stem Cells Dev*. 2007 Jun;16(3):393-402.

[Differentiation in vivo of cardiac committed human embryonic stem cells in postmyocardial infarcted rats.](#)Tomescot A, Leschik J, Bellamy V, Dubois G, Messas E, Bruneval P, Desnos M, Hagège AA, Amit M, Itskovitz J, Menasché P, Pucéat M. *Stem Cells*. 2007 Sep;25(9):2200-5

[A meta-analysis of human embryonic stem cells transcriptome integrated into a web-based expression atlas.](#)Assou S, Le Carrour T, Tondeur S, Ström S, Gabelle A, Marty S, Nadal L, Pantesco V, Réme T, Hugnot JP, Gasca S, Hovatta O, Hamamah S, Klein B, De Vos J. *Stem Cells*. 2007 Apr;25(4):961-73