

# **Rapport d'information au Parlement et au Gouvernement sur le développement des connaissances et des techniques**

**Actualisation – Avril 2023**



# Introduction

Parce qu'ils sont susceptibles d'enjeux éthiques et sociétaux spécifiques, les domaines de compétence de l'Agence de la biomédecine justifient un encadrement législatif et réglementaire rigoureux. Conscient des progrès permanents de la science et de la clinique, le législateur a souhaité conférer à cet encadrement un caractère révisable. Dès lors, une veille régulière s'impose afin d'assurer que le cadre législatif et réglementaire réponde au progrès des connaissances et des techniques. C'est pourquoi la loi du 6 août 2004 a confié à l'Agence de la biomédecine (article L 1418-1 2° du code de la santé publique) la mission « d'assurer une information permanente du Parlement et du Gouvernement sur le développement des connaissances et des techniques pour les activités relevant de sa compétence et de leur proposer les orientations et mesures qu'elles appellent ».

Le premier rapport remis au Parlement et au Gouvernement en avril 2010 et mis à jour régulièrement depuis, s'était donné pour objectif d'identifier les progrès prévisibles dans ces domaines de compétence. Qu'il s'agisse d'avancées scientifiques, d'améliorations cliniques ou d'innovations thérapeutiques, la mise en œuvre de ces progrès est susceptible de comporter des enjeux éthiques, juridiques ou organisationnels. Il convient donc d'anticiper et d'analyser ces enjeux dans un double objectif : favoriser, en amont, les activités de recherche qui nourrissent ces progrès et assurer, le moment venu, leur mise en œuvre concrète au service de la qualité de la prise en charge des patients. La volonté d'améliorer la qualité et non uniquement la quantité des soins offerts aux patients, ainsi que les résultats à long terme, doit en effet guider ces progrès continus.

Les activités de soins dont l'Agence de la biomédecine a la charge sont au cœur des promesses et des enjeux sanitaires du XXIème siècle. Ainsi, les avancées de la médecine prédictive ou les espoirs de la médecine régénérative sont, pour ne citer qu'eux, susceptibles de transformer de façon rapide et fondamentale le rapport à la médecine, la qualité des soins ou l'organisation du système de santé.

Cette 5ème mise à jour du rapport propose à nouveau une analyse raisonnée des progrès les plus marquants, en tant qu'ils sont susceptibles d'avoir des conséquences en termes d'organisation des soins, de qualité de la prise en charge, d'éthique ou de santé publique. Il en va ainsi, en particulier, dans les domaines du diagnostic anténatal et de la génétique qui ont connu plusieurs avancées significatives et dans le domaine de la recherche sur l'embryon et les cellules souches, qui est en constant développement.



## Sommaire

Introduction .....	3
1. Améliorer l'accès à la greffe .....	9
1.1. Améliorer les résultats des greffes.....	9
1.1.1. <i>La prévention du rejet</i> .....	9
1.1.2. <i>La greffe des patients à accès faible ou « hyperimmunisés »</i> .....	11
1.2 Poursuivre les innovations .....	13
1.2.1 <i>Liquides de conservation</i> .....	13
1.2.2 <i>Machines à perfusion</i> .....	14
1.2.3 <i>Greffe de pancréas ou d'ilots ou pancréas artificiel ou encore greffe de cellules souches ?</i> ...	16
1.2.4 <i>Greffe de cornée</i> .....	17
1.3 Améliorer le système d'attribution des greffons : l'intérêt d'une attribution au malade basée sur un score .....	19
1.3.1 <i>Les priorités</i> .....	19
1.3.2 <i>Une attribution au malade et non plus à l'équipe, intérêt des scores</i> .....	19
1.4 Elargir le pool de donneurs et les possibilités de greffe .....	21
1.4.1 <i>Augmenter le recensement des donneurs et faire baisser le taux d'opposition</i> .....	21
1.4.2 <i>Les organes prélevés sur donneurs décédés après arrêt circulatoire ou DDAC</i> .....	22
1.4.3 <i>L'utilisation de greffons marginaux ou dérogatoires</i> .....	23
1.4.4 <i>Augmenter la greffe à partir de donneurs vivants</i> .....	24
1.4.5 <i>Développer de nouvelles possibilités de greffe</i> .....	26
1.5. Les greffes de cellules souches hématopoïétiques .....	29
1.5.1 <i>Les autogreffes de cellules souches hématopoïétiques</i> .....	29
1.5.2 <i>Les allogreffes de cellules souches hématopoïétiques</i> .....	29
1.5.3 <i>Focus sur le devenir du sang placentaire</i> .....	33
1.6 Thérapies cellulaires innovantes.....	35
2. Les progrès dans le champ de la procréation de l'embryologie et de la génétique .....	41
2.1 Assistance médicale à la procréation .....	41
2.1.1 <i>Progrès attendus en AMP</i> .....	41
2.1.2 <i>Perspectives organisationnelles et méthodologiques</i> .....	43
2.2. Génétique.....	45
2.2.1 <i>Les études pangénomiques</i> .....	45
2.2.2 <i>Examens de pharmacogénétique</i> .....	46
2.2.3 <i>Examens génétiques en population générale</i> .....	47
2.2.4 <i>Les autotests génétiques sur internet</i> .....	49
2.2.5 <i>L'édition du génome : vers la mise en œuvre de nouvelles thérapeutiques</i> .....	49
2.3 Diagnostic prénatal et diagnostic préimplantatoire .....	51
2.3.1 <i>Diagnostic prénatal</i> .....	51
2.3.2 <i>Le diagnostic préimplantatoire</i> .....	52
2.4 De nouveaux acteurs : la somme des données (big data), pour une médecine de précision et l'irruption de l'intelligence artificielle.....	53
3. Cellules souches : état des lieux et perspectives.....	58
3.1. Etat de l'art.....	58
3.1.1 <i>De quelles cellules souches dispose-t-on en 2023 ?</i> .....	59
3.1.2 <i>Cellules souches pluripotentes</i> .....	59
3.1.2.1 <i>Cellules souches embryonnaires humaines</i> .....	60

3.1.2.2 Cellules souches pluripotentes obtenues par un processus de reprogrammation (cellules souches pluripotentes induites, ou iPS) .....	62
3.1.2.3 Les organoïdes .....	64
3.1.3 <i>Cellules souches adultes et fœtales</i> .....	65
3.1.3.1 Comprendre le fonctionnement in situ des cellules souches adultes : un prérequis pour le succès de la thérapie cellulaire .....	65
3.1.3.2 Perspectives thérapeutiques utilisant les cellules souches adultes .....	65
3.1.3.3 Les cellules souches mésenchymateuses .....	65
3.1.3.4 Cellules souches fœtales .....	66
3.2. Perspectives d'utilisation thérapeutique des cellules souches .....	66
3.2.1 <i>Considérations générales</i> .....	66
3.2.2 <i>Cellules souches en thérapeutique : état des lieux en 2023</i> .....	67
3.2.2.1 La thérapie cellulaire .....	67
3.2.2.1-1 Etat des lieux .....	67
3.2.2.1-2 Prospective liée aux cellules souches pluripotentes .....	68
3.2.2.1-3 Enjeux éthiques : un tourisme médical lié aux cellules souches ? .....	68
3.2.2.2 Modélisation de maladies humaines .....	69
3.2.2.3 Recherche de traitements pharmacologiques par criblages de molécules .....	69
3.3. Enjeux organisationnels et internationaux .....	70

**- 1 -**

## **Améliorer l'accès à la Greffe**



# 1. Améliorer l'accès à la greffe

La greffe est un champ médical en progrès constant et un exemple de médecine translationnelle mais qui garde des spécificités par organe et par tissu. Elle bénéficie du développement de nouvelles techniques (Single Antigen bead test en histocompatibilité, CRISPR Cas9 en xénotransplantation) et de l'acquisition de nouvelles connaissances scientifiques (médiateurs du rejet d'allogreffe) ou épidémiologiques. Cet effort d'innovation est guidé par une exigence impérative : reculer les frontières de la greffe et du prélèvement pour répondre à la demande croissante des patients en attente d'organes, tout en conservant un haut niveau d'exigence éthique, d'équité, de qualité et de sécurité.

La greffe constitue par ailleurs une prise en charge alternative de certaines maladies chroniques lourdes comme l'insuffisance rénale, tout en assurant des soins moins coûteux mais elle redonne surtout une indéniable qualité de vie aux patients et une autonomie qui permet une réinsertion dans le tissu économique et social.

Plusieurs avancées cliniques significatives permettent d'améliorer la prise en charge des patients en attente ou greffés (1.1.) mais la demande croissante de greffons d'organes et de tissus, à laquelle sont confrontés tous les pays, impose toujours de continuer à élargir, par un effort constant d'innovation, les frontières de la greffe (1.2.). L'équité impose également une réflexion sur l'accès à cette ressource par des systèmes d'allocation des greffons toujours plus performants (1.3). Le développement de la greffe pour répondre aux objectifs ambitieux du plan greffe impose à la fois d'élargir le pool des donneurs (1.4) et de développer toutes les thérapies innovantes (1.6.). Enfin, de nombreuses thérapies plus ciblées comme les anticorps monoclonaux bispécifiques, les CAR T cells (lymphocytes génétiquement modifiés), les thérapies géniques pour les maladies héréditaires ont modifié et élargi le champ thérapeutique pour les maladies graves du sang, où la greffe de CSH garde une part importante et de mieux en mieux définie (chapitre 1.5).

## 1.1. Améliorer les résultats des greffes

La prise en charge des patients greffés s'améliore de façon continue comme le montrent les courbes de survie du rapport de l'Agence de la biomédecine. Ce doit être un cercle vertueux, car aucune greffe n'étant définitive, prolonger la durée de vie d'un greffon permet d'éviter ou de reculer la nécessité d'une deuxième greffe pour les patients les plus jeunes. Les progrès qui sont visés à court ou moyen terme concernent plusieurs enjeux. En premier lieu, des efforts de recherche conséquents sont engagés pour mieux prévenir, dépister et traiter efficacement le rejet de greffe en développant des outils moléculaires de prédiction et en améliorant les éléments du contrôle de la réponse immune des patients greffés (1.1.1.). En deuxième lieu, ce sont les patients dits hyperimmunisés dont l'accès à la greffe progresse aujourd'hui grâce notamment à des protocoles thérapeutiques novateurs (1.1.2.).

### 1.1.1. La prévention du rejet

#### *L'identification des différents types de rejet*

Le rejet de greffe est une réaction immune dirigée contre les antigènes étrangers provenant du donneur et aboutissant, en l'absence de traitement, à la destruction du greffon. Le diagnostic repose sur la biopsie du greffon et l'examen anatomo-pathologique mais de nombreux outils se développent pour caractériser au mieux les lésions. Si les lésions de rejet aigu sont schématiquement distinguées en rejet humoral d'une part, et rejet cellulaire d'autre part, différents mécanismes peuvent être impliqués tels que la réponse immune adaptative et la réponse innée. Différentes cibles immunologiques sont identifiées liées au HLA ou au non-HLA. De plus, les lésions observées évoluent dans le temps et peuvent être aiguës mais aussi chroniques et plusieurs mécanismes de rejet peuvent être conjugués. L'amélioration de la compréhension des mécanismes du rejet de greffe offre de nouvelles cibles thérapeutiques et incite à des prises en charge personnalisées.

La caractérisation biologique et histologique du rejet humoral s'est beaucoup développée dans tous les types de transplantation d'organe, y compris dans certains cas de greffe de cornée. Ceci nécessite de disposer de techniques dites de haute définition dans un délai court pour guider les traitements, différents d'un rejet à l'autre, et donc de disposer de plateforme de dernière génération de séquençage ainsi que des spécialistes en bioinformatique, y compris dans les hôpitaux. Ceci suppose également la transmission numérique et sécurisée de données sensibles et complexes entre l'Agence de la biomédecine et les laboratoires. De nouvelles stratégies thérapeutiques pré, per et post-greffe visant à contrôler la production des anticorps anti-HLA, telles que les immunoglobulines polyvalentes, les échanges plasmatiques et le Rituximab sont passées en routine et la recherche pharmaceutique annonce 24 molécules nouvelles à un stade d'avancée variable. Des progrès significatifs ont eu lieu en termes de pharmacocinétique, d'adaptation individuelle et d'éducation thérapeutique en particulier chez l'adolescent.

Outre les facteurs de risque classiques d'immunisation anti-HLA représentés par une grossesse ou une transfusion, les progrès de la greffe rénale engendrent la nécessité de re-transplantation à long terme (15 ans) avec des problèmes d'immunisation. La politique d'allocation des greffons et les nouveaux scores mis en place visent à limiter ou reculer cette nécessité de retransplantation à terme, en particulier pour les patients jeunes. Dans cet objectif, des modifications du score national d'allocation des greffons rénaux ont été entreprises de manière à limiter le nombre d'incompatibilités HLA entre donneur et receveur pour les enfants et les adultes jeunes et diminuer ainsi le risque d'hyperimmunisation et de difficultés majeures d'accès à la greffe. Cette stratégie « d'épargne immunologique » va être prochainement renforcée pour les adolescents et les jeunes adultes.

Le recours à la transfusion ayant beaucoup diminué ces dernières années, l'antécédent de greffe est désormais la première cause d'hyper-immunisation en France. Le rejet chronique ayant une composante humorale et étant un facteur majeur de perte du greffon, sa prévention par un système d'allocation performant et un meilleur contrôle de l'immunisation est un objectif permettant d'espérer diminuer les retransplantations et les hyper immunisations et visant un double gain sur la disparité offre / demande en matière d'allocation de greffons.

### ***Immunosuppression : des essais classiques à la data science***

Les traitements par immunosuppresseurs présentent de nombreux inconvénients ou effets secondaires. Les agents actifs employés ne sont en majorité pas spécifiques des allo antigènes et dépriment l'ensemble de l'immunité. Les mécanismes d'immuno-surveillance sont altérés par une immunosuppression généralisée, ce qui entraîne une augmentation des infections et des cancers. Par ailleurs, les progrès de l'immunosuppression ont surtout permis durant ces 10 dernières années de diminuer l'incidence du rejet aigu cellulaire et de proposer des alternatives au patient en cas d'effet indésirable en particulier néphrotoxique. Mais l'incidence du rejet chronique (entraînant la perte de fonction du greffon à long terme) demeure quant à elle très élevée, tout comme la morbidité et la mortalité associées à l'utilisation chronique d'une immunosuppression lourde. Il faut donc aller plus loin à la fois dans une meilleure maîtrise de ces traitements mais aussi en utilisant les nombreuses données permises par la bio technologie pour identifier de nouvelles cibles. Une des pistes cherche à développer des stratégies capables d'induire une tolérance vis-à-vis du greffon, c'est-à-dire un état d'hyporéponse immunologique spécifique des allo antigènes permettant la suspension de tout traitement immunosuppresseur. Une telle tolérance dite « opérationnelle » a pu être atteinte chez l'animal grâce à différentes stratégies thérapeutiques. Mais plusieurs problèmes, d'ordre pratique et éthique, ont jusqu'à ce jour empêché un transfert à la clinique de ces stratégies. La greffe associée partielle de cellules hématopoïétiques dans le but de créer un microchimérisme a donné lieu à des avancées, mais variables selon le type de greffe (possible en greffe de rein, échec en greffe vascularisée composite).

Les autres pistes de recherches développées pour maîtriser l'induction d'une tolérance opérationnelle concernent notamment :

- L'identification de nouveaux biomarqueurs. L'analyse simultanée de nombreuses protéines exprimées ou biomarqueurs engendre des données considérables, qu'il faut analyser, re-analyser en fonction des progrès de la science, de l'analyse des big-data et de la biotechnologie. Il faut également pouvoir conserver les échantillons biologiques dans des sérothèques ou bio-banques. Les premières applications cliniques en transplantation sont en cours dans le cadre de PHRC ou IHU.
- L'utilisation des cellules dendritiques ou des lymphocytes T régulateurs dans des protocoles de thérapie cellulaire ;
- L'étude d'outils issus de la biotechnologie, anticorps monoclonaux ou protéines de fusion permettant de « reprogrammer » la fonction des lymphocytes impliqués dans le rejet, molécules capables de cliver les immunoglobulines.

Par ailleurs, des programmes de recherche menés à partir de bases de données incluant de larges cohortes de patients bien phénotypés avec leurs caractéristiques cliniques, biologiques, histologiques et moléculaires, ont permis de développer des modèles prédictifs d'échec de la greffe par des méthodes d'intelligence artificielle (projet I-Box par ex). Ces outils commencent à être utilisés dans la perspective d'une prise en charge personnalisée des greffés dans le cadre de la médecine de précision.

### **1.1.2. La greffe des patients à accès faible ou « hyperimmunisés »**

#### ***Définitions et techniques***

Le statut de certains patients en attente de greffe, présentant un groupe sanguin rare (groupe B) ou une hyperimmunisation HLA avec un taux élevé d'anticorps anti-HLA (dirigés contre un grand nombre de donneurs potentiels), rend pratiquement impossible l'obtention d'une compatibilité immunologique parfaite avec un donneur potentiel, dans des délais très courts. Le système HLA, élément essentiel mais non unique de la réponse immunitaire contre le non-soi, est particulièrement impliqué dans les mécanismes de rejet de greffon. Les définitions et les techniques ont beaucoup évolué, passant de techniques sérologiques en super type à des identifications épitopiques rendant beaucoup plus complexe l'interprétation des rendus HLA et l'identification des seuils de détection des anticorps. Une harmonisation des pratiques et des recommandations en greffe d'organe a été proposée par les sociétés savantes en 2016 sur le plan technique et en 2019 sur le plan clinique, et traduite dans l'allocation des organes par l'Agence de la biomédecine.

La généralisation du typage HLA du donneur en haute résolution a progressé et une disponibilité H 24 des plateformes, avant le prélèvement des reins et des organes sera une aide considérable pour les équipes de greffe quand la technique sera déployée sur l'ensemble du territoire.

Depuis 2016, la réalisation d'un crossmatch dit virtuel est vivement recommandée par l'Agence de la biomédecine en cas de propositions de greffons rénaux, pancréatiques et thoraciques, pour les candidats en attente immunisés. Le crossmatch virtuel est basé sur la confrontation par le biologiste des Ac anti-HLA du patient, détectés par une technique dite de haute définition (Luminex Single Antigen) et le typage HLA du donneur. Elle offre une meilleure évaluation du risque immunologique, sécurise les greffes thoraciques à risque immunologique, permet de prédire le résultat du crossmatch cytotoxique et a permis une baisse du délai d'ischémie froide en greffe rénale. Sa réalisation est désormais optimisée par la mise à disposition dans CRISTAL du résultat du typage HLA du donneur réalisé par technique de biologie moléculaire.

Dans ce champ, l'échange de données informatisé (EDI) est une priorité pour améliorer la qualité et la saisie en temps réel des données cruciales pour l'accès au greffon et le succès de la greffe.

Le modèle de financement des analyses HLA, effectuées exclusivement dans les CHU ou les EFS, dont les indications ont évolué (suivi du rejet humoral en post-greffe) et qui est hétérogène selon les étapes

de la greffe, nécessite une révision, de même que l'évaluation des conséquences de l'essor des nouvelles technologies de séquençage qui modifient la pratique des laboratoires. Un groupe de travail conjoint ABM-DGOS a été mis en place de même que des recommandations nationales par les sociétés savantes. Ce chantier, ralenti par la pandémie, demeure très important.

### ***Comment améliorer l'allocation des greffons ?***

La création d'une priorité nationale pour les patients hyperimmunisés et la mise en place en 2005 du programme « Antigènes permis » ont permis d'augmenter le nombre de propositions de greffons rénaux compatibles pour ces patients. Ce programme a permis la greffe de plus de 3200 receveurs éligibles avec des résultats de survie à deux ans comparables aux résultats obtenus avec des patients non immunisés. Il consiste à identifier, grâce à des techniques de haute définition, des déterminants HLA dits permis c'est à dire contre lesquels il n'a jamais été identifié d'anticorps circulants dans le suivi immunologique du patient. Dans le cadre d'une priorité nationale, ces patients peuvent bénéficier de propositions de greffons ne présentant pas plus de quatre incompatibilités, du moment que ces incompatibilités sont considérées comme permises.

La réflexion doit maintenant se focaliser sur les enfants dont l'accès est certes meilleur en terme de durée d'attente grâce à la priorité qui leur est accordée, mais le risque de pénurie dynamique pourrait conduire les équipes à accepter des greffons avec un « appariement » immunologique parfois médiocre.

### ***Greffe ABO et HLA incompatibles ?***

Les greffes rénales ABO et HLA incompatibles se sont développées ces dernières années avec des résultats satisfaisants.

#### Greffes HLA incompatibles

En cas d'immunisation anti-HLA très large et d'impossibilité de trouver un donneur compatible, il faut envisager des stratégies de greffe à plus haut risque. Les résultats des greffes HLA incompatibles, encore préliminaires, sont satisfaisants mais à suivre de près compte tenu du risque de perte de greffon par rejet humoral et du sur-risque de complications après quelques années.

La greffe peut être réalisée dans un contexte de présence d'anticorps dirigés contre un ou plusieurs déterminants HLA du donneur. Des techniques dites de désensibilisation visent à réduire la circulation (diverses techniques d'immunoabsorption ou plasmaphérèse) puis la production de ces anticorps (le rituximab est le plus souvent utilisé) associées ou non à l'administration d'immunoglobulines polyvalentes. Les inhibiteurs du protéasome ont aussi été utilisés. Le risque de réapparition de ces anticorps dirigés spécifiquement contre les antigènes du donneur et donc le risque de rejet sont très élevés, et nécessitent une intensification importante des traitements antirejet entraînant une hausse significative des complications principalement infectieuses et parfois carcinologiques.

D'autres voies de recherche visant à induire une tolérance vis-à-vis d'antigènes HLA sur le principe des cellules CAR-T sont envisagées.

#### Groupes ABO incompatibles

Le groupe sanguin A comprend 2 sous-groupes principaux : le groupe A1 largement majoritaire et le groupe A2 qui représente environ 20% avec des variations selon les ethnies.

La faible immunogénicité du sous-groupe A2 permet la réalisation de greffe ABO incompatibles sans nécessité de désensibilisation du receveur et sans renforcement du protocole d'immunosuppression, à condition que le receveur ait un faible taux d'Ig G et Ig M anti A. Il est ainsi possible de réaliser de telles greffes rénales en urgence avec des donneurs décédés. Dans un contexte où l'accès à la greffe rénale des receveurs de groupe B et de groupe O est très inférieur à celui des receveurs de groupe A, il est

logique d'envisager une telle option. Les receveurs de groupe B présentent des titres d'anti A plus faibles et sont donc ceux qui peuvent le plus bénéficier de ce type de transplantation.

Depuis plus de 10 ans, des expériences se sont succédées, avec des donneurs vivants et des donneurs décédés, et ont confirmé les bons résultats de ces greffes ABO incompatibles dites « mineures », comparables aux greffes en groupes compatibles. Aux USA, cette possibilité a récemment été intégrée dans les règles d'attribution.

- En France, la possibilité d'attribuer une greffe rénale d'un donneur décédé de sous-groupe A2 à un receveur de groupe B est désormais en place. Le titre des antis A est déterminant pour ne pas risquer un rejet humoral aigu et une perte de greffon, aussi un titre bas d'IgG et IgM anti A est exigé. Une amélioration des techniques permettrait une meilleure sensibilité et spécificité du titrage des anti A/B et ainsi limiter les risques en cas de greffe ABO incompatible, voire d'améliorer l'accès à ce type de greffe. Des études sont en cours tel que le titrage par cytométrie de flux.
- En 2022, des chercheurs britanniques ont réussi à « couper » les déterminants antigéniques du système ABO chez 3 donneurs décédés de rein de groupe B, à l'aide d'une perfusion enzymatique. Cette prouesse doit encore être testée, les reins ainsi modifiés pour être de type O « donneur universel » n'ont pas été transplantés.

### ***Programme don croisé***

Le don croisé permet, grâce à l'échange de greffons rénaux entre des paires donneur-receveur, d'offrir la possibilité de greffes compatibles avec des résultats optimaux à des paires incompatibles. Il est autorisé en France depuis la loi de bioéthique de 2011.

Le programme a débuté sur le plan opérationnel en octobre 2013 avec des cycles d'appariement trimestriels.

Au total, même si l'expérience d'autres pays comme le Royaume-Uni montre que la mise en route d'un tel programme est lent avec peu de greffes la première année, force est de constater en France l'insuffisance de paires candidates pour offrir une chance réelle d'échanges. Il est donc indispensable d'augmenter la base des paires.

Jusqu'à la révision de la loi de bioéthique de 2021, seuls les échanges réciproques entre deux paires (doublet) étaient autorisés avec une greffe simultanée sur les 2 sites.

La nouvelle loi bioéthique a prévu un élargissement du nombre de paires à six, ainsi que la possibilité de recourir à un donneur décédé afin d'augmenter les possibilités d'appariement entre les donneurs et les receveurs engagés dans un don croisé. La simultanéité des opérations a également été assouplie.

Cette modification de la loi devrait permettre de relancer le programme de don croisé en France pour lequel aucune greffe n'avait pu être réalisée au cours des 4 dernières années. En 2022, 4 greffes rénales issues de dons croisés ont pu être réalisées

## ***1.2 Poursuivre les innovations***

### **1.2.1 Liquides de conservation**

Les lésions liées à la conservation et à la reperfusion de l'organe participent à la dysfonction primaire du greffon et à la perte plus retardée de celui-ci. A ce jour, le mode de conservation le plus utilisé pour les greffons après leur prélèvement est la conservation statique dans une solution à 4°C. En effet, le froid augmente la tolérance des organes à l'ischémie en diminuant les besoins énergétiques et l'activité enzymatique. Néanmoins, une activité métabolique subsiste et s'effectue en anaérobie, ce qui entraîne

la formation et l'accumulation de déchets toxiques pour la cellule, suscitant l'ajout de divers substrats à visée métabolique.

Les données de la littérature à ce sujet sont néanmoins assez peu robustes, de méthodologie faible et souvent supportées par des brevets industriels. Depuis peu, des agences nationales aux USA ou au Royaume Uni utilisent les données des cohortes nationales (non randomisées, mais de taille importante) et montrent la faible différence entre solutions de conservation. L'Agence de la biomédecine a aussi cette année publié dans une revue internationale, les données françaises dont les résultats vont dans le même sens.

Des phases d'expérimentation animale sont menées visant à abaisser encore le refroidissement des organes et tissus, réalisant ainsi des conditions extrêmes de refroidissement mais qui posent, comme pour la décongélation, la problématique des lésions intracellulaires définitives. S'apparentant à la conservation en banque de tissus cette technique pourrait ouvrir des champs nouveaux en termes de durée d'ischémie et de disponibilité de greffons rares par exemple.

Une autre possibilité consiste à augmenter l'oxygène disponible pour les cellules, durant cette phase de conservation. L'utilisation de l'hémoglobine du ver marin, ayant des capacités de transport de l'oxygène très supérieures à l'hémoglobine humaine, a été testée en transplantation rénale en France avec une sécurité clinique et des résultats en faveur d'un bénéfice de cette hémoglobine sur la prévention des lésions d'ischémie reperfusion. Une étude randomisée multicentrique se poursuit en France pour démontrer cette efficacité.

## **1.2.2 Machines à perfusion**

### ***Grefe rénale***

Les machines ont d'abord été utilisées pour le rein. D'excellents résultats français ont été rapportés avec des machines à perfusion où le rein, au lieu d'être simplement conservé dans le froid, est perfusé et irrigué par une solution protectrice. D'abord utilisées dans les années 1970, elles ont été abandonnées dans les années 1980 avec l'émergence de liquides de conservation de seconde génération, du fait de leur coût et de leur complexité d'utilisation.

L'industrialisation et le transport possible de ces machines ont relancé leur utilisation et la France est pour le rein plutôt leader, grâce à un programme national définissant les indications du recours à ces machines et dont les résultats publiés sont très encourageants.

Il est désormais démontré que la machine à perfusion permet d'améliorer la reprise de fonction et la survie à un an des greffons prélevés sur donneur décédé (mort encéphalique ou décédé après arrêt circulatoire), par rapport à une simple conservation à froid. Les mécanismes de la conservation par perfusion hypothermique permettent théoriquement d'assurer un lavage optimal du greffon, d'apporter des substrats énergétiques et de l'oxygène, d'éliminer les déchets toxiques, de diminuer l'œdème tissulaire, d'éliminer les caillots (thrombus) qui se sont installés dans les petits vaisseaux et ainsi de préparer le lit vasculaire rénal à la reperfusion.

Par ailleurs, la machine à perfusion est un des outils qui permettent la sélection des greffons et l'évaluation de leur viabilité à partir des paramètres de perfusion (débit, pression de perfusion, index de résistance et pH de l'effluent veineux, biomarqueurs ou taux de lactate), permettant ainsi d'écarter précocement de la greffe des organes destinés à ne pas fonctionner. En cas de greffons prélevés sur des donneurs jugés non optimaux, le recours à la machine à perfusion permet d'augmenter le taux de greffons prélevés et finalement greffés, grâce aux effets bénéfiques de la perfusion dynamique, mais aussi grâce à la présence d'indicateurs de viabilité rassurants pour l'équipe médicale.

Depuis 2011, des machines sont testées pour tous les organes et non plus seulement le rein. Chaque organe ayant ses propres spécificités en termes de tolérance à l'ischémie, de nombreuses solutions ou protocoles sont actuellement testés : normo versus hypothermie (la normothermie permettant un

respect du métabolisme cellulaire et en particulier mitochondrial et une analyse enzymatique), perfusion continue ou pulsatile, perfusion avec du sang ou un liquide de synthèse, oxygénation ou non.

### ***Grefe pulmonaire***

Le passage en routine de la perfusion pulmonaire ex vivo en 2018 s'est traduit par l'obtention d'un financement unique pour les deux dispositifs disponibles, dans les deux indications validées par plusieurs études cliniques, l'optimisation et le reconditionnement des greffons proposés et refusés, et l'évaluation des poumons prélevés chez les donneurs décédés après arrêt circulatoire de la catégorie 3 de Maastricht. En 2021, 31 greffes (10% du total des greffes pulmonaires) ont été effectuées à partir de greffons perfusés, 18 issus de donneurs décédés après arrêt circulatoire de la catégorie 3 de Maastricht et 13 issus de donneurs en mort encéphalique. Le développement limité de la perfusion pulmonaire depuis 2018 s'explique par la pandémie de COVID-19, qui s'est accompagnée d'une diminution de l'activité de greffe pulmonaire, mais aussi par la quasi disparition du recours à la greffe pulmonaire dans la mucoviscidose et par la modification des règles de répartition géographique des greffons pulmonaires en septembre 2020. Les analyses des données françaises par l'Agence montrent d'une part que la perfusion pulmonaire augmente le prélèvement et la greffe des poumons issus de donneurs en mort encéphalique avec une gazométrie altérée (PO<sub>2</sub> en 100% inférieure à 300 mmHg) sans dégrader les résultats de la greffe, et d'autre part qu'elle permet de réduire l'iniquité d'accès à la greffe entre les centres, persistante malgré la modification des règles de répartition des greffons.

### ***Machine de perfusion ex vivo des greffons cardiaques***

Depuis les débuts de la transplantation cardiaque, les cœurs une fois prélevés sont conservés dans un container isotherme, dont la température est comprise entre 4°C et 8 °C, immergés dans un soluté, jusqu'à leur implantation chez le receveur.

A la différence de ce qui s'est passé en greffe rénale et pulmonaire, l'utilisation des machines de perfusion ex vivo des greffons cardiaques n'est pas encore entrée en routine. Les deux dispositifs actuellement utilisés en France, sont transportables et assurent une perfusion du greffon avec un mélange de sang oxygéné et de soluté. Avec le premier dispositif, le cœur est battant, vidé de sa volémie sanguine, perfusé par une solution normothermique. Ce dispositif bénéficie d'un marquage CE. Avec le second système, le cœur est arrêté, perfusé par une solution hypotherme. Ce dispositif a été utilisé pour la conservation du cœur de cochon transgénique transplanté chez un homme en janvier 2022 dans le Maryland. Une étude européenne randomisée est en cours avec pour but d'obtenir le marquage CE pour ce second dispositif. Actuellement, une soixantaine de greffes ont été effectuées en France en utilisant des greffons qui avaient été perfusés.

Le premier système permettrait une évaluation métabolique du greffon, ce que ne permet pas le second dispositif. D'autres machines sont en cours de développement.

Ces dispositifs, en diminuant la durée d'ischémie et en améliorant la préservation des greffons, pourraient diminuer la fréquence des dysfonctions primaires et élargir le pool des donneurs, grâce à l'utilisation de greffons avec une longue durée d'ischémie prévisible (durée de transport prolongée, candidats avec des conditions anatomiques complexes), mais aussi de greffons issus de donneurs à critères élargis et de greffons prélevés chez des donneurs décédés après arrêt circulatoire de la catégorie 3 de Maastricht.

### ***Grefe hépatique***

La communauté des professionnels de la greffe hépatique s'interroge à son tour sur le bénéfice de la perfusion des greffons hépatiques. Des prototypes de machines sont en cours d'essai. Plusieurs essais ont été menés, principalement à l'échelon européen, concernant aussi bien des modèles de perfusion en hypothermie qu'en normothermie avec des résultats très encourageants sur le risque de dysfonction précoce du greffon et sur le risque de complications biliaires ou vasculaires à moyen terme. Les essais menés actuellement en France à partir de ces deux types de machine sont très prometteurs et vont permettre de mieux cerner les indications respectives de chacune de ces modalités, d'en évaluer le cout pour la création de forfaits qui permettront de financer de manière pérenne et ciblée ces techniques

innovantes de préservation. L'objectif est, à terme, de pouvoir augmenter la part de donneurs dont le foie a été greffé de 70% à 80%.

Les profils de greffons qui semblent bénéficier le plus d'une perfusion sur machine sont les greffons hépatiques marginaux à savoir les foies stéatosiques (> 30 % de macro stéatose), les foies prélevés sur donneurs décédés après arrêt cardio-circulatoire (ischémie chaude longue) et les greffons prélevés sur des donneurs âgés et présentant plusieurs comorbidités vasculaires. La stéatose hépatique constitue la cause majeure de refus des greffons hépatiques pour transplantation. Sa quantification est un enjeu majeur puisque si elle est modérée (<30%), elle représente un risque très faible de dysfonction, alors qu'une macro stéatose moyenne (30-60%) ou élevée (>60%) constitue un risque notable (> 15%). L'imagerie (scanner, échographie) est un outil seulement qualitatif et l'analyse histologique en urgence, est souvent indisponible sur le lieu du prélèvement et responsable d'un allongement critique de l'ischémie froide. Faute d'évaluation précise sur le risque d'échec précoce en lien avec le degré de macro stéatose, des greffons hépatiques sont récusés pour la greffe. Actuellement émergent des outils technologiques innovants en vue d'une utilisation en routine par les équipes de greffe sur le lieu du prélèvement. Ces outils connectés utilisant l'intelligence artificielle et des algorithmes préétablis permettent de mesurer avec précision le degré de stéatose et à terme d'améliorer le taux d'utilisation de greffons hépatiques.

L'étape suivante, en cours de développement, est le recours à des substances, qui ajoutées au circuit de perfusion ex vivo normothermique, sont en mesure de faire « fondre » la macro stéatose et ainsi rendre ces greffons stéatosiques secondairement transplantables, appelées « defatting ».

Plusieurs publications américaines et européennes font état d'une baisse du taux de dysfonction précoce de greffons grâce à la perfusion. Ces publications sont très encourageantes, même si elles ne concernent pour l'instant qu'un nombre modeste de cas mais de nombreux essais internationaux sont en cours.

La question de concentrer ou non les moyens techniques (nombre et statut des infirmiers de perfusion) sur des plateformes **de perfusion**, est également posée. Le bénéfice attendu en termes de « réanimation » de l'organe, promet d'avoir un impact important sur le ratio d'utilisation de ces organes et sur le succès de la greffe.

### **1.2.3 Greffe de pancréas ou d'îlots ou pancréas artificiel ou encore greffe de cellules souches ?**

L'incidence du diabète est en augmentation dans tous les pays développés. Seuls les patients dans les situations les plus graves (avec une glycémie instable menant parfois à des comas métaboliques mettant en jeu leur pronostic vital) ont besoin d'une **greffe de pancréas** souvent associée (80% des greffes de pancréas) à une greffe rénale. Lorsque les patients nécessitent une greffe rénale, la greffe de pancréas est la meilleure indication thérapeutique, mais se heurte à sa faisabilité complexe. La greffe d'îlots est de réalisation plus simple et peut-être préférée chez des patients présentant trop de comorbidités pour recevoir une greffe de pancréas vascularisé. Le pancréas artificiel est une solution thérapeutique alternative ou d'attente, point de convergence entre biotechnologie, biomatériaux et microélectronique.

La réalisation d'un dispositif de **pancréas artificiel** repose sur un système d'analyse de la glycémie (le capteur de glucose), un système de délivrance de l'insuline (la pompe à insuline), connectés par l'intermédiaire d'une interface capteur-pompe véritable boucle de régulation 'closed loop') reposant sur un algorithme, capable d'adapter le débit insulinaire en fonction de la glycémie détectée. L'intervention du patient reste nécessaire pour adapter le débit insulinaire à son alimentation et son activité physique ; l'éducation et l'apprentissage peuvent représenter une limite à ce système, désormais inscrit sur la liste des produits et prestations remboursables.

Une nouvelle alternative s'est développée ces dernières années ; la greffe de cellules souches humaines progénitrices de cellules Béta des îlots de Langerhans, capables de sécréter de l'insuline.

Des essais chez l'homme sont en cours, les cellules sont encapsulées et placées en sous-cutané, un traitement immunosuppresseur reste nécessaire.

**La greffe d'îlots de Langerhans** a débuté en France en 1999 dans le cadre de la recherche clinique, les derniers essais cliniques sont arrivés à échéance (PHRC TRIMECO publié dans Lancet Diabetes Endocrinol 2018, PRME STABILOT – résultats en attente). Hormis l'amélioration de l'équilibre glycémique, les objectifs de la greffe d'îlots sont la disparition des hypoglycémies sévères et brutales pouvant mettre en jeu le pronostic vital et, en cas de greffe rénale associée, l'éviction de la récurrence de la néphropathie diabétique sur le greffon rénal. Enfin, la qualité de vie des patients est fortement améliorée après greffe d'îlots. Il existe également une indication d'autogreffe d'îlots après résection complète du pancréas.

L'intérêt de cette thérapeutique par rapport à la greffe pancréatique qui reste le traitement de référence, repose sur sa simplicité technique (injection d'îlots en intra-hépatique *via* un cathéter placé dans une branche de la veine porte, par voie percutanée en radiologie interventionnelle ou par mini-laparotomie) et son faible taux de complications. Cependant, la production d'insuline après une injection d'îlots est le plus souvent insuffisante et les patients reçoivent en moyenne 2,4 injections successives d'îlots. Si certains pays tels que la Suisse et le Royaume Uni ont développé un score commun d'allocation des pancréas pour les receveurs en attente d'îlots et de pancréas, on ne retient pas de compétition de l'organe, les pancréas 'optimaux' étant qualifiés pour la greffe de pancréas organe entier en priorité.

Le nombre de prélèvements de pancréas devra être sensiblement augmenté pour répondre aux besoins de la greffe d'îlots. Si on estime les besoins à 100 patients traités par an, le nombre annuel de nouveaux patients inscrits est resté entre 30 et 40 au cours des dernières années.

L'activité mondiale est recensée depuis 1990 avec plus de 4365 greffes d'îlots rapportées, la majorité ayant été réalisée depuis 2000. La fréquence de l'insulino-indépendance est autour de 70% à un an et 50% à 5 ans avec une réduction des hypoglycémies sévères qui se maintient dans 75% des cas à 10 ans, mais le succès de la greffe reste défini par la réduction de la morbidité liée au diabète en particulier son instabilité.

Le développement clinique en France est progressif, lié transitoirement au déploiement des autorisations d'unités de thérapies cellulaires pour cette activité et d'équipes de greffe mais aussi à la ressource en chirurgiens préleveurs, formés aux difficultés de la technique d'isolement des îlots de Langerhans. En effet, en respectant des contraintes de délais étroits, le pancréas doit être acheminé dans une unité de thérapie cellulaire pour subir un isolement des îlots par digestion enzymatique et gradient de densité. Cette procédure est délicate et le taux d'échec se situe autour de 50 %. Enfin, l'indication thérapeutique reste limitée aux patients diabétiques de type 1 très instables après échec de l'insulinothérapie intensive. La greffe d'îlots de Langerhans est désormais inscrite sur la liste des produits et prestations remboursables.

Néanmoins, cette thérapie cellulaire continue à soulever de grands espoirs auxquels la France contribue de façon très active. Les voies de recherche concernent les différentes étapes : mise au point de liquides de conservation plus adéquats pour le pancréas, amélioration des techniques d'isolement, prévention de la destruction des îlots injectés par réduction de la réaction inflammatoire immédiate, facilitation de l'angiogenèse des îlots, mise au point de nouveaux protocoles d'immunosuppression moins toxiques.

Parmi les autres pistes à retenir, les xéno greffes d'îlots évoquées plus bas, le développement de méthodes d'encapsulation des îlots pour les protéger et réduire voire éviter l'immunosuppression.

#### **1.2.4 Greffe de cornée**

Les besoins mondiaux en greffe de cornées concernent plus de 12 millions de personnes atteintes de pathologie ou cécité cornéenne. En France, les besoins augmentent de 5% par an depuis 10 ans, même si la majorité des patients peuvent être greffés 8 mois après leur inscription. En 2021 près de 7000 nouveaux inscrits (6490) se sont ajoutés aux 3590 patients en attente de greffe de cornées (3740).

Les avancées en ophtalmologie ont consisté à retarder le moment de la greffe dans certaines indications devenues minoritaires (cross linking des kératocônes). Elles ont également permis d'améliorer la prise en charge des patients greffés, en conditions ambulatoires, sous anesthésie locale, par des techniques de greffe lamellaire, permettant donc de récupérer une acuité visuelle post-greffe beaucoup plus rapidement -raccourcie de 1 an à quelques jours, voire semaines avec les techniques de greffe partielle lamellaire. Globalement la greffe s'est élargie à une population plus âgée.

A l'époque où les cornées étaient greffées dans les conditions actuelles de la greffe d'organes, « à l'état frais » juste après le prélèvement, la survie moyenne du greffon était de 20-25 ans. Suite à l'émergence des maladies infectieuses comme la maladie de Creutzfeld-Jacob dans les années 90, les greffons cornéens ont été mis en conservation en un milieu nutritif liquide, le temps de leur sécurisation. Cette technique de conservation altère néanmoins la qualité du greffon, et la durée moyenne des greffons est actuellement plutôt d'une dizaine d'années, chez des patients plus âgés. Cette situation crée des indications de nouvelles greffes qui participent également à l'augmentation des besoins.

Avec près de 6000 cornées greffées chaque année, la greffe de cornée est donc une activité de routine, programmée. Les capacités opératoires sont appelées à augmenter pour satisfaire aux besoins croissants. La gestion des stocks de ces greffons dont la durée de conservation varie de 2 à 4 semaines revient aux banques de tissus. L'évolution de la technique de conservation des cornées représente un enjeu majeur. Aujourd'hui, les cornées prélevées sont conservées en milieu liquide nutritif à 31°C pendant 30 jours, en France comme dans la plupart des pays européens, ou à 4°C pendant 7 jours essentiellement aux USA. Pendant cette période, la cornée perd chaque jour de conservation un pourcentage de cellules endothéliales. Or, ce sont les cellules endothéliales qui garantissent la qualité de la cornée. Au-dessus d'un seuil supérieur à 2000 cellules/mm<sup>2</sup> les cornées sont qualifiées conformes pour toute greffe. En dessous de ce seuil les cornées sont réservées pour certaines indications seulement.

Un espoir réside dans l'évolution des techniques de conservation qui visent à reproduire les conditions physiologiques de l'œil notamment en terme de pression intraoculaire et de circulation des fluides en milieu clos pour lui conférer les qualités de l'état frais.

Tel un bioréacteur reposant sur un mécanisme de circulation de liquides et de mise en pression assuré par un système de pompes, un procédé de conservation active des cornées a fait la preuve du maintien de la viabilité des cellules dans le temps. La phase d'industrialisation du dispositif est en cours. Si la commercialisation prévue à horizon 2023 réussit à faire face à l'équation du bénéfice/retour sur investissement, cette méthode de conservation active pourrait résoudre les contraintes actuelles paradoxales de conservation (sécurité sanitaire versus qualité du greffon) en allongeant les délais de conservation des greffons, en standardisant les méthodes d'évaluation des cornées et en améliorant globalement les conditions d'attribution de greffons cornéens.

La thérapie cellulaire cornéenne endothéliale est une autre voie de recherche actuellement explorée dont le but est de s'affranchir des aléas de la greffe de cornée. La cornée humaine est un tissu avasculaire et immunitairement privilégié qui permet d'envisager une meilleure tolérance des cellules transplantées par rapport aux autres organes vascularisés. Les avancées dans le domaine des cellules souches, de l'ingénierie, particulièrement avec l'arrivée des greffes de cellules souches épithéliales pour le traitement des pathologies sévères de la surface oculaire, ont suscité un intérêt massif. Ces techniques de recherche sont prometteuses mais ne peuvent être envisagées en routine à court ou moyen terme. La xéno greffe (Cf. 1.4.5) est également une voie de recherche dont les premières applications humaines en situation d'urgence ont eu lieu en Asie.

### **1.3 Améliorer le système d'attribution des greffons : l'intérêt d'une attribution au malade basée sur un score**

A l'initiative de l'Agence de la biomédecine et en interaction avec les équipes de greffe et les représentants de la société civile, les règles d'allocation des greffons sont en constante évolution pour améliorer l'efficacité, l'équité et la transparence de la répartition des organes.

#### **1.3.1 Les priorités**

Le système français s'appuie sur l'identification de priorités pour certaines catégories de patients. Un greffon peut notamment être proposé prioritairement et successivement au bénéfice des receveurs dont la vie est menacée à très court terme, des receveurs dont la probabilité d'obtenir un greffon est très faible, et des enfants. En l'absence de receveurs prioritaires, l'attribution se fait par échelons géographiques successifs. Quel que soit l'organe, l'équipe médico chirurgicale de greffe est en droit de refuser une proposition de greffon pour des raisons logistiques, de qualité du greffon ou d'un appariement insuffisant entre le donneur et le receveur. Des collègues d'experts examinent les demandes individuelles d'inscription de malades en liste d'attente dans une catégorie prioritaire. Ils sont consultés 24 heures sur 24 pour les inscriptions dans les catégories "super-urgence" (qui donnent une priorité au niveau national) de malades dont la vie est menacée à très court terme.

Les experts sont également sollicités pour chaque demande individuelle de dérogation aux règles d'attribution, dont la dérogation de groupe sanguin qui consiste à attribuer un greffon à un receveur dont le groupe sanguin est compatible (et non pas identique) avec celui du donneur, ou encore l'attribution d'une priorité à l'échelon régional ou national en cas de difficultés particulières d'accès à la greffe. Les experts sont aidés dans leur appréciation par des informations médicales détaillées concernant le malade, transmises par l'équipe médicale et, si nécessaire, par des simulations des chances d'accès à la greffe réalisées par l'Agence de la biomédecine. Les collègues d'experts sont renouvelés tous les trois ans et chaque collègue est réuni une fois par an pour dresser un bilan d'activité.

#### **1.3.2 Une attribution au malade et non plus à l'équipe, intérêt des scores**

L'attribution se fait par échelons géographiques successifs, selon les règles spécifiques à chaque organe. L'évolution de la territorialité en France, la réflexion menée sur la mutualisation des équipes, les GHT, et l'évolution éthique souhaitée par les patients eux même, visant à attribuer un organe à un patient et non à une équipe, font que la réglementation a évolué tout en intégrant une composante géographique.

Une étape majeure a été franchie ces dernières années avec la mise en place de scores en greffe rénale hépatique et cardiaque et donc le passage d'un système dans lequel les greffons étaient attribués aux équipes de greffe, vers un système dans lequel c'est désormais au malade ayant le score le plus élevé que le greffon est attribué. Quelle que soit la provenance du greffon, ce système conduisait auparavant à ce que la décision médicale d'allouer un greffon soit dans la grande majorité des cas confinée à un nombre réduit de receveurs potentiels. L'intérêt majeur d'un score est de réaliser un compromis pondéré et explicite entre des critères d'attribution multiples, voire parfois contradictoires. Le score est une grandeur affectée à chaque receveur potentiel d'un greffon donné. Il résulte du calcul d'une fonction multivariée et paramétrable. Il permet le classement des receveurs potentiels selon un rang qui déterminera l'ordre des propositions. Le classement est renouvelé pour chaque greffon potentiel. Il peut être utilisé comme règle de décision ou comme une aide à la décision. Cet algorithme spécifique a donné lieu à une audition au Parlement par la commission présidée par Mr Villany sur l'intelligence artificielle. Le point mis en avant est le « feed back » permanent de ces algorithmes et leur

évaluation en amont par simulation et en aval en étude d'impact de façon régulière et définie par calendrier.

Le score rénal cherche par exemple à allouer aussi en fonction des critères d'efficience les greffons aux meilleurs receveurs tant sur le plan immunitaire que d'âge et en prenant en compte les données géographiques de transport. Des évolutions régulières de ces scores sont réalisées au fur et à mesure de l'évaluation qui en est faite sur le plan des résultats cliniques, des disparités d'allocation constatées (modification du score rein en 2015) et de l'évolution de certaines spécificités pathologiques (score foie et carcinome hépato-cellulaire en 2015).

**Le « score rein »** a été déployé progressivement à l'ensemble des inter régions à partir de 2004. Il a été réactualisé plusieurs fois, la dernière version étant de février 2015. Il prend en compte la durée d'attente sur liste, l'ancienneté de dialyse, la compatibilité immunologique et l'appariement en âge entre donneur et receveur. Il tient compte pour chaque receveur de son potentiel en donneurs très compatibles, ce qui permet de contrebalancer l'importance de la compatibilité immunologique HLA pour les malades ayant une combinaison HLA rare et/ou des anticorps nécessitant de les greffer avec un niveau de compatibilité satisfaisant dans un délai raisonnable.

**Le « score foie »** a été mis en place sur l'ensemble du territoire national en 2007. Préalablement à la construction de ce score, une étude prospective spécifique était venue valider en France la valeur prédictive d'un indicateur de risque de décès des malades atteints de cirrhose du foie (l'indice MELD) conçu outre-Atlantique. Ce score donne des logiques d'accès à la greffe adaptées à la maladie initiale : MELD exclusivement pour les cirrhoses ; MELD, durée d'attente et degré d'extension pour les cancers du foie ; MELD et durée d'attente pour les maladies hépatiques et métaboliques non cirrhotiques et pour les retransplantations électives. Il a été réactualisé en juin 2015. Ces ajustements ont permis une compétition plus juste entre les différentes indications de greffe. Un modèle de score géographique « isochrone » (tenant compte des distances *horaires* entre les centres de prélèvement et de greffe) et gravitaire a été mis en place en février 2011 (version V4). Il remplace la priorité locale qui était donnée, à moins qu'un malade ne soit prioritaire à l'échelon national, aux malades d'une équipe de greffe lorsqu'elle réalisait un prélèvement hépatique sur son propre réseau de prélèvement (prélèvement local). Dorénavant, plus la gravité d'un malade en attente est estimée sévère par le score, plus son « aire géographique d'influence » pour la proposition de greffons est large. Ce nouveau score foie comprend par ailleurs une modélisation différente de l'accès à la greffe pour les patients présentant un carcinome hépatocellulaire (CHC), qui deviendra ainsi progressivement indépendant du MELD. La composante MELD est par ailleurs actuellement mise en question par l'évolution de la prise en charge de l'insuffisance hépatique et la France est pilote d'une réflexion européenne sur un « super MELD ».

**Le « score cœur »** a été mis en place début 2018. Il permet une allocation des greffons aux patients, inscrits sur une liste nationale d'attente unique, grâce à un algorithme développé avec les équipes de greffe. Cet algorithme classe les candidats selon un processus par étapes qui comprend successivement l'évaluation du risque de décès en liste d'attente, l'appariement entre donneur et receveur, le risque d'échec après la greffe et la durée de transport entre les centres de prélèvement et de greffe. Les fonctions utilisées reposent sur des modèles prédictifs, un modèle gravitaire pour la prise en compte de la géographie, et des choix empiriques en particulier pour l'appariement donneur-receveur. Cet algorithme répond aux principes éthiques d'équité, d'utilité, de transparence et tient compte dans une certaine mesure de la dimension médico-économique. Cet algorithme évolutif a été modifié à deux reprises depuis son implémentation pour ce qui concerne le classement des patients sous assistance circulatoire mécanique. L'analyse du poids de chacune des composantes de l'algorithme dans le classement montre que l'urgence compte plus que l'appariement entre donneur et receveur, qui compte plus que la géographie, qui compte plus que le filtre sur le risque d'échec après la greffe.

La situation de la **greffe pulmonaire** est singulière au regard de celle des autres organes. D'une part, la discordance entre l'offre et la demande y est très faible. D'autre part, il y a des disparités importantes du devenir des patients en attente et après la greffe selon l'indication de la greffe. Ainsi, il est nécessaire

de construire des modèles prédictifs spécifiques à chaque indication si l'on veut modéliser ces devenirs. Pour ces deux raisons, il n'a pas été développé de score de répartition pour les greffons pulmonaires. En revanche, les règles de la répartition géographique des greffons pulmonaires ont été modifiées en septembre 2020 afin d'améliorer l'équité d'accès à la greffe. Pour l'essentiel, il y a eu un redécoupage des réseaux locaux de prélèvement. Le principe a été de redessiner les réseaux locaux pour obtenir un rapport entre le nombre de greffons prélevés dans le réseau local et le nombre de greffes réalisées par le centre similaire pour toutes les équipes. Par ailleurs, il faut signaler que l'activité de greffe pulmonaire pour mucoviscidose a diminué drastiquement depuis 2020 en raison de la commercialisation des traitements médicamenteux modificateurs de la protéine CFTR.

D'autres évolutions seront nécessaires dans les prochaines années pour prendre en compte l'évolution de l'inadéquation entre le nombre de candidats et de greffons, ainsi que les progrès des traitements alternatifs à la transplantation (cœur artificiel de longue durée). Il est possible que les progrès rapides de l'intelligence artificielle, couplés aux analyses d'imagerie actuellement transmises de façon anonymisée par l'Agence de la biomédecine, aboutissent à des propositions de plus en plus précises en termes de risque, nécessitant une capacité d'analyse informatique H24 7/7, rapide et sécurisée

## **1.4 Elargir le pool de donneurs et les possibilités de greffe**

### **1.4.1 Augmenter le recensement des donneurs et faire baisser le taux d'opposition**

Le recensement des donneurs donne lieu à un suivi spécifique par l'Agence de la biomédecine en temps réel, puisque cette activité est régulée au niveau régional par ses services et donne lieu à une rémunération spécifique annuelle par forfait des équipes hospitalières. Le dernier plan greffe a introduit la notion de taux de conversion (ratio entre le recensement et le prélèvement effectif), pour introduire un cercle de qualité et d'efficacité et éviter une escalade, observée dans certains pays où 25% des organes prélevés ne sont pas greffés au final.

L'évolution législative de 2016 a permis de renforcer la notion de consentement présumé et surtout de faire connaître la loi. Les règles de bonnes pratiques relatives à l'entretien avec les proches en matière de prélèvement d'organes et de tissus homologuées par un arrêté du 16 août 2016 ont donné lieu à une modification des formations nécessaires aux personnels paramédicaux et aux médecins en charge du recueil de la non opposition du défunt. Elles sont désormais surtout réalisées par simulation dans des séminaires. L'analyse des pratiques professionnelles a aussi été modifiée. Une grille d'analyse des entretiens avait été proposée dans l'arrêté, et bien que débattue à l'époque, elle est progressivement adoptée y compris par des équipes réticentes. Ce modèle basé sur la qualité et le progrès donne lieu à une analyse par reporting biannuel des équipes régionales de l'Agence de la biomédecine, et par des audits des équipes hospitalières qui sont systématiquement proposés une fois tous les 5 ans. Le plan greffe s'accompagne à terme (2026) d'un audit systématique de toutes les coordinations hospitalières et des établissements de santé supports de l'activité de prélèvement d'organes et de tissus.

La prise en charge des patients cérébro-lésés graves a par ailleurs beaucoup évolué ces dernières années. Les filières de prise en charge par les unités neuro-vasculaires médico-techniques invasives, la transmission des images, les plans de communication et la prise en charge en amont a heureusement fait reculer la mortalité. Il est néanmoins apparu que les filières d'urgence non thérapeutiques en cas de refus par un service spécialisé ont été largement désorganisées par la crise sanitaire, favorisant le développement anarchique des abords anticipés des proches. Ce constat a permis à l'Agence de biomédecine de créer un groupe de travail national portant spécifiquement sur cette thématique. Une

réflexion a donc été engagée avec la DGOS sur les différents modèles de réseau de prélèvement et des expérimentations possibles de mutualisation.

### **1.4.2 Les organes prélevés sur donneurs décédés après arrêt circulatoire ou DDAC**

La procédure de prélèvements d'organes sur donneurs DDAC utilisée dès 1951 en France est tombée en désuétude dans les années 1980 au bénéfice des prélèvements sur des personnes en état de mort encéphalique (EME). Entre 1970 et 1995, ce type de prélèvement est resté confiné à certaines équipes européennes par choix stratégique (Pays-Bas, Suisse) et s'est développée dans d'autres pays du fait d'obstacles culturels ou religieux, en particulier dans ceux n'ayant pas accès au prélèvement sur des sujets en état de mort encéphalique (Japon).

Grâce au perfectionnement de la procédure et des techniques initié par ces équipes, les résultats se sont significativement améliorés, permettant d'obtenir des taux de non fonction primaire et des taux de survie des greffons rénaux à moyen et long terme comparables à ceux obtenus avec des greffons issus de donneurs en mort encéphalique, et ce malgré la persistance d'un taux de retard de reprise de fonction plus important en cas de DDAC.

Au vu de ces résultats encourageants, il a été décidé de reconsidérer en France l'utilisation de greffons provenant de DDAC sous l'angle de la faisabilité, des résultats et de leurs conséquences éthiques et juridiques permettant une reprise de cette activité. Les prélèvements après arrêt circulatoire non contrôlé (classification 2 de Maastricht) ont démarré en 2006, et les prélèvements après arrêt circulatoire succédant à un arrêt ou limitation des thérapeutiques (classification 3 de Maastricht) en 2015.

Dans les 2 situations, la France s'est dotée, après un travail avec les professionnels et une réflexion éthique approfondie, d'un protocole médical commun et d'une procédure unique d'application multicentrique sur des critères d'inclusion et d'exclusion consensuels, reprenant différentes étapes-clés, comme la sélection stricte des donneurs et receveurs, le respect des délais d'ischémie et l'obligation de recours à une machine à perfuser les greffons rénaux et pulmonaires.

L'évaluation à un an de chaque protocole a montré des résultats satisfaisants et le respect des contraintes médico techniques et éthiques imposées.

Le **protocole Maastricht 2** impose néanmoins des contraintes techniques et organisationnelles lourdes qui font que seules l'Espagne et la France poursuivent sa mise en œuvre. L'évaluation menée en 2017 conclut que seules quelques équipes auront de fait la capacité de poursuivre ce programme, ce qui devait permettre d'obtenir une soixantaine de greffons rénaux par an. La greffe de foie dans ce contexte a été arrêtée. En 2022, aucun prélèvement rénal dans le cadre du protocole Maastricht 2 n'a été réalisé en France.

Le **protocole Maastricht 3**, a permis à de nombreux centres d'élaborer une réflexion collective autour de la fin de vie et du don d'organes. L'évaluation à un an montre d'excellents résultats, meilleurs même que dans les séries étrangères ; les enjeux éthiques sont bien pris en compte. Plus de 50 centres seront opérationnels fin 2022 (contre 27 en 2017) avec au total plus de 2500 donneurs recensés, 1231 donneurs prélevés, 1871 greffes rénales, 10 greffes pancréas-rein, 579 greffes hépatiques et

107 greffes pulmonaires réalisées en 8 ans.

Le prélèvement du pancréas sur donneurs DDAC M3 est autorisé depuis fin 2018, dans les mêmes conditions et contraintes que le prélèvement hépatique. Si la greffe du pancréas vascularisé reste une stratégie délicate en l'absence pour l'instant de modalités d'évaluation de la viabilité de l'organe, la possibilité de prélever le pancréas pour ilots est importante pour le démarrage de cette activité, avec déjà 3 greffes d'ilots issus de donneurs Maastricht 3 en 2021 – 2022. Enfin, les sociétés savantes de réanimation pédiatriques ont fait des propositions concrètes concernant la possibilité de prélèvement pédiatrique dans le contexte de Maastricht 3 avec une mise en œuvre attendue en 2023.

Des travaux internationaux ont validé le principe du prélèvement du foie et des poumons sur donneurs décédés après arrêt circulatoire avec des résultats post greffe satisfaisants. Ces deux possibilités ont été mises en œuvre en France avec d'excellents résultats post greffe. Des prélèvements cardiaques dans ce contexte puis une greffe, associée à une réhabilitation de l'organe sur machine spécifique ont été effectués en particulier en Australie, au Royaume Uni et aux Etats-Unis. Ils font l'objet d'un protocole de recherche en France pour évaluer la faisabilité de la procédure et la viabilité du greffon cardiaque grâce au recours à une perfusion normothermique ex-vivo.

### **1.4.3 L'utilisation de greffons marginaux ou dérogatoires**

Avec les progrès de la greffe, des organes qui autrefois pouvaient être exclus du prélèvement sont désormais examinés au cas par cas. Deux critères conditionnent le choix de prélever : l'état de l'organe et l'existence en liste d'attente d'une personne à qui la greffe de cet organe, avec ses caractéristiques et ses éventuelles imperfections, apportera plus de bénéfices que les risques liés à une non transplantation. De fait, le manque de greffons disponibles plaide pour l'utilisation d'organes « à critères élargis » venant de « donneurs sub optimaux », comme par exemple les patients âgés. L'âge moyen des donneurs prélevés augmente, tout comme l'âge moyen des receveurs. En France, 42% des donneurs ont plus de 65 ans en 2022 contre 21,8% en 2007. L'association de facteurs de risque devant être évitée, des résultats de qualité peuvent être obtenus par une action positive sur les autres facteurs : diminution de la durée d'ischémie froide, amélioration des conditions de conservation, évaluation par des techniques nouvelles des qualités fonctionnelles du greffon (fibroscan, biomarqueurs). Enfin, le développement de scores de risque pour le donneur peut aussi être une aide à la décision.

L'évaluation du bénéfice /risque est aussi en évolution lorsque le receveur lui-même est atteint par une pathologie virale ancienne. Ainsi, le prélèvement d'organes et de cellules chez un donneur porteur de marqueurs sérologiques des virus de l'hépatite B et de l'hépatite C, a d'abord été autorisé à titre expérimental, dans le cadre de protocoles dérogatoires de greffe définis par l'ANSM. L'utilisation des greffons porteurs de marqueurs de l'hépatite B est désormais pérenne et les modalités d'utilisation de ces greffons encadrées par un arrêté du 5 juillet 2013. En application des dispositions de l'article R.1211-21 du code de la santé publique, l'Agence de la biomédecine avait été chargée d'assurer le recueil et l'exploitation des données nationales collectées par les équipes de greffe dans le cadre des protocoles de suivi thérapeutique des patients inclus dans le dispositif dérogatoire hépatite C. Le rapport d'évaluation, remis à l'ANSM en 2015, n'avait pas mis en évidence de sur-risque d'échec post-greffe pour les greffes avec un greffon VHC+. Les greffes issues de donneurs porteurs de marqueurs infectieux de l'hépatite C sont désormais réalisées de façon pérenne. Le nouveau dispositif autorise la proposition de greffons issus de donneurs Ac anti-VHC+ non répliquant (PCR VHC négative) à des receveurs VHC+ répliquant ou non, sous réserve de l'information et du consentement du receveur, d'une prise en charge thérapeutique adéquate et d'un suivi post greffe approprié.

Au vu des résultats des greffes réalisées depuis 2016, de l'avancée rapide des thérapies antivirales et des résultats publiés dans la littérature, un nouveau rapport a été rédigé par un groupe d'experts pour proposer des évolutions comme la possibilité d'utiliser les greffons issus de donneurs porteurs d'une répllication virale B à des receveurs de même profil ou le recours à des greffons VHC+ non virémiques (profil d'hépatite virale C guérie ou éradiquée) à des receveurs naïfs vis à vis du virus de l'hépatite C, informés et consentants, en conformité avec ce qui est en vigueur dans l'immense majorité des pays.

La mise à la disposition des malades des thérapeutiques antivirales directes contre le VHC a entraîné un effondrement des indications de greffe pour cirrhose virale C et des retransplantations après récurrence virale C sur le greffon ainsi qu'une amélioration significative des résultats post greffe pour ces patients. Cela a permis une redistribution des greffons vers d'autres patients en attente.

Une réflexion a été aussi menée par l'ANSM, l'Agence de la biomédecine et des experts indépendants, en lien avec les associations concernées, sur le statut des donneurs porteurs de marqueurs du VIH pour des receveurs porteurs du VIH. Cette démarche fait suite à une publication d'équipes d'Afrique du Sud puis des USA (programme HOPE) et du Canada dans un contexte épidémiologique très différent,

montrant des résultats encourageants. Ainsi, l'arrêté du 5 juillet 2021 fixant les conditions de prélèvement et de greffe d'organes provenant de donneurs porteurs de marqueurs du virus de l'immunodéficience humaine ouvre la possibilité à des personnes infectées par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) de donner leurs organes à des personnes elles-mêmes vivant avec le VIH. Ces greffes demeurent une dérogation à l'interdiction de greffer et ne peuvent être pratiquées que si le pronostic vital du patient est engagé et lorsque les alternatives thérapeutiques deviennent inappropriées. Cet arrêté précise les critères d'éligibilité des receveurs, les critères de qualification des donneurs vivants (pour les greffes rénales et hépatiques), les critères de sélection des équipes de greffe autorisées pour ce type de greffe et les obligations en terme de biovigilance et de suivi des receveurs. 5 greffes ont été réalisées dans ce contexte en 2022.

#### **1.4.4 Augmenter la greffe à partir de donneurs vivants**

**L'activité de greffe rénale** issue de donneur vivant reste perfectible en France. Une progression de cette activité a été observée jusqu'en 2017 où 611 greffes issues de donneurs vivants (9,1 pmh) ont été réalisées représentant 16,2% de l'activité (contre 222 greffes issues de donneur vivant représentant 8% de l'activité en 2008). Depuis la crise sanitaire liée à l'épidémie Covid, la crise hospitalière s'est accentuée et impacte cette activité (difficultés d'accès aux blocs opératoires en particulier) ; 514 greffes réalisées en 2022 soit 7,5 greffes pmh. L'activité varie de façon importante entre les régions : certaines restent très en retrait tandis que d'autres sont au-delà des objectifs fixés (20% de l'activité globale de greffe rénale).

Le nouveau plan greffe 2022-2026 prévoit une augmentation selon un couloir de croissance pour atteindre entre 641 (estimation basse) et 853 (estimation haute) greffes rénales à partir de donneurs vivants en 2026.

Le ralentissement de l'activité est observé dès 2017, avant même la période épidémique à SARS-CoV2 ; les professionnels font état d'un certain nombre de contraintes au sein de leurs établissements qui pèsent sur leur activité : moyens logistiques et humains limités, organisation complexe des parcours des patients et des accès aux blocs opératoires, etc. Une enquête nationale a été conduite en 2020-21, pour préciser les freins à la greffe à partir de donneurs vivants auprès des équipes, mais aussi des responsables des différentes sociétés savantes concernées, les acteurs du monde associatif, des néphrologues de centres périphériques, des paramédicaux et des acteurs de la communication. Un travail adapté à chaque équipe est en cours pour définir les actions locales visant à lever les obstacles.

En 2015, la publication d'articles concernant le devenir à long terme des donneurs vivants. Il a incité à rester vigilant sur la sélection des donneurs et sur le suivi à long terme.

Une actualisation des Recommandations d'aide à la pratique clinique pour le don du vivant de rein, initiée par l'Agence en partenariat avec les professionnels, les sociétés savantes et des associations de patients est en cours de relecture et devrait être diffusée en 2023.

Un engagement est pris avec la HAS pour rédiger une fiche MEMO de suivi des donneurs vivants (2023-2024). Une obligation de suivi est déjà définie par la loi mais elle se heurte en pratique aux difficultés d'organisation en réseau de prise en charge ville –hôpital sur des personnes mobiles et ne se sentant pas malades. Élaborer avec les parties prenantes des documents pour une information claire, précise et impartiale du donneur sur la greffe à partir d'un donneur vivant et les risques à court, moyen et long terme encourus par le donneur est un des objectifs fixés par le plan ministériel. Les recommandations du rapport sur la qualité de vie des donneurs vivants soulignent l'importance d'un suivi psychologique si nécessaire, de la prise en charge de la douleur, et d'une neutralité financière effective.

La relance de l'activité du don croisé avec l'élargissement des pratiques proposée par la loi de bioéthique de 2021 (cf. 1.1.2), devrait soutenir l'activité du don du vivant. Enfin, une expertise chirurgicale ou immunologique de certaines équipes dans le cadre du don du vivant devrait être encouragée.

**Concernant la greffe hépatique** à partir de donneurs vivants apparentés, l'activité se concentre depuis plusieurs années sur les équipes de greffe hépatique pédiatrique et concerne principalement, voire exclusivement, le prélèvement du lobe gauche. L'année 2022 est marquée par une hausse de l'activité de greffe donneur vivant adulte pour enfants et se décline en :

- 20 greffes de foie gauche pour des receveurs pédiatriques contre 15 en 2020 et 2021.
- 2 greffes de foie droit à des receveurs adultes.
- 19 donneurs sont des ascendants directs (père, mère), 1 donneur est issu de la fratrie et 2 des descendants directs (fils, fille)

L'activité de greffe hépatique donneurs vivants adulte pour adulte a considérablement baissé suite aux décès de deux donneurs vivants, l'un en 2000, le suivant en 2006. Le risque de complications post opératoires pour le donneur vivant est plus élevé lors d'un don entre adultes car le volume de foie retiré est plus important. Il existe des recommandations quant au bilan exhaustif pré don impératif avant d'envisager l'hépatomie partielle du donneur, en particulier en terme de volume hépatique maximal qui peut être retiré chez le donneur et de volume minimal qui peut être proposé au receveur, ce qui ajoutés aux exigences du bilan pré don, limitent significativement le nombre de paires compatibles. De plus, les résultats post greffe sont inférieurs à ceux observés en cas de greffe hépatiques issues d'un donneur décédé, le risque d'engorgement post opératoire immédiat du greffon si son volume est insuffisant entraînant des pertes précoces de greffons et la nécessité d'une retransplantation en urgence et les reconstructions vasculaires nécessaires (s'agissant d'une hépatomie droite avec respect des vaisseaux du donneur) entraînant des complications ischémiques des voies biliaires menant dans certains cas à des retransplantations plus tardives. Ainsi, la survie des greffons chez les receveurs adultes de foie de donneurs vivants hors domino pour la période 2007-2020 (n=66) est de 86,2% à 1 mois et de 78,5% à 1 an contre respectivement 93% et 84,1% pour les receveurs de foie total de donneurs décédés SME et 92,6% et 81,9% pour les receveurs de foie total de donneurs décédés SME (p=0.023). L'ensemble de ces éléments explique la faible activité de greffe hépatique donneurs vivants en France ; A ce jour, seule une équipe réalise de 0 à 3 greffes hépatiques entre adultes par an alors que 8 équipes de greffe hépatique sont autorisées au prélèvement hépatique sur donneur vivant adulte.

L'activité de greffe hépatique donneurs vivants adulte pour enfants a augmenté de 72% en 4 ans, est réalisée au sein des 4 équipes de greffe hépatique pédiatrique autorisées en France, principalement sur les sites de Bicêtre, Necker-Enfants Malades et les Hospices civils de Lyon avec de très bon résultats post greffe, la problématique liée au volume de greffon retiré chez l'adulte et greffé à l'enfant étant résolu par l'ablation du lobe gauche chez l'adulte (donc un volume bien au-dessus de celui considéré comme critique) et suffisant pour les enfants de petits poids. Ainsi, la survie des greffons chez les receveurs pédiatriques de foie de donneurs vivants hors domino pour la période 2007-2021 (n=128) est de 89,3% à 1 an, 88,2% à 3 ans, 86,7% à 5 ans, et s'avère comparable à celles observées en cas de donneurs décédés (foie partagé ou foie entier). En 2022, l'activité de greffe hépatique donneurs vivants adulte pour enfants a atteint un chiffre record de 20 greffes, soit 19% des greffes hépatiques réalisées chez l'enfant dans l'année, contre 17% en 2017 et contre 5 à 12% les années précédentes.

## **1.4.5 Développer de nouvelles possibilités de greffe**

### ***Allogreffes composites vascularisées (ACV)***

Ces greffes sont dites composites car elles concernent la greffe d'un ensemble complexe de peau, muscles, os, vaisseaux et nerfs (d'origine embryonnaire différente) qui sont très fortement immunogènes et inducteurs de réactions de rejet.

Ces greffes concernent les greffes de face (partielle ou totale), des membres inférieurs, des membres supérieurs (mains, avant-bras et bras), du larynx, de la langue et de l'utérus.

L'équipe du Pr Dubernard à Lyon a été la première au monde à effectuer des greffes de mains (1998) puis, en 2005 en collaboration avec le Pr Devauchelle d'Amiens, du tiers inférieur de la face. Les progrès de ces techniques permettent d'étudier chez les receveurs une réponse immune particulièrement intéressante (notamment en développant des modèles animaux de greffes composites). De même, la ré-innervation de nouveaux segments du corps a permis des avancées importantes dans la compréhension des mécanismes neurologiques de la représentation corporelle et du retour de la sensibilité au niveau cérébral.

Dix greffes d'avant-bras ont été réalisées en France, la dernière en 2016. L'évaluation des résultats des greffes d'avant-bras et de bras, dont le nombre a augmenté ces dernières années à travers le monde, a permis de conclure à un réel bénéfice fonctionnel pour les patients avec une bonne maîtrise aussi bien des techniques chirurgicales que des réactions immunologiques. La greffe d'avant-bras a donc quitté le domaine de la recherche biomédicale, mais il reste encore des étapes à franchir avant d'entériner son passage en activité de routine. Il faut apprécier le bénéfice en terme de qualité de vie et en termes médico-économiques d'une telle thérapeutique, notamment en comparaison des prothèses myo-électriques. Un programme de recherche médico-économique a été mis en œuvre à cette fin.

Douze greffes de face ont été réalisées en France dont la première re-transplantation après perte du greffon par rejet chronique à l'HEGP. Ces greffes relèvent toujours de la recherche clinique. Aujourd'hui les premiers cas de rejets chroniques de greffon dans ces allogreffes, comme dans toute greffe, sont maintenant rapportés et posent la question de la re-transplantation.

### ***Reconstruction des voies aériennes supérieures (trachée, bronches)***

Le remplacement des voies aériennes supérieures au premier rang desquelles figure la trachée relève d'un véritable défi car le substitut doit allier les caractéristiques physiques de rigidité-flexibilité liées à la structure cartilagineuse, de capacité de ré-épithélialisation respiratoire et d'intégration aux tissus environnants. Le développement de cette thérapeutique doit largement aux progrès de la greffe de tissus composites et à ceux de l'ingénierie tissulaire, voir bientôt des imprimantes 3D. Après plusieurs décennies de recherche expérimentale, le premier remplacement trachéal a été réalisé chez l'homme en 2004.

De nombreux obstacles ont été franchis ces dernières années si bien qu'après une période de « preuve de concept » des essais cliniques commencent. Une équipe française est particulièrement impliquée dans ces travaux et est reconnue sur le plan international. Un PHRC est également en cours sur le larynx.

Les indications sont rares, représentées pour l'essentiel par les résections de plus de la moitié de la trachée ne permettant pas le rétablissement de la continuité de la voie aérienne. Les principales causes en sont les sténoses/maladies trachéales et les lésions tumorales.

Ainsi si les premiers résultats de remplacement de la trachée et des bronches sont encourageants, la technique doit encore évoluer pour devenir standardisée.

### ***Greffe d'utérus***

L'absence congénitale d'utérus est une anomalie non rare, amenant dans certains pays à se poser la question de la gestation pour autrui. En France, deux équipes ont été autorisées à réaliser des transplantations utérines, une (Limoges) à partir de donneuses décédées et l'autre (Paris / Foch) à partir

de donneuses vivantes. Le programme de l'hôpital Foch a permis la réalisation de 2 greffes et une naissance en 2022. Un 3<sup>e</sup> projet à Rennes est en cours de validation. Elles s'appuient sur l'expérience d'une équipe suédoise avec laquelle elles collaborent et qui a obtenu en 2014 les premières naissances après greffe d'utérus.

Ces greffes donnent lieu au retrait du greffon une fois la première ou seconde grossesse menée à terme réalisée, posant un problème médical différent des autres greffes composites puisque le greffon est explanté après la grossesse et l'immunosuppression peut alors être arrêtée. L'enfant à naître est certes exposé durant la grossesse à un traitement immunosuppresseur, mais dont les risques sont connus chez les patientes greffées d'un organe qui ont une grossesse.

### ***Vers un cœur artificiel ?***

Les dispositifs d'assistance circulatoire mécanique mono-ventriculaire gauche sont utilisés dans l'insuffisance cardiaque réfractaire en attente de récupération, en attente de greffe et à la place de la greffe. Les dispositifs à débit pulsatile ont été presque complètement remplacés par des dispositifs électriques intracorporels à débit continu et à flux centrifuge, plus petits, avec une implantation chirurgicale plus aisée, un confort pour le patient plus grand et une meilleure durabilité (supérieure à ce jour à 7 ans). Ces dispositifs sont inscrits sur la liste des produits et prestations remboursables, et leur utilisation après 70 ans (âge où la transplantation n'est plus réalisée) dans des cas sélectionnés a été validée. La Haute Autorité de Santé a publié en 2021 un rapport d'évaluation sur les dispositifs d'assistance circulatoire de longue durée et leurs conditions de prise en charge. La fréquence et la sévérité de l'insuffisance cardiaque progressant avec le vieillissement, une cohorte importante de malades ambulatoires porteurs de ces dispositifs est suivie aux USA et en Allemagne. En France, une centaine de patients en bénéficient chaque année, mais les équipes françaises, en accord avec les recommandations de la Société Européenne de Cardiologie, utilisent le plus souvent dans l'urgence en première intention des assistances de courte durée de type ECMO. Le score de répartition des greffons cardiaques a été modifié en 2020 pour permettre aux patients en attente de greffe, porteurs d'une assistance mono-ventriculaire de longue durée non compliquée, d'avoir un accès équitable à la greffe. Il faut noter que l'offre d'assistance mono-ventriculaire gauche de longue durée a diminué depuis 2021 puisqu'il n'y a plus qu'un industriel qui commercialise un dispositif intracorporel.

Par ailleurs, après plusieurs décennies de recherche, le cœur artificiel total développé par la société française CARMAT a obtenu un marquage CE. Des projets nationaux et internationaux soit industriels soit académiques sont en cours. Les évolutions ont été importantes ces dernières années avec une technologie recherchant une meilleure biocompatibilité, une moindre usure mécanique par des procédés sans support axial mais par lévitation.

D'autres travaux sur les organes artificiels – foie, poumon, etc.- ont été menés, mais jusqu'ici les résultats ne sont pas concluants.

### ***Xénogreffe***

Des produits d'origine animale sont couramment utilisés en thérapeutique. L'utilisation d'organes de porc chez l'homme est parfois présentée comme l'une des réponses prometteuses à la situation actuelle de manque important d'organes.

De fait, bien que le nombre de laboratoires engagés dans ce domaine soit encore modeste et essentiellement situés en Asie et aux USA, des progrès substantiels ont été récemment obtenus en matière de xénogreffe. Le développement de la technique CRISPR cas9 a eu des impacts inattendus dans le domaine de la greffe. Les voies de recherche concernent :

- de nouvelles modifications génétiques des animaux donneurs ;
- la mise au point de traitements immunosuppresseurs adaptés à la situation clinique ;
- l'induction d'une tolérance immunitaire ;
- la gestion du risque sanitaire.

La réflexion éthique sur les enjeux de la xénogreffe ainsi que son acceptabilité sociale sont également prises en considération par plusieurs instances internationales mais la FDA a approuvé la recherche clinique sur les îlots de pancréas dans ce domaine.

L'incompatibilité immunologique est la principale barrière médicale à l'utilisation des xénogreffes. Les recherches portent donc sur la modification de l'immunogénicité des tissus porcins par génie génétique (on parle « d'humanisation », mais il s'agit en fait d'éviter une reconnaissance immune). En 1993 a émergé l'idée que la suppression chez le porc de la cible majeure (Gal) de la réponse par les anticorps humains permettrait de réduire le risque de rejet humoral. Dès 2002, des porcs appelés « Gal-KO » chez qui l'enzyme avait été invalidée ont vu le jour. Actuellement, une vingtaine de cibles antigéniques sont potentiellement modifiable sur une trentaine connue.

Par ailleurs, à condition de maintenir les animaux dans des conditions EOPS (exemptes d'organismes pathogènes spécifiques), il est possible d'éviter la transmission de la plupart des agents infectieux, dont le cytomégalovirus. Cependant, un risque majeur concerne les virus endogènes intégrés dans le génome porcine : les PERV (porcine endogenous retrovirus) A, B et C qui peuvent *in vitro* infecter de façon productive des cellules humaines. Néanmoins, durant l'été 2017, une équipe américaine de l'université d'Harvard a publié la création d'une lignée de porcs transgéniques chez qui les 62 gènes du PERV présents dans le génome ont été inactivés par la technique d'édition du génome CRISPR/Cas9, ce qui devrait permettre de contourner un des obstacles majeurs en termes de biosécurité à l'utilisation de tissus porcins en xénogreffe.

Avec la production des porcs spécifiques, la xénogreffe a sans doute franchi un cap et on observe aujourd'hui des survies de greffes porc/babouins pouvant aller jusqu'à 9 mois. Des chercheurs chinois ont affirmé être en capacité de passer à l'étape humaine si les autorités leur permettaient. Des essais cliniques avec utilisation de cellules porcines se profilent ainsi d'ores et déjà à court terme pour des îlots de Langerhans chez des patients diabétiques, ou en greffe de cornée.

Le 7 janvier 2022 une première transplantation d'un cœur de cochon génétiquement modifié a été réalisée chez un patient en insuffisance cardiaque terminale inéligible à une greffe et à une assistance circulatoire mécanique de longue durée, à Baltimore. Le patient a survécu deux mois avec un greffon fonctionnel. Au total, dix gènes avaient été modifiés. Trois gènes codant pour des antigènes impliqués dans le rejet entre les deux espèces avaient été supprimés ainsi qu'un gène codant pour le récepteur à l'hormone de croissance. Six gènes humains impliqués dans la réponse immunitaire avaient été insérés. Le traitement immunosuppresseur utilisé comprenait un inhibiteur de la co stimulation et un inhibiteur du complément. Malgré ces avancées, ce résultat montre que de nombreux obstacles immunologiques mais aussi infectieux persistent avant d'obtenir de réels succès cliniques.

De nombreuses questions demandent encore à être résolues avant une éventuelle application à l'homme. Au plan psychologique et éthique notamment, une étude menée auprès d'une centaine de patients greffés ou en attente de greffe a permis d'émettre certaines hypothèses quant à l'acceptabilité psychique d'une xénogreffe. Trois profils différents se sont dégagés parmi les patients interrogés : ceux qui acceptent sans condition l'idée d'une xénogreffe (45 %), ceux qui la refusent radicalement (30 %) et les patients qui posent des conditions (25 %). Sur un autre plan, l'impératif de précaution face au risque infectieux est également un enjeu majeur des xénogreffes : le risque de voir des équipes développer des pratiques de xénogreffe sans contrôle sanitaire suffisant (pratique qui pourrait être qualifiée de « xénotourisme ») constitue un risque face auquel les pays occidentaux doivent se montrer vigilants, comme les y a du reste récemment invités l'OMS.

## **1.5. Les greffes de cellules souches hématopoïétiques**

On peut recenser des modifications d'indications dans le domaine des autogreffes de cellules souches hématopoïétiques (CSH) (1.5.1), et constater que les allogreffes de cellules souches hématopoïétiques connaissent de grands progrès, tant dans les procédures elles-mêmes de greffes que dans l'extension des indications (1.5.2).

Avec plus de 5000 greffes réalisées par an (auto et allogreffes), la greffe de CSH est une activité qui repose désormais sur 38 centres d'allogreffes autorisés (qui pratiquent également presque tous l'activité d'autogreffe) et 44 centres d'autogreffes. Elle s'adresse essentiellement à des indications d'hématologie maligne chez l'adulte, alors que chez environ la moitié des enfants greffés, l'activité est dédiée aux pathologies hématologiques héréditaires (déficits immunitaires, hémoglobinopathies...).

### **1.5.1 Les autogreffes de cellules souches hématopoïétiques**

Pour mémoire, l'autogreffe est une procédure d'intensification de thérapeutique qui consiste, après un temps de traitement standard, en une cure de chimiothérapie intensive, suivie d'une greffe de cellules souches hématopoïétiques provenant du patient lui-même (CSH prélevées antérieurement). La chimiothérapie intensive sous couvert d'une autogreffe de cellules hématopoïétiques consolide la réponse obtenue par une chimiothérapie « conventionnelle » d'induction (en 1<sup>ère</sup> ligne) ou de « rattrapage / sauvetage » (à partir de la 1<sup>ère</sup> rechute), et réduit le risque de ré-évolution / rechute ultérieure. Elle représente une étape d'un parcours thérapeutique complexe. Aujourd'hui, la place de ces approches s'est réduite par rapport aux pratiques d'il y a 15 à 20 ans, du fait de l'introduction à un rythme soutenu d'innovations thérapeutiques.

En effet, l'arrivée de thérapies ciblées (anticorps bispécifiques, CAR T cells, molécules ciblant les antigènes spécifiques des lignées lymphoïdes comme CD20 ou CD30) dans les hémopathies lymphoïdes, principales indications de ces traitements, ont profondément modifié le traitement de 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> ligne de ces hémopathies. Ces nouveaux traitements ont, fait diminuer le nombre de patients conservant une indication d'autogreffe.

Les indications non hématologiques des intensifications thérapeutiques permises par les autogreffes sont essentiellement démontrées et validées dans certaines tumeurs pédiatriques. En oncologie adulte, les indications sont à discuter au cas par cas, en l'absence d'essai clinique récent d'envergure.

### **1.5.2 Les allogreffes de cellules souches hématopoïétiques**

L'allogreffe est un traitement qui vise à remplacer la moelle osseuse et le système immunitaire d'un patient par l'injection d'un greffon de cellules souches hématopoïétiques provenant d'un donneur sain compatible ou partiellement compatible (groupes tissulaires HLA). Il s'en suit un conflit de cellule à cellule qui aboutit au remplacement total ou partiel de l'ancienne moelle osseuse du patient (et des cellules tumorales qui en sont issues) : c'est le "chimérisme hématopoïétique".

La procédure de greffe implique d'administrer au receveur un conditionnement préalable à la greffe, qui associe chimiothérapie cytotoxique (pour "faire la place" aux CSH du donneur dans la niche médullaire du receveur) associé dans certains cas à une irradiation corporelle totale et un traitement immunosuppresseur lourd (pour empêcher le rejet du greffon).

Environ 2000 allogreffes sont ainsi réalisées chaque année. L'activité d'allogreffe a beaucoup augmenté entre 2005 et 2015, puis marque un plateau depuis 2015. La progression jusqu'en 2015 provient essentiellement de trois mécanismes :

- Amélioration des procédures médicales, permettant de réduire la mortalité liée à la greffe (*Transplant Related Mortality* ou TRM),
- Augmentation de l'âge des patients pouvant recevoir une allogreffe en raison d'une moindre toxicité de la procédure, et de traitements de l'hémopathie pré-greffe plus efficaces (thérapies ciblées),
- Diversification des sources de greffon de CSH, permettant d'identifier un greffon pour (presque) tous les patients.

Si le nombre total d'allogreffes progresse moins vite sur les 5 dernières années, on peut envisager plusieurs facteurs explicatifs, notamment une saturation des capacités d'accueil des centres d'allogreffe sur le territoire, en nombre constant depuis plus de 15 ans. Une étude détaillée des conditions de réalisation des greffes dans l'ensemble des centres de greffe a montré que pendant les 10 années d'accroissement de l'activité, les équipes y ont fait face à effectifs quasiment constants.

De plus, certaines thérapeutiques alternatives à la greffe ont été développées, notamment pour les hémopathies malignes de la lignée lymphoïde (leucémies aiguës/chroniques, lymphomes et myélomes) dont les indications à l'allogreffe diminuent de fait. Parmi ces thérapeutiques, les cellules CAR-T prennent de plus en plus d'importance à des stades des maladies de plus en plus précoces. Les indications d'allogreffe dans le myélome et le lymphome sont dorénavant supplantées par les cellules CAR-T.

On observe par ailleurs, sur cette même période, une redistribution des sources de greffons de CSH, les allogreffes de cellules issues du sang placentaire ayant peu à peu cédé une place importante aux allogreffes haplo-identiques.

Enfin, la crise sanitaire a impacté l'activité de greffe allogénique. L'activité totale est en très légère baisse en 2020 puis en forte augmentation en 2021, le choix de la source de CSH s'étant porté encore plus fréquemment vers les CSH périphériques (CSHP) pour les patients adultes en raison du recours à la cryopréservation du greffon et aux difficultés à l'accès au bloc opératoire pour les prélèvements de moelle osseuse pendant la crise. Cependant, dans le même temps, les équipes pédiatriques ont choisi, quant à elles, plus fréquemment les greffons de sang placentaire, en raison des excellents résultats de ces greffes confirmés chez les enfants et les adultes jeunes, mais aussi en raison de la disponibilité immédiate de ces greffons pendant la pandémie.

### ***Amélioration des procédures médicales***

Après les progrès des chimiothérapies de conditionnement (développement de conditionnements permettant la prise de la greffe avec intensité de chimiothérapie réduite), l'amélioration récente provient de la prise en charge des complications de la greffe (infectieuses, immunologiques et métaboliques).

La mise en place d'un système qualité européen (JACIE) pour la pratique des soins a également participé à la sécurisation des allogreffes dans ces dernières années. Ce développement s'est poursuivi afin d'atteindre 100 % des centres d'allogreffe accrédités ou en cours de démarche d'accréditation (objectif du plan cancer 3 atteint).

L'Agence de la biomédecine a réalisé sur la période couvrant le plan ministériel prélèvement et greffe de CSH 2012-2017, puis, sur la période 2018-2020, une étude de la survie à 1 an et de la mortalité liée à la greffe, qui démontre de façon remarquable que la plupart des équipes ont des résultats identiques à la moyenne nationale. Seulement deux équipes ont des résultats inférieurs sur la dernière période étudiée, et ces résultats font l'objet d'une analyse approfondie, actuellement en cours. Par ailleurs, certaines équipes ayant de meilleurs résultats que la moyenne nationale, l'Agence a développé un projet d'étude des facteurs influençant la survie post greffe à partir des données du SNDS, afin de mettre en évidence des pratiques, pouvant permettre d'améliorer les résultats des greffes.

Toutefois, pour les centres pédiatriques ayant une très faible activité (autour de 5 greffes par an), ce modèle statistique ne permet pas une analyse pertinente des résultats. Une réflexion est en cours avec la société savante concernée pour déterminer, en lien avec les schémas inter-régionaux d'oncologie pédiatrique, la meilleure organisation pour cette activité de greffe.

L'allogreffe de CSH est également un traitement adapté à des pathologies graves héréditaires de la moelle osseuse et du système immunitaire. Ces pathologies sont en nombre moins important mais constant, notamment chez le très jeune enfant. L'allogreffe représente le seul traitement curateur pour l'instant, même si certaines thérapies géniques, extrêmement coûteuses et complexes, commencent à arriver, avec à ce jour un faible recul mais des résultats durables chez certains patients souffrant d'un déficit immunitaire ou d'une thalassémie.

Il faut signaler ici que la drépanocytose homozygote SS concerne environ 500 naissances par an en France, et que cette pathologie est une indication formelle d'allogreffe avec donneur apparenté compatible, s'il existe. Depuis la crise sanitaire puis hospitalière, certains de ces patients considérés comme non urgents par rapport à ceux atteints de leucémie, pourraient accéder à la greffe plus tardivement, ce qui impacterait négativement leur devenir post greffe.

### ***Augmentation de l'âge des patients***

Plus de 85% des patients allogreffés sont des adultes, essentiellement greffés pour des leucémies et des myélodysplasies, dont l'incidence augmente avec l'âge.

La sécurisation des procédures de greffes permet désormais de proposer l'allogreffe à des populations de patients pouvant aller jusqu'à 75 ans. Des modèles prédictifs des risques de la greffe de CSH, spécifiques pour la population la plus âgée, ont été validés dans la littérature, permettant d'adapter le type de greffe à l'état du patient et à ses antécédents médicaux. Le développement des thérapies ciblées peut aussi permettre de contrôler des hémopathies autrefois réfractaires et de proposer l'allogreffe (option curative) à plus de patients, notamment les plus âgés.

Ces évolutions ont donc entraîné une augmentation de l'âge moyen des patients adultes greffés : de 48 ans en 2012 à 57 ans en 2021.

### ***Diversification des sources de greffon de CSH***

Le maintien de l'accès, pour l'ensemble des patients, aux différentes sources de greffons de CSH fait partie intégrante des enjeux du plan ministériel prélèvement et greffe de CSH 2022-2026.

En 2021, 45% des allogreffes ont été réalisées à partir de donneurs HLA intrafamiliaux et 55% à partir de donneurs non apparentés (inscrits sur des registres de donneurs). Les sources de CSH sont, pour l'ensemble des 2056 allogreffes réalisées en 2021 :

- à 76% des cellules souches prélevées dans le sang, par cytophérèse;
- à 19% des cellules de la moelle osseuse ;
- et à 5% des cellules provenant d'unités de sang placentaire.

L'enjeu concerne les patients qui n'ont pas de donneur HLA compatible, que ce soit dans la famille ou dans les registres de donneurs volontaires. La greffe avec un donneur compatible HLA sur 10 antigènes définis en biologie moléculaire par de nouvelles techniques de séquençage de haute définition (techniques "NGS") (HLA 10/10) offre les mêmes chances de survie à long terme qu'avec un donneur familial compatible.

En l'absence de donneur compatible (HLA 10/10), Il faut alors recourir à un donneur dit "alternatif" : soit un donneur volontaire "moins compatible" en règle avec une incompatibilité 9/10, soit une unité de sang placentaire (qui permet également une greffe moins compatible), ou encore à une procédure de greffe spécifique avec un donneur familial semi-compatible, appelée greffe "haplo-identique".

En cas de greffe "partiellement HLA compatible", le greffon, autrefois manipulé (déplétion en lymphocytes T), est le plus souvent utilisé tel quel, après le conditionnement du patient, qui reçoit alors un traitement par cyclophosphamide après la greffe, visant à détruire les lymphocytes les plus agressifs du greffon. En France, quasiment tous les centres utilisent cette procédure pour les greffes haplo-identiques familiales. Pour les greffes non apparentées 9/10, il n'a pas encore été démontré que le cyclophosphamide post greffe a de meilleurs résultats que l'immunosuppression classique à base d'inhibiteur de calcineurine, pour des patients recevant des greffons non manipulés, ce qui représente la grande majorité des greffes. Enfin, en pédiatrie, une technique prometteuse dite "déplétion alpha beta", permet aussi de réaliser des greffes haplo-identiques, sans endoxan post-greffe.

Afin de documenter et de comparer les résultats des allogreffes haplo-identiques avec ceux des greffes utilisant d'autres types de donneurs (apparentés HLA identiques, dites géno-identiques, non apparentés HLA identiques, dites phéno-identiques, ou unités de sang placentaire), deux importantes méta-analyses incluant plusieurs dizaines de publications et regroupant plusieurs milliers de patients ont été publiées en 2019.

Ces méta-analyses permettent de montrer que les résultats en terme de survie globale post-greffe sont équivalents entre greffes haplo-identiques et greffes non apparentées identiques. Les greffes avec donneurs familiaux HLA identiques restent la référence, la toxicité post-greffe étant inférieure à celle des greffes haplo-identiques.

Bien que les greffes avec donneurs apparentés partiellement compatibles se développent en France, en Europe et dans tous les centres internationaux, des études comparatives sont en cours avec les greffes à partir de donneurs compatibles apparentés, sans que l'une ou l'autre des modalités de greffe n'ait pour l'instant diminué. Une étude française, randomisée, portant sur des sujets âgés de plus de 55 ans, a montré des résultats comparables en terme de survie sans maladie en post-greffe pour les patients greffés à partir de donneurs partiellement compatibles intrafamiliaux ou compatibles non apparentés.

Il est cependant important de noter que les résultats des greffes varient aussi en fonction de l'âge et de la pathologie du patient, indépendamment du type de donneur.

Sur un plan plus global, sur la période 2010-2021, plusieurs points sont à remarquer :

- De 2009 à 2014, on observe une augmentation progressive du nombre des allogreffes non apparentées de donneurs adultes, puis une stabilisation autour de 925 à 1000 par an en moyenne, depuis 2015, malgré quelques variations à la hausse (2016, 2021) ou à la baisse (2018, 2020)
- A partir de 2015, le nombre d'allogreffes de sang placentaire a baissé constamment, de manière parallèle à l'augmentation des allogreffes haplo-identiques, entrant directement en concurrence en tant que greffons "alternatifs" avec les greffons de sang placentaire. Les années 2020 et 2021 ont cependant montré une nouvelle augmentation de ce type d'allogreffe (77 puis 99 au total), sans que toutefois l'activité d'avant 2015 ne soit retrouvée.
- A partir de 2015, on note une augmentation croissante des allogreffes haplo-identiques (460 allogreffes en 2021 soit 49 % des allogreffes apparentées), alors que le nombre de greffes géno-identiques est, lui, en diminution constante (de 644 à 474 en 2021). Cette baisse est à rapporter au vieillissement des patients et donc de leur fratrie, dans lesquelles les contre-indications au don sont plus fréquentes. Dans ce cas, un donneur alternatif de type haplo-identique, souvent jeune, est plus souvent choisi. Par ailleurs, le poids historiquement très important donné à la compatibilité HLA dans la sélection d'un donneur, a aujourd'hui proportionnellement perdu de son importance. D'autres critères décrivant l'état de santé du donneur –qu'il s'agisse de critères cliniques ou de biomarqueurs – ont pris une importance croissante, au regard de la relative urgence à organiser le prélèvement et de la qualité du greffon.

En ce qui concerne les allogreffes de sang placentaire, l'engouement des débuts a été contrebalancé par plusieurs études cliniques qui ont montré des résultats inférieurs aux attentes dans certaines indications (avec notamment une toxicité importante liée aux complications infectieuses dans les premiers mois post-greffe). Néanmoins, l'allogreffe de sang placentaire a su trouver sa place en l'absence d'un donneur parfaitement compatible familial ou non apparenté, tout particulièrement en pédiatrie, et constitue environ 20 % des allogreffes pédiatriques.

Les différentes sources de CSH sont complémentaires, aucune ne devant être remplacée ou abandonnée pour une autre : la diversité des pathologies et donc des programmes thérapeutiques adaptés, incluant les nouvelles molécules ciblées, la chimiothérapie et l'immunothérapie, incite à développer la recherche dans ces différents domaines pour mieux répondre aux besoins des patients candidats à une allogreffe de CSH.

Enfin, la pandémie liée au COVID-19 a eu un impact sur les modalités de réalisation des allogreffes de CSH. La logistique a été perturbée en raison des contaminations des donneurs ou des receveurs, obligeant à décaler la greffe (voire à annuler en cas de forme grave) et la fermeture des frontières a empêché le transport de certains greffons au moment des confinements stricts. Dès mars 2020, il a donc été décidé de congeler les greffons afin de garantir leur disponibilité une fois le conditionnement du patient débuté. Une étude française a analysé l'impact des congélations systématiques et a ainsi révélé un effet délétère lorsque la durée entre le prélèvement du greffon et sa congélation était longue, en rapport avec une moins bonne viabilité des cellules. Les centres de greffe sont désormais sensibilisés à ce risque et, dans la mesure du possible, la congélation est désormais évitée dans ces situations.

### **1.5.3 Focus sur le devenir du sang placentaire**

#### **Le Réseau Français de Sang placentaire (RFSP)**

A la suite de l'appel d'offres de l'Agence en 2007, à la mise en place d'un financement important par le plan cancer 2, et en raison d'une politique ambitieuse de développement du RFSP mise en œuvre par l'Agence de la biomédecine, le nombre de banques, de maternités et d'unités de sang placentaire stockées a augmenté de manière importante de 2008 à 2013, et est ainsi parvenu à atteindre, à date, l'objectif de 30 000 unités de sang placentaire inscrites sur le registre national France Greffe de Moelle.

Le réseau français de sang placentaire, piloté par l'Agence de la biomédecine, s'appuie désormais sur 5 banques de sang placentaire actives et 16 maternités référentes, privilégiant avant tout des objectifs qualitatifs, adaptés aux besoins des professionnels de la greffe de cellules souches hématopoïétiques. Le stock de greffons de sang placentaire validés et disponibles pour les patients est de 38.266 au 31 décembre 2022.

La richesse des greffons mesurée en terme de cellules nucléées totales (CNT), critère déterminant pour les cliniciens, a augmenté progressivement, et a été fixée depuis 2015 à un minimum de  $160 \times 10^7$  pour chaque greffon conservé dans le stock national: ces greffons particulièrement riches constituent à présent 35% du stock.

Avec ces critères rigoureux, et dans le respect des contraintes réglementaires concernant la négativité des marqueurs infectieux de tous les greffons, environ 10% seulement des unités prélevées dans toutes les maternités du RFSP arrivent actuellement à l'étape finale de validation, puis d'inscription sur le fichier du registre national.

Les recommandations de la SFGM-TC concernant les critères de choix d'un greffon de sang placentaire, diffusées à tous les centres de greffes et s'appuyant sur les principales publications dans le domaine,

donnent le chiffre **minimum** de  $1.5$  (double greffe) à  $3 \times 10^7$  (simple greffe) CNT par kg et  $\geq 1 \times 10^5$  CD34+ par kg de poids du receveur pour optimiser les chances de prise de greffe.

Pour mémoire, le poids médian des patients adultes inscrits sur le fichier français est d'environ 70 kg (25 kg pour les patients pédiatriques).

En 2015, une MIG a été créée pour assurer le financement de prélèvements de sang placentaire dans les maternités partenaires des banques de sang placentaire, permettant ainsi :

- Le maintien d'un réseau national de banques participant non seulement au renouvellement des unités de sang placentaire cédées, mais à l'enrichissement des unités stockées ;
- Le maintien d'un maillage national de maternités choisies en fonction de la qualité des prélèvements effectués et de la diversité HLA des greffons susceptibles d'y être prélevés ;
- Le renforcement des critères de qualité (CNT >  $160.10^7$  après miniaturisation) des nouveaux greffons permettant de mieux répondre aux besoins des patients.

### ***Conservation autologue du sang de cordon (conservation pour l'enfant lui-même) pour des maladies malignes ou génétiques***

L'éventuelle utilisation de sang placentaire autologue pour traiter les maladies hématologiques malignes se heurte à deux problèmes : Il est désormais bien établi que nombre de leucémies de l'enfant, quel que soit leur type, sont présentes sous la forme de quelques cellules malades dès la naissance qui seraient donc congelées avec le sang placentaire éventuellement conservé, et donc réinjectées au moment de l'éventuelle greffe. Ensuite, il ne faut compter sur aucune activité immunologique de ce greffon autologue contre la maladie, qui est la raison principale de la réalisation de greffes allogéniques pour ces pathologies. C'est pour ces deux raisons au moins, que cette option n'a aujourd'hui aucune pertinence scientifique.

Pour les mêmes raisons, les cellules malades (gène déficient) étant présentes à la naissance, la greffe autologue n'a aucun intérêt pour le contrôle de maladies génétiques comme l'aplasie de Fanconi ou les déficits immunitaires combinés sévères.

Dans le cas de maladies néoplasiques, telles que le neuroblastome, le lymphome, le myélome, si une autogreffe de cellules souches hématopoïétiques doit être pratiquée pour contrebalancer les effets d'une chimiothérapie intensive à but thérapeutique, ce sont les cellules souches hématopoïétiques collectées dans le sang périphérique du patient (plus grande richesse des greffons collectés) qui seront choisies, car la récupération hématologique est plus rapide.

Il n'y a donc pas à ce jour de preuve de l'intérêt d'une conservation autologue du sang placentaire d'un enfant pour des maladies malignes ou génétiques.

### ***Utilisation de sang placentaire pour une médecine régénérative ?***

Le droit individuel à faire "un pari" sur l'avenir et sur une hypothétique avancée des recherches sur la médecine "régénérative" ne doit pas détourner des gestes de solidarité pour un usage allogénique bien réel et prouvé. Cette position de promotion des banques de sang placentaire à visée allogénique est soutenue par de nombreuses instances et institutions françaises, européennes et américaines.

Il existe actuellement, dans certains pays européens et aux Etats-Unis, des entreprises commerciales qui prélèvent et stockent les sangs de cordon contre rémunération, dans la seule optique d'un usage autologue, ou bien d'un usage "mixte" : conservation du sang placentaire pour une utilisation autologue ou familiale exclusive, ou bien encore "autologue solidaire" : autologue ou allogénique avec receveur identifié, et remboursement des frais de conservation si le sang placentaire est utilisé pour un malade. L'information qui est délivrée au public par ces sociétés est souvent incomplète, voire inexacte.

La législation concernant la conservation de sang placentaire, basée sur le principe de la solidarité et de l'utilisation thérapeutique exclusive des produits du corps humain, doit permettre de promouvoir et protéger la conservation à visée thérapeutique allogénique, d'une utilité incontestable en terme de santé

publique, et interdire le détournement purement commercial du sang placentaire pour des visées autologues, totalement hypothétiques.

Enfin, en l'état actuel des travaux de recherches, il n'est pas possible de prédire une utilisation future de ces cellules dans le cadre de thérapies régénératives.

### ***Utilisation du sang placentaire pour la fabrication des médicaments de thérapie innovante***

Dans le contexte de la diminution globale mondiale des cessions d'unités de sang placentaire observée ces dernières années, due au choix prioritaire de la greffe haplo-identique comme allogreffe de CSH alternative par les centres de greffe adultes, les banques de sang placentaire ont engagé une réflexion de valorisation de certaines unités présentes dans leur stock, n'ayant pas les meilleures caractéristiques pour en faire des greffons de qualité. En effet, la littérature scientifique suggère l'utilité du sang placentaire et des cellules qu'il contient (CSH, cellules mésenchymateuses, lymphocytes, cellules NK.), dans la fabrication de médicaments de thérapie innovante.

Afin de permettre cette utilisation potentielle, le RFSP a fait évoluer le consentement des donneuses de sang placentaire qui, depuis juin 2022 inclut l'accord des mères donneuses à l'utilisation des unités de sang placentaire, non conformes pour un usage thérapeutique, dans le cadre de la recherche clinique ou de nouvelles thérapies innovantes, développées à partir de certaines sous-populations cellulaires d'intérêt.

Il conviendra cependant d'étudier les moyens de réalisation de ce projet ambitieux, déjà adopté par d'autres banques de sang placentaire à l'international.

### ***Point sur l'activité de prélèvements/cessions de sang placentaire pendant la pandémie Covid-19***

Pendant la période de confinement sanitaire, de mars à mai 2020, l'activité de cession d'unités de sang placentaire pour allogreffe, par les banques de sang placentaire, a augmenté en France et dans le monde, le sang placentaire étant choisi comme source de cellules alternative, rapidement disponible, permettant d'éviter les contraintes liées aux problèmes de transport et de cryo-préservation des greffons issus de cellules de la moelle osseuse.

## ***1.6 Thérapies cellulaires innovantes***

La thérapie cellulaire est principalement représentée dans ses indications de routine, par la greffe de cellules souches hématopoïétiques. La thérapie cellulaire utilise des cellules issues du corps humain pour traiter des maladies spécifiques. Ces cellules remplissent les mêmes fonctions chez le donneur et le receveur. La transformation non substantielle des cellules doit être réalisée dans un établissement dûment autorisé (unité de thérapie cellulaire).

Ces produits sont préparés à partir des tissus ou cellules d'un patient pour lui-même (MTI autologue) ou pour un ou plusieurs autres patients (MTI allogénique).

La réglementation distingue plusieurs types de MTI préparés à partir de cellules, MTI de thérapie cellulaire somatique ou MTI issus de l'ingénierie tissulaire ou MTI de thérapie génique.

Concernant les MTI de thérapie cellulaire somatique, les progrès attendus concernent principalement l'immunothérapie des cancers. Des AMM ont été délivrées depuis 2018 par l'Agence Européenne du Médicament (EMA) pour les cellules CAR-T (pour « Chimeric Antigen Receptor » ou cellules T porteuses d'un récepteur chimérique) avec des lymphocytes génétiquement modifiés, pour des hémopathies lymphoïdes en rechutes ou réfractaires.

L'immunothérapie du cancer à partir de cellules génétiquement modifiées appelées cellules CAR-T est un traitement combinant thérapie cellulaire et ingénierie génétique. Les lymphocytes T sont initialement

prélevés chez le patient (évitant ainsi tout conflit immunitaire), et ils sont génétiquement modifiés de sorte à reconnaître spécifiquement la tumeur.

Les cellules CAR-T sont le résultat d'une modification génétique de lymphocytes T prélevés directement chez le patient, puis modifiés génétiquement *in vitro* afin de leur faire exprimer un récepteur artificiel, dit chimérique puisqu'il comporte trois parties :

- Une partie extra-cellulaire qui reconnaît spécifiquement un antigène tumoral, comme par exemple l'antigène CD19 des hémopathies lymphoïdes B ;
- Une partie transmembranaire ;
- Une partie intra-cellulaire qui va se charger de l'activation des lymphocytes après fixation sur les cellules tumorales.

Une fois modifiées, les cellules CAR-T sont amplifiées *in vitro* puis réinjectées chez le patient.

A ce jour, six médicaments à base de cellules CAR-T autologues disposent d'une AMM. Les deux premiers autorisés sont : Tisagenlecleucel Kymriah (Novartis) et Axicabtagène ciloleucel Yescarta (Kyte-Gilead), pour des indications très ciblées : Leucémie aigüe lymphoblastique (LAL) en rechute ou réfractaire de l'enfant et de l'adulte de moins de 25 ans (moins de 100 patients par an) et lymphome agressif en rechute ou réfractaire (environ 500 patients par an).

Ces deux pathologies, lorsqu'elles sont en rechute ou réfractaires ne sont généralement pas des indications d'allogreffe (leur évolution est trop rapide pour pouvoir attendre l'effet du greffon contre la maladie, principal effet anti-tumoral de l'immunothérapie allogénique), donc il n'y a pas à ce jour de véritable concurrence avec l'allogreffe.

Les médicaments de ce type, autorisés plus récemment sont : Lisocabtagène maraleucel (Breyanzi, BMS) en 2<sup>ème</sup> ligne dans les LNH DLBCL, Brexucabtagène autoleucel (Tecartus ; Kite – Gilead) et deux anti-BCAM : Idecabtagène vicleucel (Abecma, BMS), et Ciltacabtagène autoleucel (Carvikty, Janssen Pharmaceutocals) pour les patients atteints de myélome en échec des autres thérapeutiques autorisées. Ceci pourrait évoluer si des indications plus précoces, notamment dans la leucémie aigüe lymphoblastique (LAL), étaient identifiées par les protocoles en cours (phase II/III).

Ces thérapeutiques sont en constante évolution et diversification, et il existe déjà des traitements ciblés concurrents des cellules CAR-T: de nouveaux anticorps monoclonaux bispécifiques ou en association avec d'autres traitements (pour les patients atteints de myélome notamment).

Ces thérapeutiques sont extrêmement coûteuses, et la communauté médicale et scientifique s'interroge sur :

- La pertinence des coûts de fabrication par les industriels ;
- La soutenabilité de tels traitements par les systèmes de santé ;
- L'opportunité de développement de cellules CAR-T à moindre coût par les laboratoires académiques, afin d'améliorer l'accessibilité à ces traitements.

Dans l'avenir, pourraient apparaître des cellules CAR-T régulatrices pour la tolérance en greffe d'organes, ainsi que des cellules CAR-T issues d'autres types cellulaires (notamment de sang placentaire) pour améliorer les résultats de l'immunothérapie cellulaire des hémopathies, ainsi que des cellules CAR-T provenant de lymphocytes allogéniques de donneurs anonymes.

Les cellules CAR-T allogéniques sont des lymphocytes T génétiquement modifiés issus de donneurs sains. Ils ont l'avantage d'être disponibles à la demande, d'avoir un coût de production réduit et une plus grande maîtrise du produit final en termes de composition des cellules T par rapport aux cellules CAR-T autologues. Les problématiques associées à cette technique sont le risque de réaction du greffon contre l'hôte (GVH) et celui d'une faible persistance. Plusieurs essais cliniques ont montré la faisabilité et l'efficacité des cellules CAR-T allogéniques issues de donneurs de cellules souches hématopoïétiques (CSH) dans les leucémies aiguës lymphoblastiques. Deux principaux essais cliniques ont été rapportés chez l'enfant et l'adulte avec des cellules CAR-T allogéniques issues de donneurs sains, ayant été modifiées par une technique d'édition du génome pour réduire le risque de

GVH. L'efficacité de ce traitement, notamment la persistance de ces cellules, semble en partie liée à l'intensité de la chimiothérapie de lympho-déplétion préalable à la réinjection des cellules.

La réglementation actuelle impose la restriction de l'utilisation des cellules CAR-T à des centres expérimentés et dotés de moyens humains et techniques très spécifiques à l'activité, notamment en termes d'accès à la réanimation, aux traitements des complications et au suivi rapproché des patients.

Les ressources en moyens humains, logistiques et d'hébergement pour la prise en charge des patients traités par cellules CAR-T dans les CHU et CLCC déjà actifs sont en très grande majorité les mêmes que celles dédiées à l'activité de greffe allogénique (équipes de greffe, de réanimation, d'IDE, de collecte de cellules par cytophérèse, de laboratoire de thérapie cellulaire, de recueil des données et de plateaux techniques). Il existe un risque réel de saturation des équipes et de retard d'enregistrement des données de greffe.

De nombreux autres produits sont actuellement en cours de développement dans le cadre des essais cliniques et des demandes d'avis scientifiques sont enregistrées par l'agence européenne du médicament ce qui rend compte d'un domaine très actif et très compétitif pour la recherche française et les start-up souvent à l'origine de ces développements ([http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/general/general\\_content\\_000049.jsp&mid=WC0b01ac05800229b9](http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/general/general_content_000049.jsp&mid=WC0b01ac05800229b9)). Ce champ présente également des enjeux majeurs dans le domaine économique au regard des coûts élevés de développement et, en conséquence, des possibilités d'accès à ces traitements pour les patients français.

A côté du domaine de l'immunothérapie du cancer à partir des cellules CAR-T, il faut signaler l'émergence d'autres immunothérapies cellulaires avec des MTI comme l'utilisation des cellules souches mésenchymateuses pour le traitement de la GVH en pédiatrie ou dans le traitement de certaines maladies auto immunes, ou bien des lymphocytes allogéniques anti viraux pour traiter les infections virales graves en post-greffe. Dans ce dernier domaine, une étude européenne de phase III, de grande envergure, "TRACE", est en cours et est destinée à évaluer la faisabilité et l'efficacité d'un traitement par lymphocytes "triple antiviraux" contre le cytomegalovirus (CMV), le virus Epstein-Barr (EBV) et l'adénovirus.

Les infections et réactivations virales opportunistes sont en effet des facteurs importants de morbidité chez les patients greffés. L'immunothérapie par transfert adoptif de lymphocytes T cytotoxiques antiviraux (CTL) permet de pallier le défaut de reconstitution immunitaire antivirale en post-greffe. Si leur efficacité et leur sécurité d'emploi restent à évaluer par des essais sur de larges cohortes randomisées, les études actuelles offrent des résultats encourageants, montrant une faible incidence de réaction du greffon contre l'hôte (GVHD) et une réponse antivirale globale robuste. L'accumulation de ces données tend à suggérer l'inclusion du traitement par CTL antiviraux dans des stratégies de prise en charge plus précoce des infections virales post-greffe, comme les infections au virus Epstein-Barr (EBV) (recommandations de l'ECIL-6). À l'avenir, le développement de CTL multi-virus et le couplage à la technologie des récepteurs chimériques (CAR) promettent un élargissement du champ d'application des CTL antiviraux.

### ***Domaine cardio-vasculaire***

L'ensemble des études et méta-analyses rendent compte d'un apport modeste mais hautement probable de la thérapie cellulaire pour l'amélioration de la fonction cardiaque, justifiant pleinement la poursuite des études cliniques au regard notamment de la taille des populations concernées et des retombées éventuelles en termes de santé publique.

### ***Thérapie cellulaire***

Malgré un développement continu de la recherche sur l'utilisation de la thérapie cellulaire dans le traitement de l'insuffisance cardiaque, son bénéfice reste à établir. Au cours des deux dernières décennies, différents types de cellules souches mésenchymateuses issues principalement de la moelle osseuse, du sang de cordon ombilical ou du tissu adipeux ont été évalués. Une amélioration de la fonction ventriculaire gauche, de la survenue des événements cliniques ou de la qualité de vie ont été

rapportées dans différentes études de phase I-II. Ces signaux encourageants n'ont pas été confirmés dans de larges études randomisées contrôlées multicentriques de phase III, qu'il s'agisse de patients avec des cardiopathies ischémiques ou d'une autre étiologie. Les résultats de la grande étude de phase III réalisée en Amérique du nord (DREAM-HF) n'ont toujours pas été publiés. Par ailleurs, il ne semble pas que les traitements utilisant des cellules souches adultes soient associés à des problèmes de sécurité.

D'après le registre du National Institute of Health (clinicaltrials.gov) 22 études cliniques sur la thérapie cellulaire dans l'insuffisance cardiaque sont en cours.

### ***Thérapie génique***

L'insuffisance cardiaque peut être due à la fois à une diminution du nombre de cellules myocardiques, les cardiomyocytes, et à un dysfonctionnement de ces cellules. Le transfert à l'intérieur du cardiomyocyte d'un gène codant pour une protéine impliquée par exemple dans l'homéostasie du calcium pourrait améliorer sa fonction contractile. L'utilisation de nouveaux vecteurs viraux a donné un nouvel élan à une approche thérapeutique qui avait été mise de côté pour des raisons principalement de sécurité.

A côté de ces traitements impliquant une modification de l'ADN, les thérapies à ARN, remises en lumière par le succès des vaccins à ARN messager apparus récemment avec la pandémie de COVID-19, continuent leur développement. Les principaux ARN thérapeutiques sont les ARN interférents qui bloquent spécifiquement la synthèse d'une protéine en se liant à son ARN messager, et les oligonucléotides antisens qui modifient la transcription des ARN messagers en protéine. Actuellement, deux ARN interférents bloquant la production de transthyréine dans le foie sont disponibles pour le traitement de l'amylose héréditaire à transthyréine qui est une indication rare de greffe cardiaque.

**- 2 -**

**Les progrès dans le champ de la  
procréation, de l'embryologie et de  
la génétique**



## 2. Les progrès dans le champ de la procréation de l'embryologie et de la génétique

Les progrès médicaux, scientifiques et techniques qui concernent le champ de la procréation de l'embryologie et de la génétique sont tout particulièrement sensibles, parce qu'ils engagent des enjeux éthiques et sociétaux de première importance. Au-delà des progrès des techniques de l'assistance médicale à la procréation, et alors que la prise en charge des familles est renforcée par les améliorations que connaissent les activités de diagnostic prénatal et préimplantatoire, une attention toute particulière doit être portée aux bouleversements que pourraient entraîner les avancées en cours dans le champ des dépistages néonataux et des examens des caractéristiques génétiques.

### 2.1 Assistance médicale à la procréation

L'AMP fait face à la question scientifique et médicale de l'infertilité. Les progrès issus des recherches sur la physiopathologie de l'infertilité ne pourront que nourrir une meilleure prise en charge des personnes ayant recours aux techniques d'AMP dont l'efficacité n'en demeure pas moins susceptible d'améliorations. L'extension des techniques d'AMP soulève aussi un défi tant au plan organisationnel que méthodologique.

#### 2.1.1 Progrès attendus en AMP

##### *Les bases moléculaires des infertilités*

L'effort de recherche est aujourd'hui concentré sur l'amélioration des connaissances concernant les bases moléculaires des infertilités. Une cause génétique est évoquée dans au moins 50% des cas. Un nombre croissant de gènes candidats impliqués dans l'infertilité sont identifiés grâce aux progrès des technologies d'exploration à haut débit du génome. L'établissement de corrélations entre le phénotype (l'expression du trouble de la reproduction) et le génotype (les variations observées dans le génome) sur de grandes cohortes de patients est un préalable pour poser les hypothèses thérapeutiques et une prise en charge des personnes et de leur famille.

##### *Les organoïdes, modèles de culture se rapprochant d'une fonctionnalité d'organe*

D'autres influences éminemment multifactorielles contribuent au phénotype d'infertilité. Une meilleure compréhension de ces facteurs et de leur intrication participera à une meilleure classification des pathologies et un ajustement de l'approche thérapeutique à chaque cas. Dans ce contexte, il importe de signaler les retombées attendues des recherches portant sur les organoïdes. A la différence des cultures in vitro en environnement plat, les organoïdes sont formés à partir de cellules qui s'auto organisent dans un environnement 3D adapté constituant des structures qui miment certaines fonctionnalités d'organe, en présence de facteurs de croissance et de différenciation dont la nature, la quantité et la fenêtre d'exposition vont guider la constitution future des organoïdes. Outils de recherche, les organoïdes pourraient aider à la compréhension des mécanismes de la physiologie de la reproduction et de la physiopathologie des infertilités pour bâtir de nouvelles voies thérapeutiques dans l'avenir. Ainsi, la génération d'organoïdes à partir de biopsies de l'endomètre pourraient mieux modéliser le rôle de l'endomètre lors des échecs itératifs de FIV en adaptant les traitements hormonaux.

##### *L'obtention de cellules gamétiques à partir de cellules souches*

Les cellules souches conduisent à deux grands types de cellules constitutives de l'individu, les cellules germinales considérées comme « immortelles » dans le sens où elles sont indispensables à la survie de l'espèce et les cellules somatiques « mortelles » s'agissant de la survie de l'individu. Le défi scientifique actuel porte sur la possibilité d'obtention de cellules germinales à partir de cellules souches et ensuite la maturation fonctionnelle de ces cellules germinales en gamètes, ovocytes ou

spermatozoïdes. En situation d'infertilité, cette source d'obtention de gamètes s'inscrit dans un équilibre oscillant entre la non disponibilité de gamètes en intra conjugal, la possible difficulté d'obtention des gamètes d'un tiers, et la faveur donnée à la procréation d'un enfant génétiquement apparenté. Si les recherches actuelles ont commencé à identifier des facteurs protéiques ayant un rôle d'inducteur de la différenciation des cellules souches en cellules germinales, la maturation en gamètes fonctionnels reste encore une prochaine étape à franchir.

### **La vitrification ovocytaire et embryonnaire**

La possibilité de mener des recherches en AMP comportant le transfert de l'embryon dans l'utérus à des fins de grossesse suit un dispositif législatif et réglementaire ayant permis d'intégrer la recherche en AMP dans le cadre général des recherches biomédicales avec des garanties propres (décret 2015-155 du 11 février 2015 pris en application de la loi 2016-41 du 26 janvier 2016 de modernisation de notre système de santé). Les protocoles de vitrification ovocytaire ou embryonnaire, les protocoles de préservation de la fertilité et les modifications des conditions de culture ont fait l'objet de nombreuses études ayant permis de mieux baliser leur utilisation.

Deux méthodes sont disponibles en matière de cryoconservation des embryons ou des ovocytes : la congélation lente et la vitrification. La vitrification est une méthode de congélation ultra-rapide par laquelle un liquide se transforme en solide sans formation de cristaux ; elle fait appel à des solutions de congélation différentes de celles utilisées dans les techniques classiques de congélation. Si la congélation lente reste encore utilisée pour la congélation des tissus germinaux, pour celle des spermatozoïdes, la vitrification commence à être mise en œuvre, et de nos jours représente la technique de référence pour la congélation ovocytaire et pour la congélation embryonnaire (quel que soit le stade de clivage embryonnaire). La vitrification ovocytaire s'inscrit donc, tant dans le champ du don d'ovocytes permettant de dissocier l'acte du don de celui de l'utilisation de tout ou partie des ovocytes chez une receveuse, que dans le champ de la préservation de la fertilité pour raison médicale. La vitrification ovocytaire s'applique aussi dans le cadre de l'autoconservation ovocytaire. En dehors de ces situations, la vitrification d'une partie de la cohorte ovocytaire prélevée a également été envisagée au cours d'une fécondation *in vitro*. L'objectif poursuivi est de limiter le nombre d'embryons surnuméraires conservés.

### **La conservation de tissus germinaux**

Tissu ovarien :

- Développée comme modalité de préservation de la fertilité tant chez la fille avant la puberté que chez la femme jeune, la capacité des follicules de petite taille à résister à la congélation, puis à reprendre leur développement après greffe soit dans la loge ovarienne soit dans un autre site a été largement confirmée, même si le nombre d'enfants nés à la suite d'une autogreffe de tissu ovarien reste limité, que ce soit après grossesse naturelle ou après une assistance médicale à la procréation. En France, 4329 prélèvements de tissu ovarien sont conservés au 31 décembre 2021 et selon les données du Groupe de Recherche et d'Etude de la Conservation de l'Ovaire et du Testicule (GRECOT), au 31 décembre 2022, 23 centres ont réalisé, en cumulatif, 210 greffes chez 185 femmes conduisant à 81 grossesses chez 60 d'entre elles avec 59 naissances vivantes dont 83% des grossesses obtenues naturellement.
- Un enjeu majeur actuel, en cours d'évaluation, concerne les situations de préservation de la fertilité comportant un risque de maladie résiduelle au niveau du tissu greffé. La recherche de cellules résiduelles qui dans certains types de cancer auraient pu venir se localiser dans le tissu auto conservé est un préalable à l'auto transplantation chez la patiente au moment de sa demande de restauration de sa fertilité.

Tissu testiculaire :

- Autant l'autoconservation de spermatozoïdes a pu être, du fait de la capacité à les congeler, proposée très tôt chez le garçon pubère ou l'homme adulte confronté à un traitement stérilisant, autant la préservation de la fertilité chez le garçon avant la puberté garde un caractère expérimental. En effet, contrairement à la fille avant la puberté chez laquelle il est possible de

préserver la population des petits follicules puisqu'elle a été constituée avant la naissance, le garçon avant la puberté n'a pas démarré sa spermatogenèse. La congélation de tissu testiculaire concerne alors seulement des spermatogonies, parmi lesquelles se trouve une population de cellules germinales véritablement souches. La restauration d'une spermatogenèse *in vivo* dépend dans ces conditions de la capacité à réintroduire cette population cellulaire dans les tubes séminifères désertés à la suite du ou des traitements stérilisants. Techniquement possible chez les murins, cette transplantation n'est pas encore réalisable chez l'homme, mais des résultats encourageants sont rapportés chez le primate non hominien.

### ***L'évolution des méthodes de culture embryonnaire***

Elle a été marquée ces dernières années par l'utilisation croissante d'incubateurs de taille réduite (mini-incubateurs) permettant une régulation plus fine et plus rapide de certains paramètres (pH, température, pression partielle des gaz). A ces dispositifs s'est ajouté un système d'observation en continu permettant d'appréhender les événements postérieurs à la fécondation avec une grande précision chronologique. La plus-value revenant respectivement aux conditions de culture mieux contrôlées et à l'observation cinétique des événements reste à déterminer sur le plan scientifique. Cette dernière méthode fait l'objet d'une évaluation dans quelques centres.

### ***Le diagnostic préimplantatoire des aneuploïdies (DPI-A)***

Afin d'optimiser les résultats de l'AMP, en termes de délai pour obtenir une grossesse et de taux d'accouchements attendu par cycle, une attention a été portée sur les anomalies de nombre des chromosomes (aneuploïdie) pourvoyeuses d'échecs d'implantation et de fausses-couches précoces. La fréquence de survenue de ces anomalies augmente avec l'âge de la femme au moment de la conception. Certaines de ces anomalies chromosomiques peuvent être présentes à l'état de mosaïque, c'est-à-dire avec un taux variable de cellules embryonnaires porteuses de l'anomalie, population cellulaire dont le devenir au cours du développement est difficile à apprécier. Ainsi en France, au regard des données de la littérature internationale, il est envisagé dans le cadre d'un programme hospitalier de recherche clinique, de mieux cerner les caractéristiques de la population de femmes bénéficiant d'une FIV pour laquelle une biopsie de cellules embryonnaires au stade blastocyste pourrait être proposée à la recherche d'anomalies de nombre des chromosomes à l'origine d'échecs d'implantation ou de fausses couches précoces. Au niveau technique, grâce à la performance d'analyse des outils génomiques, plusieurs travaux sont orientés vers une approche non invasive privilégiant le milieu de culture embryonnaire au sein duquel les cibles d'acides nucléiques sont retrouvées évitant ainsi une biopsie de l'embryon. Une telle approche rendra manifestement plus opérationnelle, en termes de faisabilité, l'accès au génome des embryons en culture (voire aussi au transcriptome ou ensemble des séquences transcrites du génome), véritable source de nouvelles connaissances sur le développement précoce.

## **2.1.2 Perspectives organisationnelles et méthodologiques**

### ***Prévalence de l'hypofertilité et prospective de la demande d'AMP***

Depuis une quinzaine d'années, les épidémiologistes évoquent une possible détérioration de la fertilité masculine mesurée notamment par les caractéristiques spermatiques chez les candidats au don de spermatozoïdes. Plus récemment, une étude réalisée à partir des données du registre FIVNAT entre 1985 et 2005 a retrouvé une diminution significative de la concentration des spermatozoïdes chez des conjoints de patientes présentant une indication tubaire de fécondation *in vitro*, de 1,9% par an sur l'ensemble de la période. Cette détérioration serait susceptible d'altérer la fécondabilité des couples, c'est-à-dire les chances de conception pour un couple qui tente d'avoir un enfant. Par ailleurs, les démographes constatent que l'âge auquel les femmes souhaitent leur premier enfant ne cesse d'augmenter. Il a gagné près de 5 ans ces trente dernières années. La modélisation de la baisse de la

qualité du sperme des hommes et de l'augmentation de l'âge des femmes lors de leur première grossesse démontre que ces variables ont un faible impact sur le nombre final d'enfants par femme, mais qu'elles risqueraient d'accroître fortement la demande de procréation médicalement assistée. Le modèle publié par des chercheurs de l'INED en 2008 révèle ainsi qu'une baisse de 15% de la fécondabilité des hommes entraînerait un bond de 73% d'éligibilité à l'AMP. Cette tendance serait encore plus marquée si l'on ajoute le report des grossesses ; sous l'hypothèse où l'âge moyen à la maternité passait à 33 ans, on constaterait une hausse de près de 80 % d'éligibilité à l'AMP, avec ainsi plus d'un couple sur cinq concerné. Ainsi, si la fécondité de la population française n'est pas menacée à court terme par la baisse de la fécondabilité et l'âge plus avancé des mères, ces études suggèrent que les difficultés individuelles à concevoir pourraient aller en augmentant, entraînant un recours accru à l'AMP (cf. rapport sur les troubles de la fertilité : état des connaissances et pistes pour la recherche. Rapport fourni par l'Inserm et l'Agence de la biomédecine au Parlement conformément à l'art. 51 de la loi n°2011-814 du 7 juillet 2011). A nouveau, la teneur de tels enjeux et orientations nécessitera de repenser et d'anticiper les modalités d'offre de soins en AMP.

L'information insuffisante sur la biologie de la reproduction et les causes de la baisse de la fertilité peut être à l'origine d'une infertilité involontaire. C'est pourquoi **la prévention est primordiale** dans ce domaine afin d'éviter les désillusions liées à des problèmes reproductifs. L'éducation à la fertilité humaine est donc nécessaire pour favoriser la santé reproductive en divulguant des informations, entre autres, relatives à l'impact de l'âge, du mode de vie et des facteurs environnementaux sur la fertilité ainsi que sur la santé sexuelle. Afin de sensibiliser à la prévention un public jeune et/ou en âge de procréer, et de promouvoir une éducation à la santé reproductive basée sur des preuves scientifiques, un groupe de travail international, réunissant des experts sous l'égide de l'ESHRE (European Society of Human Reproduction and Embryology) a fondé en 2020 l'IFEI (International Fertility Education Initiative).

### ***L'organisation du suivi de la santé des femmes et des enfants en AMP***

Les données de la littérature concernant les issues de grossesse et l'état des enfants font l'objet de controverses notamment pour ce qui concerne le lien entre morbidité néonatale et le statut d'infertilité des patients ou la pratique d'AMP par elle-même. L'Agence de la biomédecine a développé une cohorte rétrospective et exhaustive pour le suivi à moyen et à long terme de la santé des femmes et des enfants conçus dans le cadre d'une fécondation *in vitro*, dont les résultats font l'objet de publications dans la littérature internationale.

La cohorte FERTICOH French Assisted Reproductive Technology Investigation Cohort a été construite à partir du Système National des Données de Santé (SNDS), qui regroupe les données d'hospitalisation, d'affectation de longue durée (ALD) et de consommation de soins de 99% de la population vivant en France. Les diagnostics d'hospitalisations, les actes de transfert d'embryons, les actes biologiques, et les traitements ont été extraits. La cohorte inclus à ce jour, environ 280 000 femmes ayant eu au moins une ponction ovocytaire entre 2013 et 2021.

L'Agence de la biomédecine collabore avec un groupe de travail réunissant des professionnels de l'AMP (cliniciens, biologistes et épidémiologistes) et des représentants d'associations de patients pour continuer à conduire des études s'intéressant à la survenue de différentes altérations de la santé chez les femmes et les enfants à partir de ces données.

En comparant avec les données existantes dans la littérature scientifique internationale, il se confirme que la FIV, voire que la technique spécifique de FIV employée, pourrait avoir un impact sur la santé des femmes et des enfants.

Les biais d'interprétation sont nombreux et les mécanismes impliqués dans la survenue des altérations observées sont encore mal connus et restent à investiguer. Le rôle des perturbations de régulations épigénétiques est le plus souvent évoqué. C'est dans ce contexte que l'Agence de la biomédecine envisage de concevoir une fiche d'information explicite et adaptée à destination des patients sur ces risques potentiels.

### ***Une expérience de pensée : le don de corps entier à des fins de gestation***

Au cours des dernières années, il a été fait état d'un certain nombre de cas où des femmes enceintes ont été victimes d'un événement catastrophique qui les a laissées en état de mort cérébrale. Ces femmes en état de mort cérébrale ont été maintenues sous ventilation prolongée pendant des semaines ou des mois, jusqu'à ce que le bébé puisse être mis au monde.

Une expérience de pensée, initialement présentée en 2000 dans un article de la revue *Theoretical Medicine and Bioethics* par Rosalie Ber (Faculté de Médecine, Haïfa, Israël), a été reprise et adaptée en novembre 2022 dans la même revue par Anna Smajdor (Université d'Oslo, Norvège) explicitant l'utilisation du corps d'une personne en état de mort cérébrale pour mener une grossesse et la mise au monde d'un enfant. Il s'agit bien d'une expérience de pensée, toujours à titre d'hypothèse, dans le contexte du système encadrant le don d'organes à partir de prélèvements issus de personnes en état de mort cérébrale et face aux tensions éthiques relatives à la maternité de substitution.

Le don de corps entier à des fins de gestation n'est pas une intervention qui permet de sauver des vies. Toutefois, certains organes et tissus transplantables ne sauvent pas directement la vie mais peuvent améliorer la qualité de vie d'une personne. Dans un certain sens, le don de corps entier à des fins de gestation pourrait être décrit plus précisément comme "aidant quelqu'un à vivre", puisqu'il permettrait la création d'une nouvelle vie, pour des personnes présentant des contre-indications médicales évidentes à la grossesse ou qui n'ont pas d'utérus.

La perspective d'un tel don revisite la question cruciale du consentement, face à l'attitude des gens à l'égard de leur corps après la mort, et le souhait que certaines personnes pourraient, dans des circonstances spécifiques, envisager de devenir donneur dans une fin de gestation.

Dans l'état actuel des connaissances, beaucoup reste à apprendre au sujet de la survie somatique prolongée, l'implantation embryonnaire, l'initiation, le maintien de la grossesse, et la mise au monde d'un enfant chez une femme en état de mort cérébrale.

L'inconfort éthique soulevé par cette expérience de pensée est à mesurer par rapport à l'évolution des technologies que nous avons connue à l'orée du développement tant de l'assistance médicale à la procréation que de la greffe d'organes.

## **2.2. Génétique**

Les examens génétiques visent à confirmer le diagnostic d'une affection à caractère génétique chez un sujet malade, à préciser les statuts des apparentés et le risque encouru par un enfant né ou à naître, ou à déterminer si un sujet à risque familial est ou non porteur du gène responsable avant que n'apparaissent les premiers symptômes. Ils peuvent permettre l'identification de facteurs de risque génétique ayant un impact sur la prise en charge thérapeutique de la personne (pharmacogénétique). En France, les examens génétiques sont réalisés uniquement dans des laboratoires autorisés par les agences régionales de santé par des praticiens agréés par l'Agence de la biomédecine; ils ne peuvent être prescrits et réalisés que dans l'intérêt d'une personne ; ils doivent faire l'objet d'une information éclairée lors d'une consultation dédiée et d'un consentement écrit du sujet. Un effort d'information du public s'impose tout particulièrement, en lien avec la disponibilité de nouvelles technologies et l'invasion des autotests génétiques sur internet, en accès libre, sans intermédiaire médical. C'est pourquoi, l'Agence de la biomédecine a mis en ligne en septembre 2014 le site « [genetique-medicale.fr](http://genetique-medicale.fr) ». Ce site pédagogique grand public, régulièrement mis à jour, vise à apporter une information validée par les professionnels de la génétique.

### **2.2.1 Les études pangénomiques**

Les technologies actuelles, dont les coûts diminuent régulièrement, permettent des études sur le génome entier, qu'il s'agisse des analyses chromosomiques sur micro réseau ADN ou puces à ADN (*array CGH*) et maintenant par technique de cartographie optique ou des méthodes de séquençage

haut débit (NGS ou *Next Sequencing Generation*). Le séquençage haut débit peut cibler soit les régions codantes des 25 000 gènes, il s'agit de l'exome (WES ou Whole Exome Sequencing) soit la totalité des régions géniques et inter géniques, il s'agit alors du génome (WGS ou Whole Genome Sequencing). Si la plus grande part des mutations causales siège dans les régions codantes des gènes, les outils pangénomiques démontrent que des altérations de régions non codantes, inter géniques où sont situés des signaux de régulation de l'expression génique contribuent à la survenue de maladies génétiques. Ces approches pangénomiques sont utilisées principalement lorsque les données cliniques ne permettent pas d'identifier une cause génétique spécifique et qu'un recours à un examen sur un panel de gènes voire l'exome ou le génome entier est alors proposé afin d'éviter l'errance diagnostique.

Ces examens pangénomiques sont de plus en plus utilisés, dans le cadre de l'étude des caractéristiques génétiques **constitutionnelles**, mais aussi dans le cadre des caractéristiques génétiques **somatiques** principalement sur les tumeurs cancéreuses pour cibler les meilleurs traitements et adapter le suivi.

De par leur capacité à décrypter un très grand nombre de variations du génome, l'usage de ces examens soulève des interrogations essentielles. En premier lieu, la découverte d'un résultat sans relation directe avec l'indication initiale de l'examen est **une donnée supplémentaire, incidente**, de découverte fortuite dont la gestion nécessite des recommandations professionnelles de bonne pratique élaborées en lien avec l'Agence de la biomédecine, au bénéfice des patients et de leur famille, en termes d'information et de consentement à l'accès à ce type d'informations. Il importe de s'assurer de l'utilité clinique de la révélation de telles données supplémentaires, pour une prise en charge médicale adaptée. En second lieu, l'interprétation des variations génétiques en termes de causalité demeure parfois complexe et de nombreuses variations sont catégorisées **VSI ou variations de signification incertaine** ne pouvant pas être exploitées pour une prise de décision. Toutefois, la plus grande disponibilité des outils pangénomiques nourrit les connaissances sur ces VSI et des reclassements sont alors opérables. La préoccupation portera sur les capacités de réanalyse en termes d'organisation et d'information des patients. Manifestement, en sus de l'information éclairée des patients sur les enjeux complexes de ces examens, une formation des professionnels non familiers des examens génétiques est une condition centrale au sein du parcours de soin.

**Le plan France médecine génomique 2025** a prévu la création de 12 plateformes de séquençage génomique à haut débit. Les deux premières, la plateforme SEQOIA (Paris) et la plateforme AURAGEN (Lyon) sont opérationnelles et effectuent les activités NGS (exome, génome, RNAseq) pour les préindications reconnues à ce jour, en lien étroit avec les filières de prise en charge du **Plan national maladies rares** et de l'Institut national du Cancer (60 pour les maladies rares, 2 en oncogénétique et 8 en cancérologie). Ces plateformes conduisent à une réorganisation de l'offre de soins qui va utiliser les réseaux des laboratoires de génétique déjà bien structurés sur le territoire afin d'apporter leurs contributions en termes d'expertise d'interprétation des résultats des examens NGS.

Au-delà des maladies rares, **les maladies « communes »** (affections cardiovasculaires, psychiatriques, métaboliques) font activement l'objet d'études pangénomiques avec l'utilisation, encore préclinique, **de score de risque polygénique**, une mesure agrégée de nombreuses variations distribuées sur l'ensemble du génome, pondérées par leur effet individuel sur un phénotype donné dans le but de prédire le risque de la maladie. De plus en plus, les dossiers médicaux électroniques sont reliés aux données génétiques des patients dans les biobanques, ce qui offre de nouvelles possibilités de recherche afin de développer des scores de risque polygénique, pour évaluer la susceptibilité des patients à la maladie.

## 2.2.2 Examens de pharmacogénétique

La pharmacogénétique est l'étude de l'origine génétique de la variabilité de réponse aux médicaments : elle permet d'identifier, pour un médicament donné, les sujets répondeurs et non répondeurs, ceux à risque de survenue d'un effet indésirable, et de prévoir la dose la plus adaptée à chaque individu. On distingue la pharmacogénétique somatique, qui correspond à la prédiction de réponse d'une tumeur (selon son profil génomique) à un traitement, de la pharmacogénétique constitutionnelle, où les

caractéristiques génétiques de la personne permettent de prédire sa réponse à un médicament (exemple anticoagulant). Il importe de souligner que ce type d'examen génétique s'inscrit dans un « couple patient-médicament ». La variation génomique peut être fréquente dans la population générale, mais n'aura d'impact que si l'individu prend un médicament dont l'action est sensible à cette variation. Il s'agit d'un domaine en fort développement pour lequel chaque examen de pharmacogénétique proposé doit faire la preuve d'une utilité clinique avérée.

### 2.2.3 Examens génétiques en population générale

Un examen génétique en population générale est un réel changement de paradigme dans la pratique médicale qui jusqu'alors privilégiait la prescription d'un examen génétique chez une personne présentant des symptômes évocateurs d'une maladie génétique ou en raison d'antécédent familial d'une maladie génétique identifiée ou suspectée. Ainsi, cet examen s'adresse à des personnes a priori cliniquement asymptomatiques et sans tenir compte des antécédents familiaux.

Une méta-analyse de la littérature au sujet des tests portant sur les gènes *BRCA* de prédisposition au cancer du sein et au cancer de l'ovaire dans la population juive Ashkénaze (individus asymptomatiques) confirme que dans cette population à risque (certaines mutations plus fréquentes) le dépistage est efficace, bien perçu et avec une réelle efficacité médico-économique. La question du dépistage en population pan ethnique est alors soulevée et sollicitée à l'aide d'études pilotes (Manchada et al, 2018).

Les outils actuels de criblage et d'analyse du génome et la baisse inéluctable et attendue de leurs coûts donnent l'occasion de se pencher sur une démarche plus large, en population générale, relevant d'un dépistage de variations pathogènes dans des gènes responsables de maladies génétiques dominantes pour lesquelles il est considéré qu'il existe une utilité clinique à les révéler à l'individu qui se prête à ce dépistage. L'utilité clinique traduit la capacité d'action (résultat exploitable ou « actionnable ») sur **la santé personnelle de l'individu** (bénéfice clinique net par rapport au risque de la maladie en mettant en œuvre un suivi médical adapté, selon des recommandations actualisées de bonnes pratiques, en tenant compte des bénéfices et inconvénients du suivi).

Il s'agira donc de s'accorder sur les gènes-maladies qui seront candidats à cette analyse pour répondre à l'enjeu de mise en place de mesures adaptées et efficaces de soins en situation préventive. Les études internationales diffèrent sur le nombre et le type de ces gènes candidats. A nouveau, l'identification de variations de type VSI devra être prise en considération s'agissant d'une analyse en population générale avec le biais de nos connaissances encore limitées sur les variations génomiques de certaines populations jusqu'alors très peu étudiées.

Un autre pan de la réflexion devra porter sur les maladies génétiques de survenue pédiatrique qui dans ce contexte d'utilité clinique pourraient trouver leur place. Il importe de souligner que seules ces affections devraient être dépistées chez l'enfant et non celles survenant à l'âge adulte pour laisser à l'individu majeur toute l'autonomie de décider de réaliser ce type d'examen. « The BabySeq project » (Ceyhan-Birsoy et al, 2019) est une étude pilote randomisée explorant les impacts médicaux, comportementaux et économiques du séquençage génome entier (WGS) effectué chez 159 nouveau-nés dont 127 en bonne santé et 32 hospitalisés en service de réanimation néonatale. Il est rapporté un risque de maladie de survenue pédiatrique ayant un impact clinique en termes de soins pour 9,4 % des nouveau-nés (15/159) et aucune de ces maladies n'étaient suspectées au regard des données cliniques ou familiales concernant ces nouveau-nés.

Ce dernier point rapproche du **dépistage néonatal**, démarche de santé publique visant à rechercher chez l'ensemble des nouveau-nés certaines maladies rares mais graves, d'origine génétique pour la plupart. L'enjeu est de mettre en œuvre, avant l'apparition de symptômes, des mesures appropriées afin d'éviter ou de limiter les conséquences négatives de ces maladies sur la santé des enfants. En France, ce dépistage fait l'objet d'un programme national. A côté des six maladies recherchées par des tests biologiques réalisés à partir d'une goutte de sang recueillie sur papier buvard (la phénylcétonurie, l'hypothyroïdie congénitale, la drépanocytose, l'hyperplasie congénitale des surrénales, la

mucoviscidose et le déficit en acyl-CoA déshydrogénase des acides gras à chaînes moyennes (MCAD)), le dépistage depuis le 1<sup>er</sup> janvier 2023 s'est étendu à 7 autres maladies dues à des erreurs innées du métabolisme. Si toutes ces maladies sont dépistées par des techniques de biochimie (spectrométrie de masse en tandem), l'utilisation de l'examen génétique dans le dépistage est une opportunité pour d'autres maladies, sans marqueur biochimique décelable, qui pourraient bénéficier d'un dépistage précoce au regard des progrès thérapeutiques actuels (exemple de l'amyotrophie spinale liée au gène *SMA1*).

A cet égard, outre-Manche (NHS et Genomics England), un programme de recherche clinique incluant 20 000 nouveau-nés, élaboré conjointement avec les parents, les personnes atteintes d'une maladie génétique rare, les professionnels de santé et des experts, vise à explorer l'offre de séquençage du génome entier à tous les nouveau-nés. L'objectif est d'accélérer le diagnostic et l'accès aux traitements pour un ensemble de maladies génétiques rares survenant dans l'enfance et pouvant donner lieu à une intervention susceptible d'améliorer la santé au cours des premières années de leur vie.

Un pas plus loin, de façon audacieuse, le programme envisage d'étudier le potentiel d'un dossier génomique à vie. Le stockage en toute sécurité des génomes des bébés, quel que soit le résultat du dépistage néonatal, pourrait conduire à une ré-analyse en cas de besoin, ce qui permettrait d'accéder aux nouveaux développements de la génomique tout au long de leur vie et d'apprécier l'impact sur leurs soins cliniques futurs.

La démarche en population générale peut aussi s'appliquer sur **la santé reproductive de l'individu**, en situation préconceptionnelle. **L'examen génétique préconceptionnel** s'attache à identifier les individus « porteurs » d'allèles récessifs, d'un gène autosomique ou d'un gène lié au chromosome X, sans conséquence sur la santé de l'individu mais pouvant entraîner un risque de maladie pour la descendance de l'individu selon la constitution génétique du partenaire. Le dépistage préconceptionnel a été mis en œuvre dans les années 1970 initialement à l'aide de techniques de biochimie (pour les hémoglobinopathies et la maladie de Tay-Sachs) dans des populations à risque en raison de la fréquence élevée des hétérozygotes porteurs. Progressivement le dépistage génétique, dans certains pays autres que la France, s'est étendu vers des affections fréquentes dans la population générale telles la mucoviscidose, l'amyotrophie spinale et le syndrome de l'X fragile. L'évolution actuelle se fait sur un nombre plus élevé de maladies récessives autosomiques ou liées au chromosome X. A ce jour, il n'y a pas de consensus sur le nombre et le type de maladies étudiées dans les panels, la gravité de la maladie, l'âge de survenue de la maladie, les capacités d'action en termes de soins. Une étude sur 16 kits commerciaux relevait une offre portant sur des panels allant de 41 à 1792 gènes.

Dans tous les cas, **les enjeux considérables** d'une **information** éclairée des personnes afin d'assurer une compréhension du bénéfice d'un tel dépistage nécessiteront une **formation** des professionnels de santé et un **support important en conseillers** en génétique (consultations pré et post examen génétique). Il est aussi évoqué que si le volontariat est de rigueur pour se prêter à ce dépistage en population générale, il persistera un risque inhérent de stigmatisation des personnes atteintes de ces affections dépistées (Kraft et al, 2019).

## 2.2.4 Les autotests génétiques sur internet

La réflexion sur les tests en population générale et l'appropriation qui en sera faite par les institutions sanitaires et médicales doivent tenir compte de l'invasion des autotests génétiques sur internet, en accès libre, sans intermédiaire médical, qui gagne une audience de plus en plus large, dans un subtil et efficace processus de génétisation.

La loi française encadre particulièrement la prescription, la réalisation et le rendu des résultats de tests génétiques. L'objectif de cet encadrement est de protéger les patients et de leur assurer l'information nécessaire, notamment par la mise en place de consultations pluridisciplinaires pour les patients asymptomatiques. Les tests proposés sur Internet sortent de ce cadre, ils sont interdits, la loi prévoit des peines y compris pour les personnes qui y ont recours pour des tiers et pour elles-mêmes.

Initialement mis en œuvre comme test d'orientation géo-génétique, ils constituent une nouvelle grille de lecture sur la personne, réductionniste sur les problématiques de l'identité (au sens où les marqueurs sociaux et historiques de l'identité s'effacent devant l'affirmation des marqueurs génétiques). Dans le domaine de la santé, l'offre de test s'élargit régulièrement d'un nombre croissant de maladies. On relève un discours engageant chacun à devenir entrepreneur de son soi biologique par une attitude prudentielle vis-à-vis de ses risques génétiques. Il existe cependant de préoccupantes réserves en termes d'impératifs de santé publique sur les conséquences de l'accès aux informations génétiques par soi-même (anxiété, troubles psychologiques, mécompréhension de la nature des informations, réassurance trompeuse).

**Ces autotests ont aussi un réel impact sur la recherche en génétique médicale** qui, en partie, se délie des institutions traditionnelles de recherche dans la mesure où les entreprises constituent elles-mêmes leurs propres banques d'ADN (Biobanques) et les exploitent pour produire des résultats. En effet, les utilisateurs de tests peuvent s'ils le souhaitent s'engager dans des projets de "Direct Research" des entreprises, en dehors des institutions de recherche. Ainsi, après avoir vendu 650 000 fichiers au géant de l'industrie pharmaceutique Pfizer en 2015, la firme 23andMe vient de vendre l'intégralité (ou presque) de sa base de données à GlaxoSmithKline pour 300 millions de dollars. A priori, cet échange est fondé sur de bonnes intentions. Ensemble, les deux entreprises comptent utiliser ces données pour développer de nouveaux traitements médicaux. Alors que les entreprises de tests ADN gagnent des sommes considérables avec leurs transactions de données, les consommateurs qui possèdent à l'origine ce qui est vendu ne reçoivent rien. De plus, les consommateurs n'ont aucune notification indiquant où leurs données sensibles sont envoyées ou comment elles sont stockées.

Il s'agit manifestement d'une entrée affirmée d'un biomanagement, management dans le rapport à soi, ses gènes pour sa santé et sa descendance dont on est alors rendu responsable. Un double marché s'organise dans la captation de publics acheteurs de tests (publicité de type storytelling, politique marketing, gestion entretenant une réciprocité-familiarité des clients) et dans la gestion des stocks de ressources biologiques accumulées dans les biobanques.

## 2.2.5 L'édition du génome : vers la mise en œuvre de nouvelles thérapeutiques

« Éditer le génome » consiste à ajouter, enlever, modifier une ou quelques bases dans une séquence d'ADN cible. Si la séquence correspond à un gène ou une séquence permettant de moduler son expression, la conséquence en sera une modification de ce gène ou de son niveau d'expression : soit son « annulation », soit sa correction, selon le contexte. En 2013, une technique, appelée **CRISPR - Cas9**, a ouvert tout un champ d'explorations et d'hypothèses d'utilisation à visée thérapeutique en lien avec la possibilité de cibler une région spécifique du génome à l'aide d'une séquence guide (CRISPR) pour assurer une coupure de l'ADN par une endonucléase (Cas9) suivie d'une réparation recombinaison de cette région cible. Si la technique semble aisément accessible, et d'exécution abordable, il existe des effets collatéraux, tels les effets sur la cible avec des remaniements inattendus parfois complexes et aussi des effets hors cible, à distance, avec le risque de modification d'autres séquences du génome. Par ailleurs, les systèmes utilisés sont immunogènes et peuvent être la cible du système immunitaire

de l'hôte et être neutralisés altérant l'efficacité recherchée. Ces risques, non négligeables, ont attiré très tôt l'attention des chercheurs et nécessitent des études complémentaires exhaustives, de mise au point de nouvelles versions d'édition grâce à l'ingénierie biotechnologique et de contrôles réguliers des effets de ciblage sur le génome entier pour assurer l'efficacité et la sécurité de tels outils dans une démarche thérapeutique.

La recherche appliquée actuelle porte sur les possibilités de modifier certains gènes impliqués dans le développement de maladies telles des maladies génétiques constitutionnelles ou d'autres affections comme le cancer. Dans les deux cas, il s'agit de **l'édition du génome de cellules somatiques** évitant ainsi toute transmission de modifications du patrimoine génétique à la descendance.

En oncologie, les recherches et études cliniques portent soit sur le génome propre à la tumeur (modification de certains gènes) soit sur la stimulation de cellules du système immunitaire afin qu'elles s'attaquent massivement et spécifiquement à la tumeur (cellules Car-T), véritable thérapie ajustée à l'individu maximisant l'efficacité tout en réduisant les effets indésirables.

S'agissant des maladies génétiques, actuellement les preuves de concept ont été apportées pour la drépanocytose et la bêta-thalassémie qui provoquent une anémie sévère par défaut d'un gène de l'hémoglobine qui stocke l'oxygène dans les globules rouges. Les essais ont visé à réactiver le gène codant un autre type d'hémoglobine dite fœtale permettant d'assurer une fonction de stockage de l'oxygène. Ce modèle de thérapie *ex vivo* consiste à récupérer des cellules souches hématopoïétiques de l'individu, de les modifier puis de contrôler le ciblage génomique avant l'infusion dans la circulation sanguine des personnes à traiter.

Considérant **l'édition du génome germinale**, elle s'inscrit dans l'édition soit du génome embryonnaire à un stade précoce de son développement soit de cellules germinales. Les deux cas sont *in vitro*, dans un cadre de recherche spécifique, sans visée de gestation. Elle doit être différenciée de **l'édition du génome héréditaire** qui intéresse les cellules germinales ou des embryons dans le cadre de la procréation avec transmission à la descendance des modifications. La naissance rapportée en 2019 de « bébés CRISPR » modifiés génétiquement en Chine a conduit la communauté internationale à réaffirmer l'interdiction de telles pratiques et à élaborer de façon partagée tout un système d'encadrement visant à guider l'évolution des connaissances et leurs applications dans ce domaine (Human Genome Editing, World Health Organization, July 2020). Les enjeux pluriels, scientifiques, médicaux et éthiques porteront entre autres sur la justification médicale de l'utilisation de cette approche dans des indications clairement validées et le cas échéant, sur la mise en œuvre de tout un ensemble de mesures permettant de s'assurer de l'absence de modifications autres que celles souhaitées et d'un suivi régulier au long cours des enfants nés.

**Le troisième sommet international sur l'édition du génome humain s'est tenu du 6 au 8 mars 2023** à Londres pour examiner les avancées scientifiques, les défis et les opportunités en matière de recherche et a porté toute son attention sur la nécessité d'une réglementation concertée des technologies d'édition du génome humain et de leurs applications. L'édition du génome humain "héréditaire" - c'est-à-dire l'édition du génome de la lignée germinale utilisée en clinique, plutôt que confinée au laboratoire - reste inacceptable pour l'instant. Les preuves précliniques de la sécurité et de l'efficacité de l'édition héréditaire du génome n'ont pas été établies et le débat sociétal est en cours. Le public doit continuer à délibérer sur l'opportunité d'utiliser cette technologie.

S'agissant de l'édition du génome somatique, des inquiétudes ont porté sur le tourisme d'édition du génome et les entreprises qui font la promotion d'interventions non éprouvées en les faisant passer pour des thérapies établies. Par ailleurs, au regard du coût des thérapies d'édition du génome, il est nécessaire de prendre un engagement international en faveur d'un accès abordable et équitable à ces traitements. En outre, il est essentiel de veiller à ce que les études impliquent des communautés génétiquement diverses pour obtenir des résultats équitables.

Enfin, le rêve du premier sommet de 2015 a été exaucé et la parole a été donnée, sous un flot d'applaudissements, à la première patiente à avoir été traitée par édition CRISPR du génome pour la drépanocytose.

## **2.3 Diagnostic prénatal et diagnostic préimplantatoire**

### **2.3.1 Diagnostic prénatal**

Le diagnostic prénatal (DPN) d'une pathologie du fœtus *in utero* est encadré par la loi française. L'évolution des pratiques est telle que le terme de médecine fœtale est privilégié au regard d'une prise en charge globale avec outre le diagnostic, la mise en œuvre d'une éventuelle thérapeutique, parfois dès le stade *in utero*. Cette pratique est régulièrement suivie par l'Agence de la biomédecine qui recueille l'activité des laboratoires de diagnostic prénatal mais aussi celle des centres pluridisciplinaires de diagnostic prénatal. Elle peut ainsi ajuster le dispositif de prise en charge en fonction des évolutions technologiques ou médicales.

#### ***Place de l'imagerie***

Les performances des appareils d'échographie multiplient les actions de dépistage et rendent les activités diagnostiques plus fiables et les pronostics plus précis auxquels se rajoutent, selon les indications, les autres techniques d'imagerie comme l'imagerie par résonance magnétique et la tomodensitométrie.

#### ***Dépistage de la trisomie 21 par calcul de risque***

Depuis 1996, un dispositif national permet de proposer aux femmes enceintes qui le souhaitent, le calcul du risque de trisomie 21. D'abord organisé au cours du 2<sup>nd</sup> trimestre de la grossesse, les progrès des matériels échographiques et les engagements de formation des professionnels qui les utilisent ont permis depuis 2010 de modifier ce calcul de risque notamment en le rendant plus précoce (entre la 9<sup>ème</sup> et la 13<sup>ème</sup> semaine de développement embryonnaire) et plus spécifique. Le dispositif qui a été mis en place associe pour ce calcul la mesure échographique de la clarté nucale du fœtus et de la longueur crânio-caudale, l'âge de la femme enceinte et le dosage de deux marqueurs présents dans son sang (PAPP-A et  $\beta$ hCG). Les objectifs sont, outre un dépistage et donc un diagnostic plus précoce, de diminuer les faux positifs du dépistage et le nombre de prélèvements invasifs, sans diminuer la sensibilité de la méthode. L'Agence de la biomédecine a assuré l'évaluation de la montée en charge de ce dispositif de dépistage. Parallèlement, les actions d'information, notamment pour laisser les femmes libres d'y recourir ou non, et des actions d'accompagnement des familles sont favorisées.

#### ***Examens non invasifs***

Une évolution majeure en matière de DPN porte sur la réalisation d'examens génétiques à partir de prélèvement non invasif (prise de sang maternel) réduisant ainsi pour la femme enceinte la contrainte d'un prélèvement invasif (choriocentèse, amniocentèse, sang de cordon) et le risque de fausse couche induite.

Le CCNE (comité consultatif national d'éthique) apporte son éclairage dans son avis n°120 « Questions éthiques associées au développement des tests génétiques fœtaux sur sang maternel ».

La présence de fragments **d'ADN du fœtus dans le sang de la femme enceinte** est connue depuis plusieurs années. Les techniques d'amplification et d'analyse de l'ADN permettent d'envisager des diagnostics sur le fœtus sans utiliser de prélèvements fœtaux invasifs. Actuellement, deux diagnostics sont proposés en pratique régulière : la détermination du sexe chromosomique fœtal dans le cadre d'une part du diagnostic prénatal de maladies liées au chromosome X et d'autre part des fœtus à risque d'hyperplasie congénitale des surrénales. Par ailleurs, l'analyse de l'ADN fœtal circulant dans le sang maternel permet aisément la détermination du rhésus fœtal lorsque la femme enceinte est rhésus négatif (dans l'objectif de prévenir les allo-immunisations fœto-maternelles ou de surveiller la grossesse de femmes déjà allo-immunisées). Selon les recommandations en vigueur, entre 10 et 15% des femmes enceintes devraient bénéficier de la détermination du Rhésus fœtal, soit environ 80 000 à 120 000 tests annuels. Cet examen bénéficie d'une prise en charge par l'assurance maladie depuis juin 2017 et plus de 74 000 examens ont été réalisés en 2021.

L'extension au dépistage de la trisomie 21 a fait l'objet de travaux internationaux et français sur des populations à risque identifiées sur la base du dépistage du premier trimestre. En France, l'arrêté de recommandations de bonnes pratiques est paru en décembre 2018 et la prise en charge est effective depuis janvier 2019. Le dosage de l'ADN fœtal libre circulant dans le sang maternel est recommandé chez les femmes enceintes dont le risque de trisomie 21 fœtale évalué par le dépistage combiné du premier trimestre se situe entre 1/1000 et 1/51. L'évaluation médico-économique effectuée par la HAS concerne le dépistage de la seule trisomie 21, dépistage qui lorsqu'il est positif nécessite une confirmation diagnostique invasive pour la réalisation du caryotype fœtal. L'évolution rapide des technologies a conduit la quasi-totalité des laboratoires réalisant cet examen à l'étendre au dépistage simultané des trisomies 13 et 18. Les questions actuelles concernent la possibilité d'élargir encore le champ des anomalies dépistées, à d'autres anomalies chromosomiques de nombre (aneuploïdies) et à d'autres anomalies chromosomiques plus rares ayant un impact pour le suivi de la grossesse. La précision des outils de séquençage haut débit utilisés sur l'ADN fœtal circulant laisse augurer la possibilité d'identifier des variations génomiques de plus petite taille dont certaines sont responsables d'affections sévères jusqu'alors non recherchées en situation de dépistage.

L'évolution de ces technologies sur l'ADN fœtal circulant utilisées en dépistage nécessitent la mise en place d'un encadrement en lien avec les professionnels, portant notamment sur l'information des femmes dans le parcours de soin.

Par ailleurs, dans le cadre d'antécédent familial de maladies monogéniques (telle la mucoviscidose, l'achondroplasie) l'examen de l'ADN fœtal circulant dans le sang maternel commence à être utilisé en France pour connaître le statut du fœtus vis-à-vis de la maladie. La performance des analyses conduit aussi à penser que dans les années à venir, il pourrait être possible de réaliser à partir de l'ADN fœtal circulant des analyses pangénomiques en distinguant le génome fœtal du génome maternel.

Au-delà du dépistage et diagnostic de maladies génétiques du fœtus, l'ADN libre plasmatique qui reflète l'empreinte globale des nucléosomes et l'état d'activation des gènes est aussi en cours d'évaluation pour la surveillance de pathologies de la grossesse comme la pré éclampsie, le retard de croissance intra utérin et le risque de prématurité.

L'intégration de ces nouvelles technologies dans le champ du diagnostic prénatal et de la médecine reproductive convoque des défis éthiques, d'information des patients et aussi d'utilisation responsable des ressources de santé.

### **2.3.2 Le diagnostic préimplantatoire**

Le diagnostic préimplantatoire (DPI) est proposé aux couples à risque de transmettre une maladie génétique d'une particulière gravité en raison d'antécédents personnels ou familiaux ayant permis d'identifier la nature précise de la ou des mutation(s) responsable(s) de l'affection. L'intérêt de cette technique est de pouvoir réaliser un diagnostic génétique sur les cellules d'un embryon - obtenu par fécondation in vitro - avant le transfert intra-utérin d'un embryon indemne. Le couple peut ainsi débuter une grossesse avec un embryon non atteint de la maladie recherchée.

Les évolutions technologiques ouvrent la perspective de l'analyse du génome entier sur la seule cellule embryonnaire. Il sera alors plus aisé et moins coûteux d'avoir à disposition l'information sur l'ensemble du génome que de mettre au point un examen pour une maladie ciblée. Par ailleurs, ces technologies conduiront aussi à identifier, outre l'anomalie responsable de la maladie familiale, d'autres anomalies dont des aneuploïdies dont certaines peuvent être pourvoyeuses d'échec d'implantation ou de fausses couches précoces.

#### ***Les techniques de don mitochondrial dans le traitement des maladies dues à des mutations de l'ADN mitochondrial***

La majeure partie du matériel génétique d'une cellule se trouve dans le noyau, mais une petite quantité se trouve dans les mitochondries - des structures autonomes au sein des cellules qui génèrent l'énergie nécessaire à la croissance et à la survie. Les mutations de cet ADN peuvent provoquer des maladies

mitochondriales, qui sont souvent mortelles. Comme les mitochondries sont généralement héritées uniquement de la mère, les femmes porteuses sont très susceptibles d'avoir des enfants atteints de ces maladies.

Le don de mitochondries consiste à prélever le noyau contenant l'ADN d'un ovocyte (transfert du fuseau méiotique à MII) ou d'un embryon (transfert de pronucléus au stade zygote) et à le transférer à un ovocyte ou un zygote donneur qui contient des mitochondries saines mais dont le noyau a été retiré. L'ovocyte peut être fécondé avec le sperme du père avant ou après le transfert. L'embryon qui en résulte contient l'ADN nucléaire de la mère et du père ainsi qu'une petite quantité d'ADN mitochondrial du donneur. Le traitement par remplacement mitochondrial représente dans certaines situations la seule option pour une femme d'avoir une descendance indemne d'une maladie dévastatrice.

Au Royaume-Uni, le don de mitochondries a été rendu légal en 2015 après un large débat impliquant les citoyens et les législateurs et la HFEA (Human Fertility and Embryology Authority) a autorisé fin décembre 2016 un centre clinique pour mettre en place cette activité, pour uniquement prévenir la transmission de maladie mitochondriale. La procédure a été testée en Grèce et en Ukraine dans un autre contexte pour traiter la stérilité.

Les opposants affirment qu'il n'y a pas suffisamment de preuves pour savoir si la technique est sûre et qu'il est possible que la maladie puisse réapparaître plus tard dans la vie. D'autres pays, notamment l'Australie et Singapour, envisagent de modifier leurs lois en accord avec le Royaume-Uni sur ce point. A ce jour, cette approche n'est pas autorisée aux États-Unis ni en France.

## ***2.4 De nouveaux acteurs : la somme des données (big data), pour une médecine de précision et l'irruption de l'intelligence artificielle***

Les données issues du séquençage de génomes entiers vont contribuer à alimenter des bases de données de plus en plus volumineuses qui devront être couplées avec quantité d'autres données, de nature différente, portant sur les phénotypes clinique et comportemental, ainsi que des données d'autres explorations biologiques (épigénome, transcriptome, protéome) auxquels se rajouteront les données sur les différentes imageries et autres mesures physiologiques dont certaines obtenues par des objets connectés. Pour obtenir une information utile de la somme de ces données dans le contexte d'une médecine de précision ajustée à l'individu, à visée diagnostique, préventive et thérapeutique, il sera nécessaire d'utiliser des biobanques et des unités de stockage suffisantes dans un contexte d'interopérabilité des systèmes pour assurer une utilisation adaptée de ces informations et en toute sécurité pour la vie privée des individus.

Mais il apparaît que seuls des systèmes intelligents ouvriront de nouvelles pistes de recherche et d'application. Ces systèmes pourront plus rapidement mettre en corrélation gène, diagnostic, symptôme et environnement, en brassant une quantité astronomique de données scientifiques désordonnées, et faire tendre la recherche médicale vers un changement de paradigme. Ces données transmises et assimilées par un système intelligent permettront de créer une boucle d'apprentissage autonome. Dans l'apprentissage approfondi, toute l'intégration des données est faite par la machine avec un modèle non préconçu, permettant à la machine de faire des prédictions sans hypothèses fortes sur le mécanisme biologique. Des couches supplémentaires avec des ensembles de données plus importants ou des paramètres différents devraient augmenter la puissance de ces méthodes. Un haut niveau d'automatisation est à prévoir. Il reste à savoir si ces avancées technologiques seront accessibles à tous et pertinentes.

Bien que ces nouvelles technologies en soient encore au stade de l'expérimentation et en phase de développement, de nombreuses applications dans le domaine de la génétique humaine et de l'AMP prennent un essor important.

On peut noter par exemple, l'utilisation d'un algorithme de Traitement Automatique du Langage Naturel (TALN), qui, entraîné sur des milliers de comptes rendus médicaux et notamment de consultations de génétique clinique, a la capacité d'établir des signatures phénotypiques en corrélant les résultats de séquençage de l'ADN et les descriptions phénotypiques. Cette technologie a pour objectif d'améliorer la pertinence des interprétations clinico-moléculaires et la prise en charge des patients atteints de maladies rares et de diminuer l'errance diagnostique.

Un autre exemple est le développement d'un outil d'intelligence artificielle permettant la prédiction de la ploïdie des embryons obtenus en AMP en fonction d'un score basé sur l'âge de la femme, les images des embryons à J5 au microscope et les informations notées concernant la qualité des embryons. Cet algorithme apprend de manière automatique à corréliser certaines caractéristiques de ces données (parfois trop subtiles pour l'œil humain) avec le risque d'aneuploïdie. L'application directe est de pouvoir différencier les embryons euploïdes des embryons aneuploïdes, de sélectionner les embryons les plus viables et également d'éviter tout prélèvement invasif comme dans le diagnostic pré-implantatoire classique.

Si l'être humain a toujours cette force de connaissances contextuelles très larges que n'a pas la machine, l'intelligence artificielle devra être comprise comme un véritable assistant intelligent du médecin sans se substituer à lui, afin de renforcer l'aide à la décision au regard de la multiplicité des informations. Le pilier irremplaçable de la relation humaine en médecine sera à préserver.



**- 3 -**

## **Cellules souches : état des lieux et perspectives**



## 3. Cellules souches : état des lieux et perspectives

### 3.1. Etat de l'art

Au cours des dernières décennies, plusieurs découvertes dans le domaine de la biologie des cellules souches (CS) ont fait progresser le domaine de façon spectaculaire, et ont bouleversé notre façon d'appréhender la thérapie cellulaire. Depuis les années 1975 et encore de nos jours, l'utilisation en routine de cellules souches thérapeutiques est restreinte à quelques indications (maladies hématologiques, immunologiques, brûlures graves) utilisant des cellules souches adultes. Un changement radical dans notre façon d'appréhender l'utilisation des CS en recherche clinique s'est imposé depuis quelques années, avec la disponibilité de lignées de cellules souches pluripotentes, pouvant être amplifiées de façon illimitée tout en étant capables de se différencier en cellules spécialisées des différents tissus. Deux populations de CS pluripotentes sont aujourd'hui disponibles :

- les cellules souches embryonnaires, dérivées d'embryons humains (CSEh), seules cellules souches pluripotentes « physiologiques » et dont l'utilisation à des fins de recherche en France a été successivement (i) interdite mais avec la possibilité d'autorisations dérogatoires entre 2004 et 2013, puis (ii) autorisée et encadrée entre 2013 et 2021, et enfin (iii) soumise à déclaration avec pouvoir d'opposition depuis 2021 ;
- les iPS (induced pluripotent cells), cellules souches pluripotentes obtenues par « reprogrammation » de cellules somatiques différenciées. Les iPS ont été décrites pour la première fois en 2006 chez la souris et en 2007 chez l'homme, en s'inspirant de techniques de reprogrammations nucléaires publiées dès 2001.

La maîtrise de la connaissance, et donc de la manipulation, de ces CS pluripotentes a ouvert un vaste champ de recherche, et a bouleversé la vision à long terme de la thérapie cellulaire. Les applications dépassent largement la seule transplantation de cellules à but substitutif - une quarantaine d'essais cliniques sont en cours dans le monde - et concernent également le support de modélisation de maladies humaines, la génération de modèles d'organes *in vitro* (organoïdes), le criblage de molécules pharmaceutiques et l'évaluation de la toxicité de molécules diverses, dont les médicaments. Les possibilités sont donc vastes, et les enjeux énormes : la communauté scientifique internationale, académique comme industrielle, l'a bien compris, ce d'autant qu'à terme, il est probable que se mettra en place une gestion internationale des ressources en cellules thérapeutiques. La vigueur de la compétition dans ce domaine en témoigne, ainsi que les moyens mis en jeu et la participation d'intervenants nouveaux et extrêmement dynamiques que sont les pays asiatiques. L'accumulation rapide des résultats qui caractérise la période actuelle s'explique aussi par le développement concomitant de technologies d'analyse sophistiquées et puissantes, qui représentent également un enjeu économique. Enfin, l'attente du public est immense, aiguësée par un discours médiatique souvent très optimiste.

Enfin, il est important de souligner que l'ensemble des recherches sur ces cellules souches pluripotentes (CSP) et leur potentiel rapprochent les disciplines et nourrissent plusieurs champs de recherche parallèles et très fructueux : citons les technologies « omiques », mais aussi la modélisation, l'imagerie *in vivo*, et surtout l'ingénierie cellulaire, tant il est évident que ces cellules ne seront pas greffées sans le support d'un environnement matriciel (bio-matériaux) et cellulaire conçu par ingénierie.

### 3.1.1 De quelles cellules souches dispose-t-on en 2023 ?

Plusieurs aspects caractérisent le domaine des cellules souches en 2023 :

- a. **Leur diversité**, et surtout la possibilité qu'a aujourd'hui l'expérimentateur **d'obtenir des cellules souches à partir de cellules différenciées**. Ainsi, à côté des cellules souches adultes (CSA) physiologiques fonctionnant *in vivo*, difficiles à isoler du tissu et encore plus à cultiver *in vitro*, on dispose maintenant de cellules souches « artificielles », au potentiel très varié, nées de la reprogrammation de cellules déjà différenciées. Cette riche palette de cellules au potentiel varié offre ainsi de multiples possibilités au chercheur comme au clinicien, lui permettant d'adapter la cellule souche à l'objectif recherché, et excluant la notion d'une cellule souche « universelle ». Il faut insister sur la nécessité de conserver cette diversité de sources thérapeutiques, voire de l'élargir, et sur les conséquences négatives qu'aurait la restriction – sous prétexte de redondance – de l'accès à certaines d'entre elles.
- b. Une deuxième caractéristique est le degré de sophistication auquel sont parvenus les chercheurs dans **l'analyse du fonctionnement des cellules souches**, que ce soit *in vivo* ou *in vitro*. Celui-ci découle de la disponibilité de technologies perfectionnées, devenues indispensables, opérant sous forme de plateformes mutualisées, souvent à financement mixte public/privé. *In vivo*, ce sont les performances de l'imagerie qui permettent de voir fonctionner les cellules souches dans leur « niche » tissulaire ou de les suivre après transplantation, un prérequis avant d'imaginer des stratégies de thérapie cellulaire efficaces ; *in vitro*, c'est le décryptage raffiné de tous les réseaux de gènes et de protéines à l'œuvre dans le fonctionnement des cellules souches et de leur différenciation, qui permet notamment de comparer les potentialités et, à terme, de guider et évaluer le choix thérapeutique qui sera fait de telle ou telle cellule souche.
- c. Il apparaît donc que la recherche sur les cellules souches fait intervenir de multiples disciplines et en particulier des plateformes technologiques d'envergure, par exemple d'analyses à haut débit. Pour cette raison, ce domaine ne pourra progresser que dans une **collaboration entre laboratoires académiques et industriels**, et à une échelle qui est plus internationale que nationale. Ce changement d'échelle – qui caractérise toute la recherche actuelle comme en témoignent les résultats des consortiums ayant caractérisé les séquences d'ADN non traduites (ENCODE) ou séquencé le microbiome intestinal humain - est une troisième évolution caractéristique.

### 3.1.2 Cellules souches pluripotentes

Les deux caractéristiques d'une cellule souche pluripotente, que ne partagent pas les cellules souches adultes ou fœtales, sont : (1) de pouvoir potentiellement se différencier à la demande dans n'importe quels types de cellules constituant les tissus de l'organisme, et (2) de proliférer indéfiniment sous forme pluripotente (auto-renouvellement). Ces deux propriétés requièrent de placer les cellules souches dans des conditions adéquates de culture qui doivent être définies.

Chez l'homme, deux catégories de CS pluripotentes sont accessibles : les cellules souches embryonnaires et, depuis 2007, les cellules souches reprogrammées, ou iPS. La découverte des iPS repose sur les connaissances des mécanismes de pluripotence accumulées en étudiant les CSEh qui dérivent de cellules normales présentes chez l'embryon préimplantatoire. La maîtrise de cette technologie de reprogrammation et l'évaluation du fonctionnement de ces cellules *in vivo*, deux aspects encore imparfaitement maîtrisés, ne se conçoivent que par référence à la fois aux CSEh et aux cellules souches adultes. Si les efforts de recherche de ces 15 dernières années ont permis d'aboutir depuis 2011 aux premiers essais cliniques avec les CSEh, et depuis 2014 avec les iPS, une utilisation à large échelle n'est pas envisageable avant plusieurs années. La communauté scientifique dans sa quasi-totalité considère donc CSEh et iPS comme deux entités complémentaires, et non comme des « rivales ».

### 3.1.2.1 Cellules souches embryonnaires humaines

Les lignées de CSEh proviennent de la prolifération *in vitro* d'une fraction des cellules de la masse interne d'un blastocyste, embryon préimplantatoire au cinquième jour de développement obtenu au terme d'une procédure de fécondation *in vitro* (FIV).

Leur extraction, puis les conditions de culture *in vitro* « gèlent » ces cellules dans l'état pluripotent transitoire et fugace qui est le leur *in vivo*, avant la spécification des différents organes. *In vitro*, dans des conditions très précises, cette pluripotence peut se perpétuer à l'identique de façon indéfinie au cours de leurs divisions. L'expérimentateur, en changeant ces conditions et en sélectionnant des combinaisons appropriées de molécules et de substrats, peut déclencher et orienter leur différenciation dans une voie tissulaire donnée. Cette double propriété, de prolifération indéfinie (auto-renouvellement), et de différenciation dans tous les types de tissus (pluripotence), offre un nombre illimité de cellules capables de multiples destins cellulaires. Plusieurs centaines de lignées de CSEh ont été dérivées et caractérisées dans le monde, et sont utilisées par de très nombreux laboratoires.

#### Quels sont les apports fondamentaux de l'étude des CSEh ?

- La disponibilité d'un outil cellulaire tel que les CSEh, seules cellules souches pluripotentes physiologiques, a permis un bond en avant considérable dans notre connaissance des gènes et des réseaux moléculaires qui définissent et contrôlent non seulement l'état pluripotent, mais aussi engagent une cellule souche dans un programme de cellule différenciée. Grâce à la rapidité des progrès technologiques d'analyse à large échelle (collectivement appelées techniques « omiques ») du génome, de l'épigénome (on nomme ainsi l'ensemble des modifications de la chromatine qui dirige l'expression des gènes), et des produits de ce génome (ARN par le transcriptome et protéines par le protéome), on a pu définir la carte d'identité moléculaire précise d'une cellule ou d'un groupe de cellules. Ces techniques ont été appliquées à la caractérisation des cellules souches d'origine diverse, et ont clairement démontré que la « signature » génique et épigénétique (c'est-à-dire l'expression spécifique des gènes et modifications épigénétiques, modifications réversibles ne touchant pas la séquence nucléotidique, exclusivement exprimés par des cellules) des CSEh n'a rien de commun avec celle que l'on observe dans les cellules souches adultes ou fœtales, ce qui reflète bien le caractère unique et très spécifique de ces cellules pluripotentes. En revanche, certaines caractéristiques sont partagées par les cellules de l'embryon précoce et les cellules germinales. L'identification de cette « signature pluripotente » a ouvert la voie à la possibilité du processus de reprogrammation conduisant aux iPS par transfert de ces gènes pluripotents dans des cellules différenciées. L'amélioration des techniques permet aujourd'hui de considérer que les iPS établies selon des protocoles récents de reprogrammation sont proches des CSEh tant sur le plan de leur profils d'expression génique ou épigénétique, de leur intégrité génétique ou de leur capacité de différenciation. Néanmoins, les cellules CSEh sont toujours considérées comme l'étalon-or de la pluripotence, car il s'agit du seul type de cellules souches qui aient été extraites de l'embryon et qui sont donc naturellement pluripotentes.
- Un grand nombre de protocoles ont été mis au point qui permettent la différenciation de CSEh pluripotentes en types cellulaires différenciés : hépatocytes, neurones (dopaminergiques, GABAergiques), épiderme, cellules rétinienne, etc. Ils ont permis de progresser sur 2 points :
  - Tout d'abord, il est fondamental de connaître l'embryologie pour progresser dans la maîtrise de la différenciation des CSEh. L'efficacité de l'obtention de cellules différenciées dépend en effet de la reproduction, *in vitro*, de la succession des étapes du développement embryonnaire tel qu'il se produit *in vivo*, aboutissant, à partir du blastocyste, à la formation du tissu fonctionnel adulte. Travailler sur les CSEh enrichit donc indiscutablement notre connaissance de l'embryologie humaine, et donc, par ricochet, la compréhension des possibles anomalies de ce développement.
  - Une seconde leçon est l'observation d'une très grande variabilité des lignées de CSEh : elles ne sont pas équivalentes en termes de conditions de culture, ni en termes de potentiel

de différenciation, ce qui impose de tester un grand panel de lignées existantes, voire d'en créer de nouvelles, afin de sélectionner celles qui se différencient dans la voie choisie avec la plus grande efficacité et la meilleure reproductibilité. Ce problème se pose dans les mêmes termes avec les iPS.

### ***Les perspectives thérapeutiques des CSEh***

Vingt-cinq ans après la publication de la première lignée de CSEh aux Etats-Unis (1998), la lignée H1, trente-six essais cliniques ont démarré dans le monde dans des pathologies utilisant des précurseurs dérivés de CSEh. Les essais cliniques en cours en 2023 concernent plusieurs types de maladies : rétinienne, cardiaques post-ischémie, diabète, maladie de Parkinson, sclérose latérale amyotrophique, traumatisme de la moelle épinière. Un essai est également en cours en Chine visant à traiter la fibrose pulmonaire liée à l'infection par le virus SARS CoV 2 à l'aide de cellules régulatrices de l'immunité dérivées de cellules souches embryonnaires. Ces différentes maladies représentent un problème majeur de santé publique : soit elles n'ont pas d'autres possibilités thérapeutiques, soit les alternatives sont en cours de développement ou d'évaluation. En France, deux essais cliniques utilisant des dérivés de CSEh ont été lancés. Le premier a été initié en 2014 et s'est terminé en 2017, il utilisait des précurseurs cardiogéniques dans une indication cardiovasculaire. Il a été mené par le professeur Philippe Menasché et son équipe et a montré des résultats encourageants qui ont été publiés dans le prestigieux Journal of the American College of Cardiology. Le deuxième a débuté en 2019 et est en cours de recrutement. Il a pour objectif de traiter des patients atteints de rétinopathie pigmentaire à l'aide de patches de cellules de l'épithélium pigmentaire de la rétine dérivées de CSEh, mis au point par l'équipe de Christelle Monville (laboratoire iStem). Deux patients ont été inclus à ce jour et aucun événement indésirable n'a été rapporté.

Les essais cliniques utilisant des dérivés de CSEh sont des essais de phase I ou I/IIa, le paramètre principal étant l'absence d'effet toxique, et le paramètre secondaire une éventuelle efficacité. A ce jour, aucun événement indésirable lié à la préparation de thérapie cellulaire n'a été rapporté.

Des résultats importants sont déjà disponibles : l'équipe du Pr Peter Coffey (University College de Londres) a notamment publié en juillet 2018, dans la prestigieuse revue Nature Biotechnologies, les résultats d'un essai clinique de phase 1 montrant que deux patients souffrant d'une forme sévère de dégénérescence maculaire liée à l'âge (pathologie de la rétine), ont récupéré une acuité visuelle acceptable après traitement par des cellules de la rétine dérivée de CSEh. Plus récemment, l'équipe du Pr Michal Izreal (Ness-Ziona, Israël) a publié des résultats encourageants d'un essai de phase I/IIa chez des patients atteints de sclérose latérale amyotrophique, montrant une amélioration significative des fonctions physiques trois mois après administration d'astrocytes dérivés de CSEh.

Les pathologies qui font l'objet d'essais cliniques en cours avec des cellules dérivées de CSEh illustrent bien la diversité des situations cliniques, et donc la complexité de l'approche thérapeutique : chaque maladie requiert le développement d'une stratégie particulière en ce qui concerne le type de cellules à greffer, les modalités de la greffe, l'association (ou non) des cellules à un biomatériau, et chaque situation expose à des risques spécifiques.

Le nombre croissant d'essais cliniques utilisant des produits dérivés de CSEh illustre le potentiel thérapeutique de ces cellules et la finalité médicale des recherches.

### ***Que peut-on anticiper pour les prochaines années dans ce domaine ?***

En marge des études fondamentales qui vont continuer à décrypter le fonctionnement cellulaire, une perspective clinique devra surmonter plusieurs obstacles :

- Il est toujours très difficile, même après plus de 20 ans d'efforts de recherche, d'obtenir à partir de CSEh des cellules différenciées de type « adulte » répondant aux stimuli qu'un organisme adulte émet. Par exemple, on sait obtenir des cellules pancréatiques sécrétrices d'insuline à partir de CSEh, mais la quantité d'insuline qu'elles produisent est insuffisante et les cellules répondent mal à une charge en glucose, le stimulus physiologique essentiel. De même, il est difficile d'obtenir des hépatocytes ayant toute la panoplie d'enzymes leur permettant de

détoxifier des métabolites produits par l'organisme ou la dégradation de toxiques. Néanmoins, ces difficultés ne sont pas considérées comme insurmontables. Lorsque ces cellules sont greffées *in vivo*, il semble qu'elles poursuivent leur maturation alors qu'elles en sont peu capables dans une boîte de culture.

Il est encourageant de constater que l'évolution récente des connaissances dans le domaine des cellules souches pluripotentes permet de mieux maîtriser certaines voies de différenciation, notamment dans 4 applications ayant un intérêt thérapeutique majeur : obtention de cardiomyocytes issus de CSEh et iPS fonctionnels *in vivo* (activité électrique), succès de la différenciation de CSEh en neurones auditifs (surdités), premiers résultats de différenciation en cellules épithéliales respiratoires, et confirmation de l'obtention de neurones moteurs capables d'envoyer des prolongements axonaux sur de très longues distances et de s'intégrer dans un réseau fonctionnel (lésions de la moelle épinière).

- Un second défi, qui devra être résolu à l'échelle internationale, est celui de la nécessaire mise au point de tests pour définir et analyser les critères requis avant l'utilisation clinique de ces produits cellulaires. Or, ces cellules créent une situation nouvelle : aucun test standardisé n'est actuellement validé pour évaluer la sécurité, la distribution dans l'organisme et l'efficacité des produits cellulaires issus de ces CSEh (comme des iPS d'ailleurs).

### **3.1.2.2 Cellules souches pluripotentes obtenues par un processus de reprogrammation (cellules souches pluripotentes induites, ou iPS)**

Cette catégorie de cellules souches se distingue fondamentalement de tout ce qui a été décrit précédemment parce que le potentiel de ces cellules est « créé » par l'expérimentateur alors qu'elles n'ont aucune contrepartie physiologique. Reprogrammation signifie en effet l'action par laquelle on modifie le programme en cours dans une cellule, et donc son destin et sa fonction. Un programme donné se définit par un réseau de gènes actifs et de protéines, produits de ces gènes, qui établissent l'identité de la cellule et donc sa fonction. Changer certains de ces éléments revient à modifier le destin de la cellule. C'est l'aspect très novateur de la publication princeps de S.Yamanaka au Japon en 2006 (qui lui a valu de recevoir le prix Nobel en 2012) : montrer que le simple transfert, dans une cellule aussi « banale » qu'un fibroblaste de peau, de 4 gènes exprimés spécifiquement par les CSEh, peut reprogrammer cette cellule et lui conférer des propriétés pluripotentes, en faisant une iPS. La découverte du Pr. Yamanaka provient de l'essai systématique de combinaisons de gènes contrôlant la pluripotence des cellules souches embryonnaires murines, puis humaines. Il a prouvé que l'induction de la pluripotence dans une cellule complètement différenciée (fibroblaste) ne nécessitait que l'expression de 4 gènes pluripotents que n'exprime pas le fibroblaste. Hormis les fibroblastes, on sait aujourd'hui que presque toute cellule de l'organisme peut être « reprogrammée », y compris les cellules sanguines, faciles d'accès. Ces cellules, adultes ou fœtales, une fois reprogrammées de façon stable, ont un comportement proche de celui des CSEh. Elles se présentent sous la forme de lignées immortelles et peuvent être induites à leur tour en de multiples voies de différenciation tissulaires, à l'instar des CSEh.

Cette découverte a soulevé un engouement extraordinaire dans la communauté scientifique par l'étendue des possibilités qu'elle suggère, et sa relative « facilité ». Cependant, comme toute technique artificielle qui modifie un organisme vivant, elle n'est pas dénuée d'inconvénients et de risques qui ne sont toujours pas maîtrisés 15 ans après la description des iPS :

- a. L'expression forcée des séquences d'ADN codant pour des protéines pluripotentes, passe par l'utilisation d'un vecteur viral « intégratif », s'insérant directement dans l'ADN de la cellule cible, ce qui peut causer des altérations graves de cette dernière. Toutefois, il est aujourd'hui possible de parvenir au même degré de reprogrammation en utilisant non pas les séquences ADN, mais les ARN, produits de transcription des gènes, ensuite traduits en protéines, qui, eux, ont une durée de vie courte et ne s'intègrent pas dans le génome.

- b. Il n'est pas anodin d'entraîner à nouveau un cycle de prolifération dans une cellule différenciée qui ne se divisait plus : le risque d'instabilité et de cancérogenèse créé par ce procédé doit être évalué, et tout facteur oncogénique éliminé de la combinaison utilisée pour la reprogrammation.
- c. L'induction de programmes de différenciation efficaces à partir des iPS obtenues se heurte manifestement à quelques difficultés, dont la possible « mémoire » que pourraient avoir les cellules reprogrammées de leur tissu d'origine, qui serait un obstacle à une reprogrammation complète vers un programme de type « cellules souches embryonnaires », ou une propension à la sénescence précoce des iPS et leur moindre pouvoir prolifératif.

### **Quelles conséquences de la disponibilité de cellules souches pluripotentes reprogrammées (iPS) ?**

#### **Analyse comparée iPS/CSEh**

Reprogrammer une cellule est un processus artificiel qui force la cellule à adopter un destin et un comportement qui ne sont initialement pas les siens. Une question importante, évaluée au cours de ces dernières années, est celle de l'identité, ou de la divergence, entre CSEh et iPS. Cette question est l'objet d'un important traitement scientifique.

La comparaison CSEh/iPS est bien sûr d'importance pour évaluer si la reprogrammation iPS est complète (avec perte de l'identité moléculaire et épigénétique antérieure de la cellule utilisée pour la reprogrammation) ou non et si elle diverge d'une pluripotence « physiologique ». La masse des résultats accumulés – avec une caractérisation exhaustive du transcriptome (ARN transcrits par les cellules) et des modifications épigénétiques des CSEh et des iPS par les analyses à haut débit - permet de conclure que les iPS établies selon des protocoles récents de reprogrammation - sont proches des CSEh, tant sur le plan de leur profil d'expression génique ou épigénétique, que de leur intégrité génétique ou de leur capacité de différenciation. Toutefois, il convient de signaler que si toutes les CSEh sont dérivées d'un même stade de développement (blastocyste), les iPS peuvent être obtenues de sources cellulaires extrêmement variées et d'individus d'âges très différents, sans que l'on connaisse bien encore le retentissement de ces paramètres. De plus, elles sont extrêmement hétérogènes quant à leur degré de pluripotence et nous commençons seulement à disposer de critères robustes permettant de distinguer la qualité des iPS.

#### **Perspectives thérapeutiques**

Bien que disposant d'un recul de seulement 15 ans depuis la première description des iPS humaines, des essais cliniques ont déjà démarré. A ce jour, six ont été rapportés dans le monde, essentiellement au Japon (aucun en France). Deux d'entre eux ont dû être interrompus pour des problèmes de stabilité génétique : le premier essai clinique, démarré en 2014 au Japon dans le traitement d'une pathologie rétinienne, a été interrompu pendant deux ans suite à l'apparition de mutations au sein des iPS autologues dérivées du deuxième patient inclus. Plus récemment, un essai clinique utilisant des neurones dopaminergiques dérivés d'iPS allogéniques a été arrêté suite à la survenue de mutations de p53 (gène suppresseur de tumeur impliqué dans près de 50% des cancers chez l'homme) avec un risque de cancérisation des cellules transplantées. Ces événements illustrent que jusqu'à récemment, il était difficile de maîtriser complètement les mécanismes de reprogrammation, puis de différenciation en vue d'obtenir des dérivés d'iPS totalement sûrs pour une utilisation chez le patient. Ils ne doivent toutefois pas remettre en cause l'énorme potentiel de ces cellules dans une perspective thérapeutique.

En théorie, les iPS pourraient en effet permettre une approche de greffe autologue ou patient-spécifique, puisqu'elles peuvent être dérivées à partir d'un petit échantillon de peau ou d'un prélèvement de sang, entre autres. Cette situation de greffe autologue est favorable puisqu'elle évite l'administration d'immunosuppresseurs que requiert l'utilisation thérapeutique de cellules dérivées de CSEh allogéniques. Toutefois, comme l'illustre la suspension du premier essai mené par le centre RIKEN au Japon, on peut douter de sa faisabilité en pratique, à court ou moyen terme, pour deux raisons : (1)

notre méconnaissance des risques réels que font courir des cellules « artificielles » dont on ne connaît par définition ni la réelle stabilité génétique *in vivo*, ni l'efficacité en termes de réparation ; (2) des raisons économiques et logistiques, qui sont énormes.

Citons en particulier l'absence totale de standardisation des préparations d'iPS en conditions GMP, et le coût de la préparation et de l'évaluation de multiples lignées iPS pour chaque patient concerné. En revanche, comme évoqué ci-dessous, les iPS sont d'ores et déjà un outil incomparable de modélisation de maladies humaines (plus de 150 lignées issues de maladies différentes) et de criblage en pharmacologie ou toxicologie (voir plus loin), avec des résultats tangibles.

### **Reprogrammation partielle / transdifférenciation**

Si la reprogrammation en cellules souches pluripotentes paraît séduisante, il n'est pas sûr qu'elle soit la plus appropriée ni la plus réaliste d'un point de vue thérapeutique, en raison de ses contraintes et des risques inhérents à l'utilisation de cellules pluripotentes. Il faut donc insister sur les essais récents de reprogrammation « partielle » : l'objectif n'est pas le « retour » à un état pluripotent, mais plus modestement à un état de cellule souche tissulaire multipotente, voire de progéniteur tissulaire déjà différencié (on peut parler dans ce cas de transdifférenciation). De très nombreux exemples ont été publiés récemment : transdifférenciation de fibroblastes directement en neurones, en hépatocytes, etc. Cette démarche pourrait s'avérer fructueuse à l'avenir, ce d'autant qu'on peut envisager induire cette transdifférenciation directement *in situ* (par exemple transdifférenciation de cellules alpha du pancréas en cellules bêta sécrétrices d'insuline).

#### **3.1.2.3 Les organoïdes**

Le terme organoïde désigne un assemblage tridimensionnel d'un ou plusieurs types cellulaires, qui mime la micro-anatomie d'un organe et assure, *in vitro*, une ou plusieurs de ses fonctions. Le comportement de cet assemblage de cellules, qui mime le fonctionnement physiologique d'un organe, fait des organoïdes un des nouveaux outils de prédilection de la recherche en biologie.

La génération d'organoïdes *in vitro* a été rendue possible par la combinaison de plusieurs développements récents : (i) la différenciation de cellules souches pluripotentes en plusieurs types de cellules spécialisées, (ii) la mise au point de conditions de culture sur des matrices extracellulaires et (iii) le développement de techniques de culture cellulaire en 3 dimensions, notamment grâce à l'utilisation de matrices préformées ou bio-imprimées, qui favorisent la capacité d'auto-assemblage des cellules.

Les organoïdes, qui mesurent quelques millimètres pour les plus gros, possèdent une structure en trois dimensions qui ressemble à tout ou partie de l'organe entier et reproduisent certaines de ses fonctions physiologiques *in vitro*. Ils se sont imposés ces dernières années comme des modèles de choix pour étudier le développement des organes et des maladies qui les touchent.

De nombreux organes ont ainsi été modélisés et miniaturisés : intestins, foie, poumon, rein, pancréas, etc. En partant de cellules souches porteuses de mutations, il est également possible de modéliser des organes atteints d'une maladie génétique ou porteurs d'une tumeur (tumoroïde). Il s'agit de modèles particulièrement pertinents pour mettre au point des traitements ou réaliser des expériences de criblage de molécules.

Certains organoïdes soulèvent néanmoins des questions éthiques inédites qui font actuellement l'objet de réflexions: il s'agit des organoïdes de cerveau et des embryoïdes, capables de modéliser les premières étapes du développement embryonnaire.

### 3.1.3 Cellules souches adultes et fœtales

#### 3.1.3.1 Comprendre le fonctionnement *in situ* des cellules souches adultes : un prérequis pour le succès de la thérapie cellulaire

Les iPS représentent les seules cellules souches pluripotentes provenant de cellules « adultes » (hors cellules germinales) ce qui explique l'enthousiasme que leur obtention a provoqué.

En effet, les autres cellules souches adultes ne sont que « multipotentes » (capables de donner naissance aux cellules différenciées d'un nombre restreint de tissus), et surtout, à de très rares exceptions déjà mentionnées (CS hématopoïétiques ou de la peau, CS mésenchymateuses), leur difficulté d'accès et leur faible nombre ont conduit les thérapeutes à abandonner l'idée de les utiliser comme matériel de « remplacement » de cellules lésées dans le cadre de thérapies cellulaires à large échelle. Néanmoins, leur étude est fondamentale : en effet, toute cellule thérapeutique greffée chez un patient devra s'intégrer dans l'environnement local et répondre aux réseaux de régulation qui fonctionnent chez l'adulte. Or, cet environnement n'est pas celui des CSEh, ni des iPS, ce qui risque de compromettre leur survie et la fonction des cellules greffées. Il est donc crucial pour le succès futur des thérapies cellulaires utilisant les CSEh ou les iPS de poursuivre la dissection *in vivo* de la « niche » des cellules souches dans leur tissu. Ces analyses sont aujourd'hui possibles grâce au développement de techniques d'imagerie et de marquage cellulaires très performantes. Celles-ci permettent aujourd'hui de suivre *in vivo* le devenir de cellules individuelles (particulièrement utile dans une perspective de greffe), et de disséquer les interactions au sein de la « niche ». Il est particulièrement important que les cellules souches thérapeutiques (ou leurs dérivés) se relocalisent dans leur environnement « naturel » pour éviter un comportement aberrant aboutissant à une instabilité et à de possibles effets délétères.

#### 3.1.3.2 Perspectives thérapeutiques utilisant les cellules souches adultes

Hormis les cellules souches hématopoïétiques (CSH, issues de la moelle osseuse, du sang périphérique après mobilisation ou du sang de cordon) et les cellules souches épidermiques, reconnues comme produits thérapeutiques en routine, peu d'autres types de cellules souches adultes sont en cours d'essais cliniques pour une thérapie de remplacement cellulaire, et le domaine devrait peu évoluer. L'effet thérapeutique indirect des cellules souches mésenchymateuses sera abordé ci-dessous. En revanche, les progrès des connaissances concernant leur fonctionnement *in vivo* ont ouvert des perspectives concernant une approche de stimulation locale, *in situ*, de leur fonctionnement qui pourrait être très bénéfique : celle-ci fait intervenir des petites molécules biologiques (cytokines ou hormones), éventuellement apportées par des cellules exogènes (cellules souches mésenchymateuses par exemple), activant les cellules souches locales ou agissant sur leur environnement. On peut aussi envisager de reconstruire une « niche » défectueuse. Certaines maladies neurologiques pourraient en bénéficier. Il faut enfin mentionner à la frontière de ce champ, les efforts importants de recherche dans le domaine des matrices d'organes, ou des organes décellularisés, où les cellules souches adultes pourraient trouver un domaine d'application.

#### 3.1.3.3 Les cellules souches mésenchymateuses

Seul type cellulaire (hors CSH) faisant actuellement l'objet de très nombreux essais cliniques dans le monde (environ 30 % des essais cliniques utilisant des cellules souches déclarés sur [clinicaltrials.gov](http://clinicaltrials.gov)), les cellules souches mésenchymateuses (CSM) se distinguent nettement des cellules souches adultes tissulaires au moins par deux critères : elles sont présentes dans tous les tissus (on pense que la cellule d'origine est une cellule périvasculaire, peut-être un péricyte), et elles peuvent être amplifiées *ex vivo* et donc être disponibles en grand nombre (mais leur durée de vie reste limitée). Elles sont le plus souvent isolées à partir de moelle osseuse ou de tissu adipeux. Elles peuvent se différencier en précurseurs osseux ou du cartilage, peut-être en d'autres types cellulaires, mais leur caractère « souche » n'est pas établi avec certitude et on les désigne plus volontiers sous le terme de cellules stromales mésenchymateuses. Elles peuvent être utilisées dans des protocoles de réparation osseuse (en association à des biomatériaux) pour leur potentiel de différenciation en progéniteurs osseux, mais leur intérêt principal en thérapeutique vient de leurs propriétés immunomodulatrices et anti-

inflammatoires, et de leur fonction de support, qui donnent l'espoir de pouvoir les utiliser dans des pathologies liées au rejet de greffes (moelle osseuse, organes, thérapies cellulaires), ou aux maladies auto-immunes, comme la maladie de Crohn ou la sclérose en plaques.

A ce titre, elles pourraient être utilisées en complément de cellules souches embryonnaires ou adultes dans des stratégies de greffe, mais ne pourront pas les remplacer. Une utilisation allogénique, via des banques de cellules validées et typées, est la plus envisageable, mais les greffes autologues sont également possibles.

Les propriétés de pluripotence qu'on a parfois attribuées aux cellules souches/stromales mésenchymateuses doivent être considérées avec prudence. Les critères utilisés pour démontrer cette « pluripotence » restent flous (souvent limités à l'expression de marqueurs phénotypiques dont on connaît la variabilité), et sont très rarement validés par des analyses génétiques à large échelle ou dans des expériences de greffe *in vivo*, seule démonstration irréfutable de cette propriété (formation de tératomes). Ce d'autant que, après greffe, ces cellules ne survivent que de façon très transitoire. Il est donc très improbable que ces cellules puissent être un jour utilisées à des fins thérapeutiques pour un potentiel autre que celui, osseux, discuté ci-dessus.

#### **3.1.3.4 Cellules souches fœtales**

Plusieurs études ont fait état de propriétés particulières des cellules souches fœtales, notamment isolées du sang placentaire ombilical ou du tissu conjonctif du cordon. A la période fœtale, les tissus sont déjà parfaitement spécifiés, les cellules souches qui les constituent ont un comportement proche de celui des cellules souches adultes et n'ont plus les attributs des cellules souches embryonnaires pluripotentes. Seule une plus grande faculté de prolifération, liée à leur immaturité, les distingue des cellules souches adultes. Il reste cependant possible que quelques rares cellules puissent exprimer des propriétés particulières (comme mentionné ci-dessus pour les CSM), mais si c'est une question importante en recherche, elle paraît aujourd'hui sans conséquence thérapeutique importante.

D'un point de vue thérapeutique, hormis les greffes de CSH issues de sang de cordon dans les indications hématologiques et immunologiques bien codifiées, peu d'autres applications ont vu le jour, et il ne semble pas y avoir de supériorité évidente à utiliser des cellules souches/stromales mésenchymateuses issues de sang de cordon, par rapport à celles de moelle osseuse ou de tissu adipeux (qui peuvent, elle, être utilisées en situation autologue). Les essais ponctuels, parfois médiatisés à l'excès, ne sont généralement pas inclus dans une démarche de recherche clinique rigoureuse, et il est peu probable qu'ils débouchent, dans un futur proche sur un protocole à large échelle.

## **3.2. Perspectives d'utilisation thérapeutique des cellules souches**

### **3.2.1 Considérations générales**

Si les cellules souches représentent pour le chercheur un outil incomparable pour disséquer les mécanismes du vivant, elles sont souvent citées pour le potentiel thérapeutique qu'on leur attribue, la possibilité de remplacement de cellules lésées ; cette application, la plus médiatisée, sera probablement la plus longue à être concrétisée, et peut-être la plus décevante en termes de santé publique. Il faut insister sur le contraste entre l'accélération du rythme avec lequel on découvre (ou façonne) de multiples catégories de cellules souches au cours de ces dernières années et la longueur requise pour l'évaluation préclinique et clinique de leur intérêt thérapeutique chez les patients. De fait, seuls trois types de cellules souches ont aujourd'hui franchi les étapes d'essais cliniques rigoureux démontrant leur efficacité et ce, parce qu'elles ont toutes trois des particularités uniques qui facilitent leur application : les CSH, les CS de peau, et les CSM.

Indépendamment des aspects médicaux, la thérapie cellulaire à large échelle se heurte à plusieurs obstacles (voir ci-dessous) dont certains sont d'ordre économique.

En revanche, les cellules souches pluripotentes ont deux applications plus immédiates dont les implications thérapeutiques sont évidentes : la modélisation de maladies humaines et le criblage pharmacologique et toxicologique de molécules chimiques.

## **3.2.2 Cellules souches en thérapeutique : état des lieux en 2023**

### **3.2.2.1 La thérapie cellulaire**

#### **3.2.2.1-1 Etat des lieux**

Les découvertes liées aux avancées exposées précédemment ont fait évoluer les conceptions de la communauté scientifique et médicale concernant les approches thérapeutiques. L'existence d'une diversité beaucoup plus vaste des types cellulaires utilisables, la confirmation de la plasticité inhérente à beaucoup de cellules (dont le potentiel pourrait alors être modulé), permettent d'envisager des stratégies cliniques elles-mêmes plus diversifiées : adaptation du produit de thérapie cellulaire à la pathologie ciblée (type de cellules, préparation autologue ou allogénique, contrôle qualité), type d'administration (injection, patch, encapsulation), stratégie de préparation. Outre la coopération multidisciplinaire entre chercheurs travaillant sur des types cellulaires différents, il sera nécessaire d'associer à la conception et au déroulement des essais cliniques des compétences supplémentaires : qualitatifs, ingénieurs, spécialistes des biomatériaux, mathématiciens spécialistes de la modélisation, entre autres. On peut regretter que les acteurs de ces disciplines essentielles au succès futur des cellules souches soient encore peu visibles.

De fait, peu de nouvelles cellules souches ont prouvé leur utilité par une action directe, qui exploite leur fonction de production de cellules différenciées remplaçant des cellules lésées : les CSH (adultes et fœtales) et cellules souches épidermiques et les cellules souches de cornée, restent toujours les trois seules classes de cellules souches dont l'utilisation thérapeutique à large échelle est validée en routine. D'autres essais plus ponctuels (phase I ou phases I/II) sont en cours, utilisant des progéniteurs osseux, des progéniteurs neuronaux (neurosphères), des îlots de Langherans ou des progéniteurs cardiaques (issus de biopsies cardiaques adultes).

Mais la majorité des essais cliniques randomisés double aveugle contre placebo dans de grandes séries de patients utilisent des cellules dites « souches mésenchymateuses » ou encore « stromales mésenchymateuses » issues généralement de moelle osseuse ou de tissu adipeux dans des indications d'immunomodulation. Les cellules pourraient alors agir via la sécrétion de cytokines inhibitrices de la réaction immune, ou anti-inflammatoires. C'est aussi par leur possible stimulation de l'angiogenèse ou la sécrétion d'autres facteurs de croissance, qu'elles auraient une action bénéfique sur la réparation cellulaire spontanée. Enfin, leurs possibles propriétés immuno-modulatrices permettrait de les co-transplanter avec des organes ou d'autres cellules réparatrices, afin d'atténuer les phénomènes de rejet du greffon dans le cas de greffe allogénique. Dans ce cas, les cellules sont utilisées pour leur action « adjuvante » des cellules souches injectées. L'objectif n'est pas de remplacer les cellules défectueuses, mais d'agir indirectement en favorisant une réparation tissulaire endogène (provenant de mécanismes mettant en jeu les cellules du patient) ou l'établissement d'un autre greffon. Les CSM, facilement amplifiables, trouvent ici leur indication de choix, ce d'autant qu'elles exposent à un faible risque, puisqu'elles ne perdurent probablement pas à long terme dans l'organisme.

Avec un recul de plus de dix ans maintenant, on ne peut que constater que seuls de très rares essais ont évalué l'intérêt thérapeutique des cellules souches mésenchymateuses issues de sang de cordon (les CSH issues de sang de cordon étant couramment utilisées en routine dans des indications hématologiques/immunologiques), ce qui semble confirmer le peu d'avenir de cette source dans des indications autres qu'hématologiques ou immunologiques.

Il faut faire preuve de prudence car il y a une contradiction entre l'enthousiasme médiatique qui prédit une utilisation thérapeutique rapide des cellules souches adultes et fœtales (citons les controverses touchant le sang de cordon) et la réalité des essais cliniques actuels puisque, même dans le cas des cellules stromales mésenchymateuses, les conclusions des essais d'efficacité ne sont pas encore disponibles.

### **3.2.2.1-2 Prospective liée aux cellules souches pluripotentes**

- **Les premiers essais cliniques** de phase I/IIa sont en cours avec les CSEh (voir plus haut), et les premières évaluations disponibles en 2023 n'ont pas montré d'effet indésirable. Parmi les essais cliniques qui pourraient voir le jour avec des cellules dérivées de CSEh, les essais pré-cliniques étant concluants, on peut citer deux protocoles. Le premier a pour objet le traitement des ulcères de la peau liés à la drépanocytose (Laboratoire I-Stem). Cette équipe a dérivé un substitut cutané à partir de CSEh qui pourra être appliqué sous forme de pansement. Le deuxième concerne le traitement des maladies métaboliques du foie (Tuan Huy Nguyen, société GoLiver Therapeutics, Nantes). Cette équipe a mis au point un protocole de différenciation des cellules souches embryonnaires en hépatocytes qui pourront être greffées chez le patient atteint d'insuffisance hépatique aiguë, un essai clinique est envisagé à l'horizon 2024.

- **Le besoin de structures adaptées pour un produit cellulaire adapté, fonctionnel et sûr**

CSEh et iPS posent des problèmes très spécifiques pour une utilisation thérapeutique : il ne s'agit plus d'un couple donneur-receveur et de petits nombres de cellules comme dans le cas de CSH ou de cellules stromales mésenchymateuses, mais d'une source illimitée de cellules amplifiées *in vitro*, et pouvant être utilisée pour un grand nombre de receveurs. Cela impose une logistique et des critères de qualité et de sécurité très nouveaux et qui ne sont pas encore définis, mais devront l'être non pas à l'échelle d'un service hospitalier, ni même d'un pays, mais dans le cadre d'une réflexion internationale. En effet, si l'on envisage une application clinique large, répondant à un besoin de santé publique, et réaliste sur un plan économique, il faut répondre à plusieurs impératifs : un produit cellulaire disponible en quantité non limitée, standardisé, reproductible, et validé sur le plan de la sécurité et de l'efficacité, peut-être stocké dans quelques biobanques. Des structures dédiées à la bioproduction ont déjà vu le jour sur le territoire national (Cell4Cure, Yposkesi). Un très gros travail doit être fait pour répondre à ces impératifs, qui demandera plusieurs années.

### **3.2.2.1-3 Enjeux éthiques : un tourisme médical lié aux cellules souches ?**

L'enjeu thérapeutique et l'excès d'optimisme des médias ont stimulé l'émergence d'entreprises d'escroquerie sous la forme de cliniques proposant – *via* Internet et moyennant une somme importante - des traitements utilisant des cellules souches (mésenchymateuses, de sang de cordon, neurosphères) plus ou moins manipulées *ex vivo*, et qui n'ont pas été approuvés par les agences réglementaires des pays dans lesquels opèrent ces cliniques. Outre leur danger potentiel, ces traitements n'ont en général aucune efficacité. La communauté scientifique internationale, via l'ISSCR (*international society for stem cell research*) et la publication de multiples articles, s'est mobilisée pour informer les patients et les mettre en garde<sup>1</sup>. La FDA américaine est aussi intervenue activement depuis quelques mois aux Etats-Unis, et la Chine tente de contrôler ces offres.

Il est donc important de délivrer aux citoyens une information juste et réaliste, sans faire miroiter des progrès thérapeutiques dont on sait qu'ils ne pourront pas être tenus. C'est le ferment le plus sûr du développement de ces dérives du « stem cell tourism ».

---

<sup>1</sup> A ce propos voir : [http://www.isscr.org/About\\_Stem\\_Cell\\_Treatment.htm](http://www.isscr.org/About_Stem_Cell_Treatment.htm)

### **3.2.2.2 Modélisation de maladies humaines**

Un prérequis important pour soigner est de comprendre, donc de modéliser, la maladie car l'exploration directe chez le patient est souvent très difficile et l'accès aux cellules primaires impossible, en particulier dans le domaine des pathologies du système nerveux et du cerveau. La souris a été et reste un modèle précieux, et nombre de maladies ont été comprises grâce aux constructions de souris transgéniques chez lesquelles on créait un gain ou une perte de fonction d'un gène incriminé dans une pathologie humaine. Mais, outre que certaines maladies complexes et multigéniques peuvent difficilement être modélisées, dont l'émergence de tumeurs, la souris n'est pas un modèle représentatif de la physiologie humaine, et ne peut pas toujours prédire un effet délétère. La disponibilité de lignées de cellules CSEh porteuses d'une mutation délétère et dérivées d'embryons préimplantatoires récusés en raison d'un diagnostic préimplantatoire (DPI) positif a permis, dans les années 2000, de modéliser avec succès certaines maladies monogéniques (due à la présence de mutations sur un seul gène) humaines : citons l'amyotrophie spinale, la mucoviscidose, la maladie de Huntington, etc.

La relative facilité d'obtention d'iPS, et ce chez tout patient quelle que soit sa maladie – contrairement aux restrictions imposées aux indications de DPI pour les CSEh - ouvre des perspectives importantes dans ce domaine, en particulier dans les pathologies neurologiques où l'accès aux cellules primaires malades est quasi-impossible.

Depuis 2007, la liste des iPS établies à partir de cellules de patients ne cesse de s'allonger. On peut citer quelques exemples parmi les études les plus significatives car mimant certaines des anomalies caractéristiques de la maladie chez l'homme : des iPS ont ainsi été dérivées dans plus d'une dizaine de maladies neurologiques monogéniques et idiopathiques, et dans certains cas (Parkinson, syndrome de Rett, sclérose latérale amyotrophique, maladie de Huntington, etc.) des anomalies représentatives de la situation *in vivo* ont été identifiées. Un exemple très informatif dans un autre domaine est celui des cardiomyocytes dérivés d'iPS établies à partir de patients atteints du syndrome du QT long (arythmie cardiaque entraînant un risque de mort subite) par mutation d'un gène identifié (KCN). Ces cardiomyocytes expriment l'anomalie rythmique et répondent comme ceux des patients aux différentes drogues testées. C'est donc un bon modèle de la maladie, et qui plus est, miniaturisable pour des tests pharmacologiques. Beaucoup d'efforts se sont focalisés dans les maladies neurologiques, dont le pronostic est très sombre et pour lesquelles aucun traitement n'est disponible, et où les modèles animaux ne miment que partiellement les déficits humains. Le rythme des publications s'est beaucoup accéléré, avec par exemple les avancées récentes décrites dans la maladie de Huntington : avec les CSEh, différenciées avec succès en neurones striataux, avec les iPS mimant le défaut moléculaire qui a pu être corrigé par manipulation génétique. De même dans la sclérose latérale amyotrophique, plusieurs travaux publiés essaient de découvrir des molécules chimiques capables d'améliorer la fonction des neurones moteurs. A noter que le laboratoire iStem à Evry a identifié, par une approche de criblage pharmacologique sur CSEh porteuses de mutations, une molécule utilisée récemment dans des essais cliniques de phase II : le lithium, sur des patients atteints du syndrome de Phelan-McDermid, une forme d'autisme génétique rare.

Plus récemment, la mise à disposition des techniques d'édition du génome telles que CRISPR Cas9 a permis de créer des modèles de pathologie par introduction de mutations au sein de CSEh indemnes. Ce type de modèle est particulièrement pertinent, car il permet de comparer la lignée porteuse de la mutation à la lignée d'origine, ces deux lignées étant génétiquement identiques à l'exception de la mutation introduite.

### **3.2.2.3 Recherche de traitements pharmacologiques par criblages de molécules**

La disponibilité de modèles cellulaires mimant le dysfonctionnement de maladies humaines représente une avancée considérable pour la recherche de molécules capable de restaurer un fonctionnement normal, et donc de déboucher sur un médicament efficace. Cela peut être réalisé par criblage à haut-débit de banques de composés chimiques actuellement disponibles. Ce criblage peut aussi être conçu pour évaluer la toxicité de molécules destinées à une application chez l'homme, et/ou rechercher des substances susceptibles d'altérer la différenciation ou la prolifération de différents types de précurseurs

différenciés à partir de cellules souches pluripotentes normales. Cette stratégie de criblage étant robotisée compte tenu des milliers de molécules à tester, elle implique de miniaturiser les cultures et de disposer de marqueurs aisément décelables (étiquettes fluorescentes, expression protéique, etc.) lorsque la cellule passe par un état donné de différenciation ou de prolifération susceptible d'être influencé par la molécule d'intérêt.

Prenons quelques exemples publiés récemment :

- Recherche de médicaments corrigeant les conséquences d'une mutation délétère. Les cellules souches embryonnaires sont dérivées d'embryons porteurs de cette mutation (issus d'un diagnostic préimplantatoire) et les iPS de biopsies de patients atteints de la maladie. On identifie dans des cellules une anomalie de différenciation reproduisant certains aspects des maladies, et on teste, comme précédemment, des milliers de molécules chimiques à la recherche de celles qui corrigeront cette anomalie.
- Un essai clinique de phase I a récemment été mené en France sur la Maladie de Steinert suite à la mise en évidence d'une action de la metformine (un anti diabétique couramment prescrit pour le diabète de type II) sur des cellules souches embryonnaires porteuses d'une mutation à l'origine de la maladie. Les études ont en effet montré que cette molécule pouvait agir sur d'autres voies moléculaires et être efficace dans le traitement de cette maladie neuromusculaire. Un essai de phase II est actuellement en cours à l'échelle européenne. Ce domaine pose un défi majeur lors du développement pharmacologique : il induit des coûts importants, et les méthodes actuelles d'analyse ne sont que très partiellement satisfaisantes, que ce soit pour analyser les effets toxiques de molécules commerciales à des fins médicales ou cosmétiques, ou pour l'analyse de la détoxification de produits ou le métabolisme de médicaments. Dans les deux cas, les cellules utilisées sont surtout des cardiomyocytes (exemple ci-dessus) et des hépatocytes, et la disponibilité de cellules dérivées de CSEh ou d'iPS pourrait bouleverser le champ d'action, ce d'autant que ces lignées peuvent refléter l'ensemble de la diversité génétique des individus. Mais l'utilisation en routine est encore très prématurée et les obstacles principaux à résoudre sont l'obtention d'hépatocytes différenciés fonctionnels, en particulier induisant les enzymes de détoxification, et la reproductibilité des critères de fonctionnalité d'une lignée à l'autre, objectifs qui sont encore loin d'être atteints de façon satisfaisante. Surtout, dans ces applications industrielles, beaucoup d'obstacles restent à franchir, en particulier dans le choix des lignées, la standardisation des méthodes de culture et des tests, la miniaturisation et la définition des marqueurs, l'automatisation des tâches, mais comme précédemment, les succès sont déjà tangibles.

### **3.3. Enjeux organisationnels et internationaux**

Outre qu'elle change notre vision de la thérapie cellulaire et a permis des avancées fondamentales considérables, la recherche sur les cellules souches pluripotentes (CSEh et iPS) a d'autres répercussions dans le domaine économique, social et éthique qui doivent être anticipées et nourrir une réflexion.

Un autre changement de taille est survenu : cette recherche, et demain peut-être ses applications thérapeutiques, se discutent et se réalisent à l'échelon international (Il faut en particulier signaler l'implication très active des pays asiatiques dans ce domaine), et en impliquant de multiples équipes de recherche et plateformes technologiques. C'est vrai en particulier des bonnes pratiques, de la standardisation des critères de sécurité, de la définition des tests, de l'établissement de registres de cellules souches et du projet éventuel d'une banque de cellules HLA-typées. C'est une difficulté, car il n'y a pas d'harmonisation des réglementations nationales.

Comme l'a souligné l'Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques dès 2006, il est nécessaire également d'anticiper les conséquences que l'introduction des thérapies

cellulaires pourrait avoir sur les systèmes de protection sociale et sur leur financement. Outre qu'il resterait à préciser leurs modes de financement, ces traitements strictement individualisés paraîtraient susceptibles d'induire une logique d'assurance individuelle qui contreviendrait aux principes de solidarité qui fondent notre protection sociale. Les coûts gigantesques que demandent ces thérapeutiques pourraient être le principal frein à leur implémentation éventuelle ce d'autant que les sociétés privées n'y voient pas forcément une rentabilité importante.