

Rapport d'information au Parlement et au Gouvernement

Avril 2010

Rapport d'information au Parlement et au Gouvernement

Avril 2010

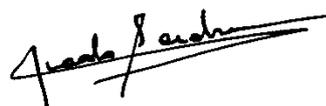
Introduction

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, la veille et l'anticipation s'imposent 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 présent rapport assure donc cette fonction de veille en se donnant pour objectif d'identifier les progrès qui se dessinent 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 des soins offerts aux patients 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 XXI^{ème} 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. Le présent rapport ne saurait prétendre à une impossible exhaustivité sur les innovations scientifiques qui s'annoncent à plus ou moins long terme dans les domaines de compétence de l'Agence. Il s'agit plutôt de proposer une analyse raisonnée des progrès en cours 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 et de santé publique.

Emmanuelle PRADA-BORDENAVE
Directrice générale
de l'Agence de la biomédecine



Sommaire

| | |
|---|----|
| INTRODUCTION | 1 |
| 1. AMELIORER L'ACCES A LA GREFFE..... | 7 |
| 1.1. LES AVANCEES CLINIQUES..... | 7 |
| 1.1.1. La prévention du rejet..... | 7 |
| La connaissance de la physiopathologie du rejet..... | 7 |
| Immunosuppression : vers une tolérance immunitaire opérationnelle ? | 8 |
| Greffe de CSH et diminution du risque de rejet..... | 9 |
| 1.1.2. L'accès à la greffe des patients « hyperimmunisés » | 9 |
| Définitions | 9 |
| Le programme « Antigènes permis »..... | 10 |
| Les promesses des immunoglobulines polyvalentes | 10 |
| 1.1.3. Les innovations techniques | 11 |
| Machines à perfusion..... | 11 |
| Avancées susceptibles de modifier la greffe pulmonaire : le reconditionnement ex vivo des greffons pulmonaires | 12 |
| Avancées thérapeutiques dans la prise en charge de l'insuffisance cardiaque | 12 |
| 1.1.4. Améliorer le système d'attribution des greffons : l'intérêt d'une attribution au malade basée sur un score | 12 |
| Les priorités | 12 |
| Une attribution au malade et non plus à l'équipe | 13 |
| Simulation et intérêt d'un score d'attribution..... | 13 |
| 1.2. RECULER LES FRONTIERES DE LA GREFFE..... | 14 |
| 1.2.1. Elargir le pool des donneurs..... | 14 |
| Les organes prélevés sur donneurs décédés après arrêt cardiaque | 14 |
| L'utilisation de greffons marginaux | 16 |
| 1.2.2. De nouvelles indications de greffe | 17 |
| Greffe de tissus composites : vers un passage en routine..... | 17 |
| Greffe de trachée | 18 |
| 1.2.3. Organes artificiels..... | 18 |
| Progrès de la dialyse | 18 |
| Vers un pancréas artificiel ? | 19 |
| 1.2.4. Xénogreffe..... | 20 |
| 1.3. GREFFES DE CELLULES SOUCHES HEMATOPOÏÉTIQUES..... | 21 |
| 1.3.1. Autogreffes de cellules souches hématopoïétiques..... | 21 |
| Avancées dans le domaine de l'autogreffe..... | 21 |
| Evolutions concernant les allogreffes | 21 |
| 1.3.2. Sang placentaire, banques..... | 22 |
| Conservation autologue ? | 22 |
| Utilisation de sang placentaire pour une médecine régénérative ?..... | 22 |
| 1.4. Thérapies innovantes | 24 |
| 1.4.1. Domaine cardio-vasculaire..... | 24 |
| Thérapie cellulaire..... | 24 |
| Thérapie génique | 25 |
| 1.4.2. Greffe d'îlots de Langerhans | 25 |
| 2. LES PROGRES DANS LE CHAMP DE LA REPRODUCTION | 29 |
| 2.1. ASSISTANCE MEDICALE A LA PROCREATION..... | 29 |
| 2.1.1. Progrès attendus des techniques d'AMP..... | 29 |
| La vitrification ovocytaire et embryonnaire | 29 |
| La conservation de tissus germinaux | 30 |
| L'IMSI (Intracytoplasmique magnified sperm injection) | 31 |
| La greffe de fragments d'ovaire | 31 |

| | |
|---|----|
| 2.1.2. Perspectives organisationnelles et méthodologiques | 32 |
| Prévalence de l'hypofertilité et prospective de la demande d'AMP | 32 |
| L'organisation du suivi des femmes et des enfants | 32 |
| 2.2. DEPISTAGES NEONATAUX..... | 33 |
| 2.2.1. Indications de dépistages : quels critères de mise en place ? | 33 |
| 2.2.2. Vers une extension des pathologies dépistées ? | 33 |
| 2.3. GENETIQUE..... | 34 |
| 2.3.1. De nouvelles technologies | 34 |
| Les études « génome entier » | 34 |
| Le diagnostic de gènes de prédisposition | 34 |
| Tests de pharmacogénétique | 35 |
| 2.3.2. L'explosion de l'offre sur Internet | 35 |
| Prédiction, personnalisation, préemption : quelles conséquences sur l'organisation des soins et le rapport à la médecine ? | 35 |
| 2.4. DIAGNOSTIC PRENATAL ET DIAGNOSTIC PREIMPLANTATOIRE | 36 |
| 2.4.1. Diagnostic prénatal..... | 36 |
| Place de l'imagerie..... | 36 |
| Dépistage plus précoce des aneuploïdies fœtales par calcul de risque | 36 |
| ARN fœtal dans le sang maternel..... | 36 |
| Cellules fœtales dans le sang maternel | 37 |
| 2.4.2. Diagnostic préimplantatoire..... | 37 |
| 3. CELLULES SOUCHES : ETAT DES LIEUX ET PERSPECTIVES..... | 41 |
| 3.1. ETAT DE L'ART..... | 42 |
| 3.1.1. Résumé des avancées significatives | 42 |
| 3.1.2. Les cellules souches embryonnaires humaines (CSEh)..... | 43 |
| 3.1.3. Les cellules souches adultes humaines (CSAh)..... | 44 |
| 3.1.4. Cellules souches mésenchymateuses (CSM) : une classe atypique de cellules souches adultes | 45 |
| 3.1.5. Cellules souches fœtales : un statut particulier ?..... | 45 |
| 3.1.6. Cellules souches et progéniteurs obtenus par un processus de reprogrammation (cellules souches induites, ou iPS)..... | 46 |
| 3.2. PERSPECTIVES CLINIQUES D'UTILISATION DES CELLULES SOUCHES | 47 |
| 3.2.1. Progrès significatifs constatés au cours de 5 dernières années..... | 48 |
| Remplacement direct..... | 48 |
| Action indirecte | 48 |
| 3.2.2. Perspectives cliniques 2010-2015: enjeux et défis..... | 51 |
| Le greffon réparateur du futur : un greffon complexe « à la carte » | 51 |
| Le besoin de structures adaptées pour un produit cellulaire adapté, fonctionnel et sûr | 52 |
| Compte tenu du développement attendu des essais cliniques utilisant des cellules souches, des enjeux d'organisation en termes de production et de contrôle de qualité se posent, qui devront être gérés à l'échelon national dans des structures appropriées. Les exemples de recherche clinique en matière de thérapie cellulaire font souvent intervenir, dans leur modèle de développement, des sociétés privées au moment d'un passage de la technologie à des échelles plus larges. L'intervention du secteur privé semblant pour l'instant, pour des raisons réglementaires, impossible en France, cette étape du développement clinique semble actuellement compromise dans notre pays. | 52 |
| Essais cliniques utilisant les dérivés des CSEh | 52 |
| Un défi : le risque tumoral des cellules pluripotentes | 53 |
| La compatibilité immunologique | 53 |
| Cellules souches pluripotentes : outils de criblage..... | 54 |

- 1 -

Améliorer l'accès à la greffe

1. Améliorer l'accès à la greffe

La greffe est un champ médical en progrès constant. Elle bénéficie du développement de nouvelles techniques et de l'acquisition de nouvelles connaissances scientifiques. Cet effort d'innovation est guidé par une exigence impérative : reculer les frontières de la greffe et du prélèvement pour répondre à la pénurie d'organes.

La greffe constitue par ailleurs une prise en charge alternative de certaines maladies chroniques lourdes, elle constitue des soins moins coûteux mais elle redonne surtout une indéniable qualité de vie aux patients.

Aujourd'hui, plusieurs avancées cliniques significatives permettent d'améliorer la prise en charge des patients greffés (1.1.) mais la pénurie d'organes impose de continuer à élargir, par un effort constant d'innovation, les frontières de la greffe (1.2.). Les progrès de la greffe de cellules souches hématopoïétiques et des thérapies innovantes (1.3.) sont également prometteurs.

1.1. Les avancées cliniques

La prise en charge des patients qui ont besoin d'une greffe s'améliore de façon continue. Aujourd'hui, les progrès qui sont engagés à court ou moyen terme concernent notamment quatre enjeux principaux. En premier lieu, des efforts de recherche conséquents sont engagés pour mieux prévenir le rejet de greffe en améliorant les éléments du contrôle de la réponse immune des patients greffés (1.1.1.). En second 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.). Dans le champ de la technique, plusieurs innovations permettent d'envisager de meilleures prises en charge, notamment en améliorant les conditions de conservation des greffons (1.1.3.). Ces progrès des connaissances et des techniques doivent être accompagnés au plan organisationnel par une amélioration constante de la structuration du système de prélèvement et de greffe, auquel l'Agence de la biomédecine entend contribuer, notamment en termes d'attribution des greffons (1.1.4.).

1.1.1. La prévention du rejet

La connaissance de la physiopathologie du 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 de certitude ne peut être obtenu que par la biopsie du greffon et l'examen anatomo-pathologique. Il existe plusieurs catégories de rejet : le rejet humoral, hyper aigu (en moins de 72 h), aigu ou chronique, qui se caractérise par des lésions histologiques spécifiques et la présence d'anticorps anti-HLA dirigés contre le greffon, et d'autre part le rejet cellulaire, aigu ou chronique.

La caractérisation biologique et histologique du rejet humoral est relativement récente et nécessite de disposer de techniques dites de haute définition dans un délai court pour guider les traitements, d'un suivi histologique systématique comprenant des marqueurs spécifiques, et 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.

Le principal facteur de risque est une immunisation anti-HLA antérieure. Une grossesse, une transfusion ou une greffe antérieure sont les seuls événements immunisants permettant la présentation de déterminants antigéniques HLA inconnus aux lymphocytes du patient.

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. De nouveaux concepts de calcul de compatibilité HLA sont en cours de développement à l'échelon international dans le but de concevoir une « épargne immunologique » c'est-à-dire de diminuer « l'immunogénicité » du greffon. C'est un concept très prometteur, surtout pour les enfants et les jeunes adultes, mais qu'il convient de contrebalancer pour les receveurs plus âgés par le risque d'une attente plus longue sur la liste sans améliorer la survie post-greffe conditionnée surtout par la longévité du receveur.

Le pronostic de ces rejets varie selon le mécanisme en jeu mais aussi selon la précocité du diagnostic. Ce dernier constat a amené à la mise en place de manière très large depuis quelques années de protocoles de biopsies systématiques permettant un dépistage et donc un traitement précoce et plus efficace de ces rejets.

Immunosuppression : vers une tolérance immunitaire opérationnelle ?

Les traitements par immunosuppresseurs présentent de nombreux inconvénients. Les agents employés ne sont en majorité pas spécifiques des alloantigènes et dépriment l'ensemble de l'immunité. Les mécanismes d'immunosurveillance 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 (de 50% en 1995 à 10-20% en 2008) ; mais l'incidence du rejet chronique (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.

La première phase du rejet est la reconnaissance des allo-antigènes du greffon par des récepteurs spécifiques des lymphocytes T, puis une activation et une prolifération clonale des lymphocytes T, nécessitant l'association de quatre signaux. Ces dernières années, différents protocoles d'associations d'immunosuppresseurs ont été testés dans le but d'améliorer leur synergie et d'agir à différents points clé de ces signaux pour permettre à chaque molécule de neutraliser à des étapes différentes l'activation puis la prolifération des lymphocytes. De plus, en association, les posologies individuelles de chaque molécule peuvent être revues à la baisse pour diminuer les effets indésirables tout en conservant une même pression immunosuppressive.

Par ailleurs, les limites des traitements immunosuppresseurs conduisent à vouloir développer des stratégies capables d'induire une tolérance vis-à-vis du greffon, c'est-à-dire un état d'hyporéponse immunologique spécifique des alloantigènes permettant la suspension totale de tout traitement immunosuppresseur. L'objectif est de détourner de leur fonction première les mécanismes de tolérance au soi. 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. Il reste que dorénavant, grâce à de nouvelles stratégies d'immuno-intervention, la perspective d'une vie sans traitement après la greffe est en passe de devenir réalité.

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

- l'étude des effets immunomodulateurs de certaines cellules souches (mésenchymateuses principalement) ;
- 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.

La prévention de la perte tardive des greffons

La survie des greffons s'est considérablement améliorée, grâce aux progrès des traitements immunosuppresseurs mais aussi aux améliorations des liquides de conservation des greffons. Néanmoins, dans le cas par exemple des greffons rénaux, la pente de diminution de la survie n'a plus été modifiée depuis 20 ans. La réponse allo-immune contre le greffon reste une des principales causes de perte tardive des greffons en greffe d'organe et aucun traitement ne permet actuellement d'en contrôler efficacement l'évolution. D'autres facteurs participent à la destruction progressive du greffon, comme l'évolution fibrosante des lésions secondaires à l'orage cytokinique de la mort encéphalique ou de l'ischémie reperfusion, ou encore du fait d'agressions post-greffe comme la toxicité rénale de la principale famille d'immunosuppresseurs, les infections urinaires ou l'hypertension artérielle. Or la situation de pénurie d'organes rend d'autant plus impérieuse l'amélioration de la survie des greffons.

Pour lutter contre la perte tardive des greffons, les axes de recherche suivants sont actuellement développés :

- l'analyse des mécanismes du rejet chronique et la recherche de marqueurs de tolérance ou de rejet ;
- la personnalisation du suivi post-greffe, via l'utilisation de puces ADN, permettant d'identifier et de prévenir les risques de rejet ;
- la personnalisation des traitements immunosuppresseurs en fonction des risques de rejet, de façon à minimiser les complications post-greffe ;
- l'amélioration des conditions de conservation des organes prélevés.

Greffe de CSH et diminution du risque de rejet

L'administration d'un greffon de cellules issues de la moelle osseuse du donneur lors des greffes d'organe pourrait permettre d'améliorer la tolérance, grâce à l'établissement d'un micro-chimérisme, voire d'un nano-chimérisme (présence quasi indétectable de cellules immuno-compétentes du donneur). Une équipe de Boston a publié en 2008 des résultats intéressants chez des patients atteints de néphropathie myélomateuse et recevant une greffe de rein et une greffe de CSH. La possibilité d'interrompre le traitement immunosuppresseur des patients greffés permettait à cette équipe d'envisager d'étendre cette approche chez des patients indemnes de maladie hématologique. La prise en compte des risques de complication immunologique maintient cependant ce type de travaux dans le domaine de la recherche clinique. Cette pratique très prometteuse a aussi été appliquée par l'équipe des Pr Dubernard et Michallet dans le cadre des allogreffes de tissus composites (1.2.2.).

1.1.2. L'accès à la greffe des patients « hyperimmunisés »

Définitions

Les patients qui présentent une hyperimmunisation HLA ont un taux élevé d'anticorps cytotoxiques anti-HLA qui rend pratiquement impossible l'obtention d'une compatibilité avec un donneur. Le système HLA, élément essentiel de la réponse immunitaire contre le non-soi, est particulièrement impliqué dans les mécanismes de rejet de greffon, qui peuvent conduire à l'échec d'une greffe malgré les thérapeutiques immunosuppresseuses. A la suite d'une transfusion, d'une grossesse ou d'une greffe antérieure, le receveur potentiel peut produire des anticorps anti-HLA dirigés contre des spécificités qu'il n'exprime pas, ce qui représente un facteur de risque du rejet humoral aigu en cas de présence de ces spécificités HLA sur l'organe greffé.

La greffe d'un patient immunisé doit être précédée d'une caractérisation précise de l'immunisation pré-greffe grâce aux techniques d'identification dites sensibles et d'une discussion clinico-biologique indispensable pour mieux apprécier la balance bénéfique/risque pour le patient et guider le choix de la stratégie de greffe. Ensuite, quelle que soit la stratégie de greffe adoptée, l'immunosuppression doit être adaptée et un suivi du patient immunisé, et en particulier de ses anticorps anti-HLA, doit être instauré, l'utilisation de nouvelles stratégies thérapeutiques (immunoglobulines polyvalentes, Rituximab, échanges plasmatiques) permettant de contrôler leur production.

Le programme « Antigènes permis »

La création d'une priorité nationale pour les patients hyperimmunisés ne présentant pas plus d'une incompatibilité HLA avec le donneur et la mise en place en 2005 du programme « Antigènes permis » ont permis d'augmenter le nombre de propositions de greffons compatibles pour ces patients et donc leur accès à la greffe. Ce programme, qui fête bientôt ses cinq ans, a permis la greffe de plus de 350 receveurs hyperimmunisés avec des résultats de survie à deux ans comparables aux résultats obtenus avec des patients non immunisés. Ce programme 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, et de les déclarer comme permis. Dans le cadre d'une priorité nationale, ces patients peuvent bénéficier de propositions de greffons ne présentant pas plus de cinq incompatibilités, du moment que ces incompatibilités sont considérées comme permises.

Les promesses des immunoglobulines polyvalentes

En cas d'immunisation anti-HLA très large et d'impossibilité de trouver un donneur compatible, il faut alors envisager des stratégies de greffe plus à risque. La greffe est, dans ce cas, réalisée dans un contexte de présence d'anticorps dirigés contre un ou plusieurs déterminants HLA du donneur. Ces anticorps spécifiques du donneur ont soit disparu spontanément avec le temps, soit leur production a été neutralisée grâce à des protocoles de désensibilisation. L'expérience française, fondée sur les propriétés neutralisantes des immunoglobulines polyvalentes, a été publiée par Glotz et al. Ces résultats ont été confirmés par d'autres études, en particulier américaines. En cas d'échec prévisible (test *in vitro*) ou constaté, les IVIg ont été associés à des échanges plasmatiques et du Rituximab avec un succès comparable. Dans les deux cas de figure, 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 anti-rejet. A l'heure actuelle, le recul sur ces stratégies de greffe à risque immunologique demeure insuffisant pour en établir le bénéfice global, d'où la nécessité de mettre en place d'emblée les outils qui aideront à interpréter les résultats de ces stratégies de greffe, à recenser les complications infectieuses et carcinologiques de la sur-immunosuppression, à évaluer le surcoût important de ces nouvelles thérapeutiques et enfin à analyser la survie des greffons et des patients à moyen et long terme.

Ces protocoles de greffe à risque immunologique sont surtout développés pour la greffe rénale. La modification des profils des patients en attente de greffe thoracique a créé de véritables difficultés d'accès à la greffe pour une partie d'entre eux et des programmes similaires, adaptés aux particularités de la greffe de poumons ou de cœur, devront donc être rapidement développés.

1.1.3. Les innovations techniques

Machines à perfusion

Les lésions liées à la conservation et à la reperfusion de l'organe alimentent le risque de rejet. A ce jour, le mode de conservation le plus utilisé pour conserver 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.

Des expériences très encourageantes ont été rapportées 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. Le concept de machine à perfusion est ancien, puisque dès 1935 Carrel et Lindbergh avaient déjà imaginé une machine à perfusion d'organe. Volontiers 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.

Depuis la fin des années 1990, avec l'amélioration des connaissances sur les lésions d'ischémie reperfusion et leurs conséquences à moyen terme sur la survie des greffons, ces machines connaissent un net regain d'intérêt. La conservation par perfusion hypothermique permet théoriquement d'assurer un lavage optimal du greffon, de mieux répartir le froid, 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. 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 cardiaque), par rapport à une simple conservation à froid. Par ailleurs, la machine à perfusion paraît être le seul outil qui permette 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), permettant ainsi d'écarter précocement de la greffe des organes destinés à ne pas fonctionner. A l'inverse, 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.

C'est notamment la nécessité d'une sélection rigoureuse des greffons issus de donneurs décédés après arrêt cardiaque (voir ci-dessous) qui a justifié le développement de ces machines en France. Elles sont en effet indispensables pour conserver les reins prélevés après arrêt cardiaque, mais leur utilisation devrait s'étendre à la majorité des reins jugés non optimaux.

Ce concept de perfusion *ex vivo*, désormais établi comme efficace en greffe rénale, est en train d'être développé pour les organes thoraciques, en particulier pour les poumons, mais aussi pour le foie. Des prototypes de machines sont en cours d'essai chez l'animal ou chez l'homme selon l'avancée des programmes et devraient être proposés bientôt pour la pratique courante. 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 le succès de la greffe. Des tests de viabilité, a priori plutôt biologiques, vont être proposés durant la perfusion *ex vivo* des organes.

Avancées susceptibles de modifier la greffe pulmonaire : le reconditionnement ex vivo des greffons pulmonaires

L'activité de greffe pulmonaire en France couvre environ la moitié de la demande. Le reconditionnement *ex vivo*, par machine, des poumons récusés initialement pour la greffe en raison de leur mauvaise fonction est l'une des voies pour résoudre cette pénurie. Différentes équipes dont certaines françaises se sont engagées dans cette recherche. Plusieurs stratégies de reconditionnement sont comparées. Des résultats positifs permettraient d'améliorer l'efficacité actuelle du prélèvement pulmonaire. Cela aurait également un impact sur la logistique du prélèvement des greffons pulmonaires et leur répartition.

Avancées thérapeutiques dans la prise en charge de l'insuffisance cardiaque

Les maladies cardiovasculaires sont, après le cancer, la deuxième cause de décès en France. La prévalence de l'insuffisance cardiaque en Europe se situe entre 2 et 3% de la population.

Il s'agit d'une maladie affectant surtout les personnes âgées, avec un âge moyen des insuffisants cardiaques de 75 ans et une prévalence de la maladie entre 70 et 80 ans de 10 à 20%. La prévalence continue d'augmenter en raison du vieillissement de la population et des progrès dans la prise en charge de la maladie coronaire, première cause d'insuffisance cardiaque. La stratégie thérapeutique combine le traitement pharmacologique à l'implantation de stimulateurs cardiaques et de défibrillateurs automatiques. La greffe cardiaque est réservée aux insuffisants cardiaques terminaux. L'activité de greffe cardiaque en France couvre environ la moitié de la demande. Malgré les progrès thérapeutiques de ces dernières années, environ 50% des malades sont morts 4 ans après être entrés dans la maladie. La prise en charge de l'insuffisance cardiaque est susceptible de bénéficier de l'avancée et des recherches dans trois domaines particuliers : les dispositifs d'assistance circulatoire mécanique, mais aussi la thérapie cellulaire et la thérapie génique (voir §1.4.1).

1.1.4. 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 pratiques d'allocation des greffons sont en constante évolution pour améliorer l'efficacité, l'équité et la transparence de la répartition des organes.

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 (local, interrégional, puis national), selon les règles spécifiques à chaque organe, la France étant divisée en sept zones interrégionales de prélèvement et de répartition des greffons (ZIPR). Quel que soit l'organe, l'équipe médicochirurgicale 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 son bilan d'activité.

Une attribution au malade et non plus à l'équipe

Une étape majeure a été franchie ces dernières années en greffe rénale et hépatique par 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 que le greffon est attribué. En l'absence de malade relevant d'une catégorie prioritaire, un greffon prélevé dans une zone de prélèvement affectée à une équipe de greffe était en effet proposé à cette équipe. Si le greffon était refusé par l'équipe locale, il était proposé à tour de rôle aux autres équipes de l'interrégion de prélèvement, puis, en cas de refus aux équipes des autres interrégions. Dans chaque cas, la gestion finale était laissée à l'équipe, libre de choisir, dans sa liste d'attente, le patient qu'elle jugeait le mieux adapté à recevoir le greffon proposé.

L'attribution des greffons par l'équipe devait se conformer à deux principes généraux : inscription obligatoire préalable du receveur en liste d'attente, et greffe dans le même groupe sanguin. Ce système laissait une place très majoritaire à l'attribution par l'équipe. Quelle que soit la provenance du greffon, ce système conduisait à ce que la décision médicale d'allouer un greffon soit dans la grande majorité des cas confinée à un nombre réduits de receveurs potentiels. Le choix du receveur était optimisé localement, sur une liste d'attente "un jour donné" parfois très réduite en receveurs de même groupe sanguin que le donneur.

Simulation et intérêt d'un score d'attribution

La question de l'efficacité et de l'équité d'un tel système, très exposé aux aléas du prélèvement et aux contingences du découpage territorial de la greffe, est devenue un motif pour agir. Les bilans d'évaluation annuelle des activités de prélèvement et de greffe montraient des disparités importantes concernant les taux de décès en liste d'attente pour la greffe de foie, ainsi que les durées de séjour en liste d'attente pour la greffe rénale et la greffe de foie. La conduite du changement a été facilitée par la construction d'une plateforme de simulation. La plateforme de simulation des règles de répartition des greffons permet en effet de modéliser la répartition des greffons à partir des données historiques du prélèvement et de la greffe, selon divers scénarios, et de comparer les résultats simulés aux résultats observés pendant la période écoulée. Dans ce domaine peu accessible aux études expérimentales prospectives et où les études observationnelles ne permettent que de constater d'éventuels défauts à corriger, cet outil se révèle particulièrement utile pour construire pas à pas, avec les équipes de greffe, un système à la fois plus efficace et plus équitable. La plateforme permet aussi de définir les critères de jugement qui seront utilisés pour évaluer l'efficacité et l'équité du score et d'en affiner le réglage au cours du temps, rendant l'attribution des greffons conforme à des objectifs préalablement définis en concertation. L'objectif principal des évaluations sur le plan de l'équité est de vérifier que le système d'attribution ne réalise pas de ségrégation artificielle au dépens de certains groupes de malades en attente de greffe.

L'intérêt majeur d'un score est de réaliser un compromis pondéré et explicite entre des critères d'attribution parfois contradictoires. Le score est une grandeur affectée à chaque receveur potentiel d'un greffon donné. Il résulte du calcul d'une fonction multi-variée 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.

Le « score rein » a été déployé progressivement à l'ensemble des interrégions à partir de 2004. 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 en effet 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. Il 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. Le score foie tient compte aussi des aspects logistiques, comme la distance entre le lieu de prélèvement et le lieu de greffe, et de la situation frontalière de l'équipe. Le score foie mutualise un nombre important de greffons à l'échelon national tout en laissant encore de la place à la priorité locale qui permet une gestion plus médicale des listes d'attente.

De plus, les malades nécessitant un accès urgent à la greffe pour des raisons mal prises en compte par les autres composantes du score foie peuvent bénéficier d'une priorité individualisée immédiate ou progressive après avis du collège d'experts. La procédure habituelle est conservée pour les demandes de mise en super-urgence nationale ou en urgence régionale. En l'absence de malade urgent prioritaire, tout greffon est proposé au malade ayant le score plus élevé. S'il s'agit d'un greffon prélevé localement, le score s'applique aux malades de la liste locale comme une aide au choix ; sinon, le score s'applique à l'ensemble de la liste nationale d'attente et sélectionne les malades pour lesquels les propositions seront transmises aux équipes selon le rang de classement.

Enfin, pour les greffes cardiaques, la mise en place d'un score est conditionnée par les résultats d'une étude prospective lancée en janvier 2010 s'intéressant aux déterminants du risque de décès en attente de greffe et après greffe. Cette étude doit permettre de calculer, pour tous les inscrits sur la liste d'attente, le bénéfice individuel de la greffe qui donnera un ordre de priorité aux malades urgents. Les travaux de simulation pourront débiter à l'horizon 2012.

1.2. Reculer les frontières de la greffe

Transgressive dès ses origines, la greffe est appelée à relever des défis audacieux en élargissant toujours ses frontières afin de répondre aux besoins des patients dans un contexte de pénurie d'organes prélevés. De nouvelles connaissances acquises permettent ainsi d'élargir les critères de prélèvement (1.2.1.) et de développer de nouvelles indications de greffes (1.2.2.), cependant que les progrès scientifiques et techniques enrichissent la piste des organes artificiels (1.2.3.) et l'horizon de la xéno greffe (1.2.4.).

1.2.1. Elargir le pool des donneurs

Les organes prélevés sur donneurs décédés après arrêt cardiaque

Il est important de replacer l'utilisation des greffons provenant de donneurs décédés après arrêt cardiaque (DDAC) dans son contexte historique.

La France a été la première à tenter d'utiliser des greffons provenant de donneurs à cœur non battant, puisque dès 1951, les reins provenant de condamnés à mort étaient immédiatement prélevés pour être transplantés chez des patients insuffisants rénaux terminaux. Cette procédure de prélèvements d'organes sur donneurs DDAC 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, alors que la France avait délaissé le recours au DDAC, 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. Ces améliorations ont été obtenues grâce à une sélection plus stricte des donneurs et des receveurs, grâce au respect de délai très court d'ischémie chaude et froide, et enfin grâce à l'apport de nouvelles techniques comme la machine à perfuser les greffons ou la circulation extracorporelle régionale normothermique.

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.

Le comité d'éthique de l'Etablissement français des Greffes s'est saisi de la question en 2003, et a conclu, tout comme l'Académie de Médecine en mars 2006, que cette procédure satisfaisait à toutes les dispositions éthiques et déontologiques et devait être encouragée pour lutter contre la pénurie d'organes. Le comité d'éthique a rédigé un certain nombre de recommandations mettant l'accent sur la nécessité :

- de la création d'un comité de pilotage national et la rédaction d'un protocole médical commun précisant les conditions de réalisation de ce type de prélèvement ;
- d'une approche et une information des proches par du personnel expérimenté ;
- d'une information et une formation des personnels soignants impliqués. L'accueil des proches étant un moment délicat, le protocole médical rappelle qu'il est indispensable de respecter les temps consacrés à la recherche des proches du défunt et aux entretiens avec ces derniers ;
- de la mise en place d'un nombre restreint de sites pilotes, volontaires, disposant des moyens appropriés, déjà expérimentés dans la prise en charge de donneurs d'organes et de leurs proches et s'engageant à respecter le protocole commun ;
- de restreindre la procédure aux donneurs relevant uniquement des catégories I et II de la classification de Maastricht (donneurs dits non contrôlés) c'est-à-dire les personnes présentant un arrêt cardiaque réfractaire en l'absence ou en présence des secours médicalisés.

Seule la France s'est dotée d'un protocole médical commun avec une procédure unique d'application multicentrique sur des critères d'inclusion et d'exclusion consensuels, reprenant les 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.

L'évaluation à un an puis à deux ans du protocole initié en 2006 sous l'égide de l'Agence de la biomédecine a montré des résultats satisfaisants, en rapport avec les attentes. Il reste à obtenir une diminution du taux de reprise retardée de fonction du greffon, éventuellement en améliorant les performances des techniques de perfusion et de conservation des organes.

Lors de la modification des textes réglementaires en août 2005, seul le prélèvement des reins et du foie a été envisagé au vu des données internationales disponibles lors de la rédaction du protocole médical. Depuis, des travaux internationaux ont validé le principe du prélèvement de poumons sur donneurs décédés après arrêt cardiaque avec des résultats post-greffe satisfaisants.

Enfin, l'extension possible de ce programme aux donneurs de la catégorie III de Maastricht, c'est-à-dire chez des patients faisant l'objet d'un arrêt cardiaque après décision d'un arrêt des thérapeutiques actives, doit faire l'objet d'un large débat avec les instances concernées.

L'utilisation de greffons marginaux

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, la pénurie de greffons plaide pour l'utilisation d'organes « à critères élargis » venant de « donneurs suboptimaux », comme par exemple les patients âgés ou ceux souffrant d'une affection hépatique.

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 été autorisé à titre expérimental dans le cadre de protocoles dérogatoires de greffe définis par l'AFSSAPS. Au total, entre janvier 2006 et octobre 2008, 617 greffes d'organes supplémentaires ont été réalisées en France dans le cadre de ces protocoles. Leur évaluation a été réalisée par l'Agence de la biomédecine puis transmise à l'AFSSAPS.

Elle conforte le bienfondé du recours à ces greffons. Le rapport final d'évaluation des greffes dérogatoires, remis à la ministre par l'AFSSAPS fin 2009, doit servir de fondement à la décision que la ministre devra prendre avant le 21 décembre 2010 sur les suites à donner à ce dispositif. Une réflexion similaire sur la balance bénéfico-risque en cas de sérologie positive à HTLV 1 ou 2 des donneurs est souhaitable à court terme, même si le nombre de greffes supplémentaires attendues est moindre.

S'agissant par ailleurs des donneurs âgés, l'âge moyen des donneurs prélevés augmente, tout comme l'âge moyen des receveurs, posant la question de l'utilisation d'organes de qualité dite limite. En France, 26,2% des donneurs avaient plus de 60 ans en 2009, contre 22% en 2007. Eurotransplant (association de plusieurs pays européens pour la gestion commune de leur liste d'attente), pilote dans ce domaine, a mis en place en janvier 1999 un programme innovant appelé « old for old ». Ce programme est destiné à greffer des organes de donneurs âgés de plus de 65 ans à des receveurs non immunisés, en attente d'une première greffe, âgés de plus de 65 ans, en ABO compatible, dans le but stratégique de réaliser la greffe dans les délais les plus courts possibles et d'obtenir une meilleure efficacité dans l'utilisation des greffons issus de donneurs âgés. Les résultats de ce programme d'échange d'organes sont encourageants, avec une amélioration du recensement des donneurs âgés, une amélioration du ratio greffons greffés/prélevés, une diminution de la durée d'attente pour les receveurs âgés de plus de 65 ans, sans augmentation de la durée d'attente pour les receveurs plus jeunes dans un contexte d'augmentation du nombre de receveurs âgés.

Les pré requis de ce type de programme sont :

- d'identifier les donneurs ou les greffons dits suboptimaux sur des critères cliniques, biologiques et/ou radiologiques pertinents, objectifs et consensuels ;
- d'identifier un receveur pour lequel le bénéfice attendu de la greffe, même avec un greffon de qualité non optimale, sera supérieur au risque de développer des complications ou de décéder en liste d'attente. En fait, cela consiste à prendre en considération la baisse de la longévité et le ratio entre les besoins du receveur (qui diminuent avec l'âge) et les performances attendues de l'organe greffé ;
- de pouvoir réaliser la greffe dans des délais très courts pour diminuer l'impact négatif de l'ischémie froide sur ces greffons non optimaux. Pour ce faire, Eurotransplant a instauré le principe de « patient profil » et « center profil » avec des centres qui se déclarent d'accord pour transplanter les greffons répondant à la définition de « critères étendus » et qui ont pré-identifié sur leur liste des patients susceptibles de recevoir ce type de greffon, informés et consentants ;
- de disposer de machines à perfuser les greffons, pour aider les équipes de greffe à mieux sélectionner les greffons, à écarter de la greffe les organes destinés à ne pas fonctionner et à améliorer le taux d'utilisation des greffons prélevés et les résultats post greffe.

1.2.2. De nouvelles indications de greffe

Greffe de tissus composites : vers un passage en routine

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. Ces greffes sont dites composites car elles concernent un ensemble complexe de peau, muscles, os, vaisseaux et nerfs très fortement immunogènes et inducteurs de réactions de rejet. Cette stratégie consiste essentiellement à traiter des handicaps moteurs et esthétiques parmi les plus sévères. Pour la face, elle permet de restituer aussi une autonomie respiratoire et digestive. 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 pose le problème de la compréhension des mécanismes neurologiques de la représentation corporelle et du retour de la sensibilité au niveau cérébral.

Par ailleurs, au vu des bons résultats fonctionnels obtenus pour les allogreffes de tissus composites des avant-bras réalisées en France (N=7) et tenant compte des données de la littérature nationale et internationale sur ce sujet, une démarche est initiée afin de définir le cadre réglementaire et les conditions spécifiques d'exercice de cette nouvelle activité de greffe et son passage en activité de routine au moins pour les avant-bras.

L'allogreffe de tissus composites représente un formidable espoir en chirurgie reconstructrice, mais dont le développement reste limité en partie du fait des risques de l'immunosuppression au long cours chez les patients receveurs de telles greffes. L'enjeu le plus important dans ce domaine est de minimiser, voire abolir le besoin d'un traitement immunosuppresseur dans le but d'obtenir chez le receveur un état de tolérance donneur-spécifique. Des observations initiales de « chimérisme mixte » chez des receveurs de greffe de main ont été rapportées : l'os contenu dans le greffon est porteur de cellules souches hématopoïétiques, qui pourraient être à l'origine de l'établissement de ce chimérisme mixte, favorisant l'apparition d'une tolérance du receveur pour les tissus greffés.

C'est dans cette voie que des recherches sont actuellement menées dans les greffes de face associées à des injections de cellules souches hématopoïétiques du même donneur.

Greffe de trachée

La greffe de 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, d'intégration aux tissus environnants avec les écueils du traitement immunosuppresseur. Des travaux expérimentaux sur l'allogreffe de trachée par l'utilisation d'un greffon artériel cryopréservé sont menés en France depuis 1997 ; ils ont trouvé des applications cliniques chez des patients porteurs de tumeurs malignes intraitables. Les limites de cette technique tiennent à la possibilité de régénération du cartilage nécessitant de laisser en place une endoprothèse siliconée.

Des indications telles que les sténoses trachéales étendues post traumatiques ou post infectieuses ont pu faire l'objet de remplacements de trachées grâce à de nouvelles techniques d'ingénierie tissulaire. Celles-ci ont ouvert la voie de la régénération trachéale *in vitro* avec la réalisation toute récente d'une allogreffe trachéale en Espagne. En Belgique, la réalisation d'une allogreffe de trachée, préalablement implantée en position hétérotopique dans l'avant-bras de la receveuse afin d'obtenir une revascularisation et un micro-chimérisme du greffon, a permis l'arrêt de tout traitement immunosuppresseur après la réimplantation trachéale en position orthotopique.

1.2.3. Organes artificiels

Progrès de la dialyse

L'hémodialyse demeure le traitement le plus largement utilisé chez les patients atteints d'insuffisance rénale chronique terminale, mais les résultats en termes de qualité de vie comme de survie demeurent inférieurs à ceux obtenus grâce à la greffe rénale. Toutefois, en situation de pénurie de greffons, et alors que l'indication de greffe reste au demeurant fermée à de nombreux patients (âge avancé, polyopathologies), des perspectives prometteuses d'amélioration de la prise en charge en dialyse émergent aujourd'hui, grâce aux progrès de la miniaturisation et aux nanotechnologies.

L'espoir est celui d'un rein artificiel miniaturisé, transportable voire, à terme, implantable. L'utilisation de nanotechnologies permet d'associer au « filtre » de type glomérulaire qui équipe les systèmes de dialyse actuels un élément bioartificiel chargé d'assurer les fonctions régulatrices des néphrons normaux. Cet objectif fait appel à l'implantation de cellules tubulaires rénales dans la structure d'une membrane juxtaposée en série par rapport à la membrane « filtrante », l'ensemble étant contenu dans un même réceptacle. Un tel « bioréacteur » serait programmé pour un fonctionnement continu, idéalement sous la forme d'un dispositif implantable. Il pourrait être en outre couplé à un système de télésurveillance optimisant la qualité et la sécurité du suivi du patient.

De cette façon, la qualité de vie des patients pourrait être améliorée, de même, on l'espère, que leur survie, grâce à un fonctionnement en continu, plus proche du fonctionnement rénal naturel que ne le sont des séances d'hémodialyse. Par ricochet, l'amélioration de la dialyse pourrait avoir pour conséquence que la place de la greffe dans la prise en charge de l'insuffisance rénale puisse être rediscutée, à la lumière de la situation actuelle de pénurie de greffons. Des expérimentations humaines sont déjà publiées chez des patients en insuffisance rénale aiguë, et les premiers essais cliniques devraient démarrer également dans l'insuffisance chronique. A ce stade d'expérimentation, le développement de cette nouvelle technologie paraît donc pouvoir aller très vite, même s'il reste quelques obstacles techniques à surmonter. Ces perspectives de progrès demeurent en outre soumises à l'évaluation des risques inhérents aujourd'hui à toutes les avancées en matière de nanotechnologies.

Vers un cœur artificiel ?

Les dispositifs d'assistance sont utilisés dans l'insuffisance cardiaque réfractaire dans trois situations, qui ne s'excluent pas mutuellement : en attente de récupération, en attente de greffe et à la place de la greffe. Les dispositifs initiaux à débit pulsatile tendent à être remplacés par des dispositifs à débit continu plus petits, avec une implantation chirurgicale plus aisée, un confort pour le patient plus grand et une meilleure durabilité. Depuis 2009, trois dispositifs à débit pulsatile et un à débit continu sont inscrits sur la liste des produits et prestations remboursables. La diffusion de ces dispositifs devrait se faire en particulier en direction des patients qui ne sont pas candidats à une greffe et devrait conduire à avoir une cohorte de plus en plus large de malades ambulatoires porteurs de ces dispositifs. Les défis sont multiples : médicaux (en termes d'indication et de suivi), éthiques et financiers.

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

Vers un pancréas artificiel ?

Le pancréas artificiel est une solution thérapeutique, point de convergence entre biotechnologie, biomatériaux et microélectronique. Sa mise au point et son fonctionnement en ferait la solution parfaite de prise en charge du diabète. Son objectif est de reproduire la sécrétion physiologique de l'insuline en réponse directe à la glycémie, telle que la mettent en œuvre à chaque instant les quelques 500 000 îlots de Langerhans lorsqu'ils fonctionnent normalement chez une personne non diabétique.

Sa réalisation repose sur la séparation conceptuelle et dans l'espace du système d'analyse de la glycémie (le capteur de glucose), du système de délivrance de l'insuline (la pompe à insuline), connectés par l'intermédiaire d'une interface capteur-pompe, qui serait capable de déterminer précisément le débit insulinaire à délivrer en fonction de la glycémie détectée.

Imaginé par Mirouze et Selam il y a 25 ans, il était alors un système externe, et nécessitait au lit du malade l'intervention de soignant de façon presque continue. La Juvenile Diabete Research Foundation en a fait l'un de ses projets de recherche phare. Dans le contexte d'études de phase 1 menées chez les enfants et adolescents atteints de diabète de type 1, une équipe de recherche de l'Université de Cambridge a pu montrer que l'installation du système de pancréas artificiel de première génération durant la nuit diminuait non seulement le risque d'hypoglycémie nocturne sévère, mais améliorerait aussi le contrôle du diabète.

Actuellement, les trois principaux composants du pancréas artificiel ont atteint des niveaux de performances cliniques et expérimentales différents.

Les pompes à insuline, externes ou implantables, premier maillon du pancréas artificiel, sont utilisées dans le diabète instable et ont démontré leur intérêt en clinique, par la réduction des hypoglycémies sévères et l'amélioration de la qualité de vie. Leur utilisation s'est nettement améliorée au cours des années et est désormais maîtrisée en routine thérapeutique.

Les capteurs de glucose, il y a 10 ans, s'ils existaient déjà, se heurtaient néanmoins aux difficultés de mettre au point des systèmes entièrement implantables. Il y a 5 ans, ils reposaient sur un système d'électrodes placées dans l'un des gros troncs veineux pour pouvoir analyser en permanence la glycémie. Le problème technique majeur, outre ceux mécaniques et inhérents à leur localisation, était la durée de vie courte de ces électrodes, et la nécessité de les remplacer tous les deux ou trois jours. En 2009, le capteur de glucose existe désormais, et peut être implanté en sous-cutané. Les points faibles restent d'une part le décalage existant entre la valeur de la glycémie en sous-cutané de celle de la glycémie sanguine, et d'autre part sa courte autonomie (5 jours). C'est la fenêtre thérapeutique très étroite de l'insuline qui impose la calibration régulière et fréquente du capteur et fait du problème de métrologie du capteur de glucose un frein structurel à cette technique.

Ce manque d'autonomie laisse en pratique la solution séduisante du pancréas artificiel au stade du nécessaire perfectionnement industriel et technologique, avant de pouvoir l'envisager comme une réalité clinique.

1.2.4. 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 pénurie d'organes.

De fait, bien que le nombre de laboratoires engagés dans ce domaine soit encore modeste, des progrès substantiels ont été récemment obtenus en matière de xénogreffe. 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.

L'incompatibilité immunologique est la principale barrière 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») et la mise au point de protocoles d'induction d'une tolérance immunitaire. 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 (knock out par transfert nucléaire) ont vu le jour.

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. Les essais en cours chez les primates devraient permettre d'étudier *in vivo* l'infectivité des PERV issus de porcs Gal-KO, et de répondre à la question de leur dangerosité.

Avec la production des porcs Gal-KO, la xénogreffe a sans doute franchi un cap et on observe aujourd'hui des survies de greffes pouvant aller jusqu'à 6 mois. 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, mais il n'est pas encore question d'envisager des essais thérapeutiques concernant des organes vascularisés tels que rein, cœur ou foie.

En effet, 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.

1.3. Greffes de cellules souches hématopoïétiques

Si l'on recense des avancées dans le domaine des autogreffes de cellules souches hématopoïétiques pour certaines indications (1.3.1.), en revanche les connaissances disponibles quant au potentiel des cellules disponibles dans le sang placentaire confirment la nécessité d'un encadrement strict dès lors qu'aucun potentiel curatif ne peut être attendu d'une conservation autologue (destinée à l'usage propre du donneur) (1.3.2.).

1.3.1. Autogreffes de cellules souches hématopoïétiques

Avancées dans le domaine de l'autogreffe

Les avancées récentes et à venir dans le domaine de l'autogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) devront permettre de mieux situer la place de l'intensification thérapeutique qu'elle permet, et notamment en association avec des traitements ciblés que constituent les anticorps monoclonaux ou les inhibiteurs spécifiques des mécanismes moléculaires impliqués dans la physiopathologie des lymphomes ou du myélome. Pour ce qui concerne le greffon lui-même, il s'agit, pour les laboratoires de thérapie cellulaire, d'améliorer leur qualité.

Les intensifications thérapeutiques permises par les autogreffes ont pu être proposées dans le traitement des tumeurs malignes résistantes aux chimiothérapies conventionnelles comme les cancers du sein métastasés ou non, certains cancers de l'ovaire ou du testicule ainsi que pour les tumeurs de l'enfant. Cependant, en dehors de ces indications pédiatriques où les résultats sont intéressants, la place de l'autogreffe dans le traitement des cancers de l'adulte, en dépit de nombreuses études avec une participation française importante, reste encore à définir. La place de l'autogreffe de CSH fait également l'objet d'études dans le cadre du traitement des maladies auto-immunes. Au niveau français (Société française de greffe de moelle et de thérapie cellulaire) et au niveau européen (European Group for Blood and Marrow Transplantation), des études collaboratives sont en cours concernant la sclérodermie, la sclérose en plaques, le lupus, la polyarthrite rhumatoïde. Ces études collaboratives sont très importantes du fait de la rareté de ces pathologies, et permettront d'identifier les patients, généralement présentant des formes sévères résistantes aux traitements classiques, pouvant bénéficier d'une autogreffe.

Evolutions concernant les allogreffes

L'intensité du conditionnement avant la greffe est source de complications directes et secondaires. Sa diminution est donc un objectif important. Depuis la fin des années 1990, les équipes d'allogreffe ont développé des nouveaux conditionnements, dits « non myélo ablatifs » ou « d'intensité réduite », qui associent des médicaments immunosuppresseurs (pour permettre la prise de greffe), et des médicaments de chimiothérapie à doses faibles ou intermédiaire pour réduire, voire supprimer l'aplasie suivant le conditionnement ; la toxicité immédiate est diminuée, permettant de proposer ces traitements à des patients plus âgés (très au delà de 50 ans, voire jusqu'à 70 ans) ou déjà lourdement traités, pour lesquels la réalisation d'allogreffes « classiques » (avec conditionnement myéloablatif) était auparavant contre-indiquée. Ces nouvelles techniques expliquent en partie la croissance importante du nombre de greffes allogéniques réalisées en France (et dans le monde) au cours des dernières années : par exemple, on est passés de 911 allogreffes en 2004 à 1388 en 2008, dont une proportion croissante de patients âgés de plus de 50 ans (de 200 à plus de 500 patients pour la même période).

Cependant, ces nouvelles modalités de greffe modifient profondément la prise en charge des patients : prise en charge de co-morbidités de patients âgés qui n'existent pas chez des patients plus jeunes, surveillance allongée et renforcée en ambulatoire en raison de la survenue plus tardive des complications à la fois immunologiques et infectieuses.

D'autre part, la diversification des sources cellulaires pour le greffon allogénique (initialement seulement la moelle osseuse, puis les cellules souches prélevées dans le sang périphérique par cytophèreses, et enfin le sang placentaire ou de cordon, riche en cellules souches hématopoïétiques, voir infra) et l'accès aux registres mondiaux de donneurs non apparentés ou aux greffons de sang placentaire ont permis d'augmenter la part des allogreffes avec donneur non familial. La proportion des allogreffes non apparentées est passée de 29 à 55% du total des allogreffes en France entre 2002 et 2008.

D'autre part, les indications des greffes allogéniques de CSH dépendent des améliorations dans l'ensemble des traitements proposés dans les hémopathies. Cet enjeu est illustré par le cas des patients souffrant de leucémie myéloïde chronique, pour lesquels l'efficacité des inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK) a permis de remplacer l'allogreffe par un traitement médicamenteux beaucoup moins toxique, efficace, mais aussi particulièrement coûteux, prescrit pour de nombreuses années (voire à vie) pour ces patients.

1.3.2. Sang placentaire, banques

Conservation autologue ?

En ce qui concerne l'éventuelle utilisation de sang placentaire autologue pour traiter les maladies hématologiques malignes, on se heurte à deux problèmes : d'abord, 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 et 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 du greffon 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 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 maladie néoplasique, comme 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 de la moelle osseuse collectées dans le sang périphérique 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 ?

L'utilisation autologue des cellules du sang placentaire reste donc à l'heure actuelle du domaine de la recherche fondamentale sans niveau de preuve suffisant. Tout projet d'application thérapeutique pour les malades ne peut se concevoir avant la mise en place d'études avérées de recherche clinique, qui ne sont pas envisagées avant plusieurs années, et on peut donc dire que, en fonction des données médicales et scientifiques portées à notre connaissance à ce jour, il n'existe aucun travail scientifique en cours qui permette de déboucher sur une nouvelle thérapeutique à base de cellules souches de sang placentaire.

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 publiques allogéniques est soutenue par de nombreuses instances et institutions françaises, européennes et américaines.

Il existe actuellement dans des pays Européens, et aux Etats Unis, des entreprises commerciales qui prélèvent et stockent ces mêmes cellules, mais uniquement contre rémunération et dans la seule optique d'un usage autologue, ou bien pour un usage « mixte » soit : conservation du sang placentaire pour une utilisation autologue (ou familiale) exclusive ou « autologue solidaire » avec remboursement des frais de conservation si le sang placentaire est utilisé pour un malade. D'après les éléments portés à notre connaissance, force est de constater que les projets de banques de sang placentaire « mixtes » européennes semblent au point mort, avec pas ou peu d'unités inscrites sur les registres internationaux à visée allogénique. L'expérience des pays limitrophes de la France ne plaide pas en faveur de l'extension de l'autorisation aux banques privées : la Belgique vient de modifier sa législation pour condamner la publicité liée aux activités de conservation du sang placentaire et interdit aux banques privées les activités d'obtention, de contrôle, d'importation et d'exportation. L'Espagne a mis en place une législation selon laquelle les banques privées doivent céder les cellules aux patients en cas de besoin. Mais, pour échapper à cette obligation, les banques privées transfèrent généralement leurs greffons à l'étranger. En Italie, l'un de ces projets reste bloqué dans l'attente des décrets d'application de la loi votée le 27 février 2008 permettant la conservation autologue « solidaire ».

L'information qui est délivrée au public par ces sociétés est souvent incomplète, voire inexacte, et l'une d'entre elle a fait l'objet, en Belgique, d'une plainte par une association de consommateurs pour publicité mensongère. La législation concernant la conservation de sang placentaire, basée sur le principe de 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 pour la santé publique, et interdire le détournement purement commercial du sang placentaire pour des visées autologues totalement hypothétiques. La législation française n'autorise pas la conservation et l'exportation du sang placentaire pour un usage autologue. En effet, dans un courrier récent adressé à l'ordre des médecins et des sages femmes, le directeur général de la santé rappelle que : "les prélèvements de cellules du sang placentaire effectués dans les conditions et pour les finalités décrites ci-dessus [conservation pour un usage autologue hypothétique et transport des prélèvements à l'étranger] constituent une pratique illégale punie par le code pénal en application de son article L.511-8-2 qui prévoit que « le fait d'importer ou d'exporter des organes, tissus, cellules et produits cellulaires à finalité thérapeutique, en violation des dispositions prises pour l'application des articles L. 1235-1 et L. 1245-5 du code de la santé publique, est puni de cinq ans d'emprisonnement et de 75 000 Euros d'amende.

En application de l'article L.1245-5 du code de la santé publique, l'autorisation d'importer ou d'exporter des cellules ne peut être délivrée par l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé qu'à des établissements appelés « banques » autorisés préalablement par cette agence à préparer, conserver distribuer et céder des cellules. Or, aucune banque n'a été à ce jour autorisée à préparer et à conserver des cellules du sang placentaire destinées à l'enfant qui vient de naître dans la perspective d'une utilisation thérapeutique ultérieure. De ce fait, aucun établissement n'a pu être autorisé à exporter ces cellules.

De plus, il est indiqué que : hormis les cas de nécessité thérapeutique avérés et médicalement attestés [c'est à dire en cas de maladie du sang avec une indication de greffe allogénique intrafamiliale de cellules souches hématopoïétiques du sang placentaire, chez un frère ou une sœur de l'enfant à naître, et sur prescription du médecin spécialiste ayant l'enfant malade en charge], la loi française n'autorise que les dons anonymes, l'intention du législateur étant que le don est un acte effectué à l'attention de la collectivité.

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.

Pour ces différentes raisons, la conservation des cellules du sang placentaire n'est autorisée en France que pour un usage allogénique dans des banques non commerciales constituant le Réseau Français de Sang Placentaire. Hormis les cas de nécessité thérapeutique précédemment évoqués, il n'est donc pas possible au regard de la législation actuelle de pratiquer des prélèvements de cellules du sang placentaire sur des parturientes qui souhaitent que les cellules prélevées soient spécifiquement dédiées à l'enfant qui vient de naître dans la perspective d'une utilisation thérapeutique ultérieure.

1.4. Thérapies innovantes

La thérapie cellulaire s'est surtout limitée jusqu'à présent, dans ses indications de routine, à la greffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH). Elle est aussi appliquée pour le traitement des grands brûlés. La thérapie cellulaire utilise des cellules issues du corps humain, le plus souvent après une transformation réalisée dans un laboratoire pour traiter des maladies spécifiques. Un produit de thérapie cellulaire est en général préparé pour un patient donné. La thérapie cellulaire se distingue donc de l'ingénierie cellulaire et tissulaire qui est la conception au laboratoire d'un produit d'origine cellulaire et/ou tissulaire destiné à un usage thérapeutique pour un certain nombre de malades. Les progrès attendus concernent principalement le domaine cardio-vasculaire (1.4.1.) et la prise en charge du diabète (1.4.2), même si le champ de l'innovation est en ce domaine particulièrement vaste (voir partie 3).

1.4.1. 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 de la dernière décennie, différents types cellulaires ont été administrés pour permettre la régénération cardiaque : cellules souches embryonnaires (essais chez l'animal uniquement), cellules souches adultes, myoblastes avec des résultats chez l'homme encourageants mais limités en particulier en termes d'amélioration de la fonction contractile. Dans le registre du National Institute of Health (clinicaltrials.gov) une trentaine d'études cliniques sur la thérapie cellulaire dans l'insuffisance cardiaque sont répertoriées en cours. Ces études doivent démontrer l'efficacité et la sécurité d'emploi de la thérapie cellulaire dans cette indication.

Thérapie génique

L'insuffisance cardiaque est due à la fois à une perte de cellules (les cardiomyocytes) et à un dysfonctionnement des cellules restantes qui ne se contactent pas de façon adéquate. Le transfert à l'intérieur du cardiomyocyte d'un gène codant pour une enzyme 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. Une étude clinique de phase 1 va être initiée prochainement en Europe et sera la première étude de thérapie génique dans l'insuffisance cardiaque chez l'homme. Les enjeux scientifiques et financiers sont importants.

1.4.2. Greffe d'îlots de Langerhans

La greffe d'îlots de Langerhans à partir de pancréas totaux prélevés est une technique en développement. Les îlots de Langerhans, cellules du pancréas qui sécrètent l'insuline, sont détruites ou inactives chez les diabétiques de type I ou insulino-dépendant. La greffe de ces îlots constitue une des thérapeutiques de remplacement proposées à ces patients. Cette activité de greffe est encadrée en France par deux essais cliniques de thérapie cellulaire autorisés par l'AFSSAPS, à Grenoble et à Lille. Les résultats à long terme de ces deux protocoles permettront de mieux préciser la place de la greffe d'îlots dans le traitement du diabète. La greffe d'îlots diffère de la greffe classique d'un organe car les patients reçoivent, en règle, plusieurs injections successives d'îlots, une seule injection n'assurant pas une production suffisante d'insuline. En 2008, 12 patients ont bénéficié de cette technique innovante.

Cette thérapie cellulaire est particulière par le fait qu'elle exige un organe entier, le pancréas, pour être mise en œuvre et qu'elle se trouve, de ce fait, en compétition avec la greffe de l'organe entier, la greffe pancréatique, dans un contexte de pénurie d'organes. Ceci d'autant plus, qu'il est nécessaire de prélever plusieurs pancréas pour une seule greffe d'îlots. L'intérêt de cette thérapeutique par rapport à la greffe pancréatique, qui reste le traitement de référence mais est extrêmement délicate, repose sur sa simplicité technique (injections d'îlots en intra-hépatique *via* la veine porte) et son faible taux de complications.

Cependant, à ce jour, bien qu'elle soit apparue depuis 1974, et malgré les nombreux progrès réalisés puisque le taux de succès à un an est actuellement de 80%, la greffe d'îlots continue à se heurter à de nombreuses difficultés qui limitent son développement clinique. La procédure est longue et coûteuse, avec une première étape d'isolement des îlots issus du pancréas, au cours de laquelle environ 50% des îlots sont éliminés. Il est ainsi nécessaire d'utiliser plusieurs pancréas pour obtenir la quantité d'îlots nécessaire à une greffe efficace. La deuxième étape-clé est la prise de la greffe après injection des îlots, avec à nouveau une perte estimée d'environ 50 % et la nécessité de plusieurs injections successives. Enfin, l'obstacle majeur réside dans la perte rapide de fonction des îlots, avec dans les équipes les plus expertes seulement un tiers des patients qui conservent leur insulino-dépendance à 3 ans alors que le taux de survie à 5 ans après greffe pancréatique est de 80%. Ces difficultés font que les greffes d'îlots de Langerhans restent encore du domaine de la recherche clinique.

Néanmoins, cette thérapie cellulaire continue à soulever de grands espoirs auxquels la France contribue de façon très active. Les voies de recherche concernent chaque étape : mise au point de liquides de conservation plus adéquats pour le pancréas ; amélioration des techniques d'isolement ; mise au point de tests biologiques permettant de prédire la viabilité des îlots isolés avant leur injection ; prévention de la destruction des îlots injectés par réduction de la réaction inflammatoire immédiate (traitement par Exenatide®, essai d'autres sites d'implantation que le foie) ; mise au point de nouveaux protocoles d'immunosuppression moins toxiques. Parmi les pistes plus lointaines mais qui pourraient apporter des réponses aux principaux obstacles, outre les xénogreffes d'îlots évoquées plus haut deux sont à retenir ; la première voie concerne le développement de méthodes d'encapsulation des îlots (alginate de calcium recouvert de polyornithine en particulier) pour les protéger et réduire voire éviter l'immunosuppression. La deuxième et sans doute la plus prometteuse concerne une thérapie cellulaire directe : soit par production en laboratoires de cellules bêta du pancréas, transplantées aux diabétiques, à partir de cellules souches embryonnaires, soit par stimulation *in vivo* aboutissant à la formation de cellules bêta chez le patient à partir de précurseurs ou même à partir de reprogrammation de cellules souches. Ces dernières techniques auraient l'avantage de régler le problème de pénurie d'organes que soulèverait le développement important de la greffe d'îlots à partir de pancréas.

- 2 -

Les progrès dans le champ de la reproduction

2. Les progrès dans le champ de la reproduction

Les progrès médicaux, scientifiques et techniques qui concernent le champ de la reproduction 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 (2.1.), et alors que la prise en charge des familles est améliorée par les améliorations que connaissent les activités de diagnostic prénatal et préimplantatoire, (2.4.), une attention toute particulière doit être portée aux bouleversements que pourraient entraîner les avancées en cours dans le champ des dépistages néonataux (2.2.) et des tests génétiques (2.3.).

2.1. Assistance médicale à la procréation

Si les techniques mobilisées dans le cadre de l'assistance médicale à la procréation (AMP) ont connu des progrès majeurs depuis la naissance des premiers « bébés éprouvettes », leur efficacité n'en demeure pas moins susceptible d'améliorations (2.1.1.). C'est toutefois également au plan organisationnel et méthodologique que se préparent nos réponses aux défis de demain (2.1.2.).

2.1.1. Progrès attendus des techniques d'AMP

L'effort de recherche est aujourd'hui concentré sur l'amélioration des connaissances concernant les bases moléculaires des infertilités, de façon à améliorer la classification des pathologies afin de mieux sélectionner l'approche curative adaptée à chaque cas. Il est difficile d'anticiper sur les innovations possibles. Elles peuvent concerner les techniques de fécondation, les milieux de fécondation et de culture, les techniques de congélation embryonnaire et ovocytaire. Certaines innovations techniques ne relèvent pas nécessairement de la recherche biomédicale. Les protocoles de vitrification ovocytaire ou embryonnaire ou les modifications des conditions de culture occupent aujourd'hui une place prépondérante.

Dans tous les cas, les recherches « cliniques » envisagées intègrent la possibilité de transfert de l'embryon dans l'utérus dans le cadre d'un projet d'enfant.

La vitrification ovocytaire et embryonnaire

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. Cette technique de vitrification est développée pour la conservation des ovocytes depuis 1995 en recherche fondamentale et est entrée dans la pratique de l'AMP depuis le milieu des années 2000 dans de nombreux pays, notamment en Europe. Si la congélation lente reste la technique la plus utilisée dans le monde, des études récentes ont cependant bien rapporté des résultats cliniques de plus en plus positifs avec la vitrification. Plus délicate à réaliser que la vitrification embryonnaire, la vitrification d'ovocytes montre des résultats très encourageants en termes de taux de survie après décongélation et de grossesses cliniques après transfert. Cette technique est aujourd'hui couramment utilisée dans de nombreux pays, notamment au Japon et en Italie et un certain nombre de publications scientifiques sont d'ores et déjà disponibles.

La congélation des ovocytes par vitrification suivie de leur utilisation en fécondation *in vitro* (FIV) est en effet connue et réalisée avec des naissances obtenues dès la fin des années 1970 chez la souris puis dans les espèces bovines et porcines. Les résultats sont excellents en termes de survie ovocytaire après décongélation, en termes de développement embryonnaire et en termes de naissances obtenues. Des études chromosomiques ont été réalisées sans avoir mis en évidence d'anomalies particulières sur les embryons ainsi conçus. La vitrification ovocytaire a été largement développée en Italie, pays dans lequel la loi interdisait encore récemment de mettre en fécondation plus de 3 ovocytes. Pour ne pas perdre les ovocytes prélevés, les professionnels italiens ont développé d'une part des tests de qualité ovocytaire et d'autre part la congélation ovocytaire, notamment par vitrification. Les professionnels italiens ont acquis une solide expérience de la technique et la valorisent dans les congrès scientifiques.

Pour la conservation à long terme, certains ont pensé que la vitrification permettrait d'envisager une diminution du nombre d'embryons surnuméraires constitués dans le cadre des fécondations *in vitro* intra conjugales. Comme pour le don de sperme, cette technique offre en outre dans le cadre du don d'ovocytes une plus grande flexibilité en écartant la nécessité de synchroniser les cycles chez la donneuse et chez la receveuse. Elle permet également à une même donneuse d'être à l'origine de plusieurs dons au bénéfice de receveuses différentes, ce qui peut constituer une réponse pertinente en situation de pénurie de donneuses.

Enfin, la vitrification ovocytaire peut-être utilisée comme mode de préservation de la fertilité des femmes devant se soumettre à un traitement potentiellement stérilisant.

L'évaluation et la mise en place de cette technique, aux fins d'améliorer les techniques d'AMP, sont toutefois freinées en France du fait de l'ambiguïté de son statut au regard de la réglementation. Si les recherches nécessaires portent sur des gamètes, elles impliquent de fait une réimplantation d'embryon, ce qui a conduit le Conseil d'Etat à considérer qu'elles devaient être considérées comme interdites depuis la loi de 2004. Cependant, dès lors que l'on pourrait espérer grâce à cette technique une augmentation des taux de succès, notamment en ce qui concerne les embryons, l'interdiction de sa mise en place en France peut être dommageable pour les patients. Il serait souhaitable de mettre en place un dispositif qui permettrait d'encadrer la mise en œuvre de cette technique en France avec une évaluation pertinente de son efficacité et de son innocuité.

On peut souligner que dans le domaine de la congélation embryonnaire, l'expérience de vitrification est plus importante encore et donne des résultats souvent bien supérieurs à ceux de la congélation lente. Les premières naissances chez la souris ont été obtenues en 1985. Surtout, ce sont désormais plus d'un millier d'enfants qui sont nés dans le monde après vitrification embryonnaire.

La conservation de tissus germinaux

La maturation *in vitro* consiste à prélever des ovocytes immatures et à les faire « mûrir » en culture, en laboratoire. Les techniques conventionnelles de FIV consistent à bloquer l'axe hypothalamo-hypophysaire à l'aide d'un agoniste ou d'un antagoniste de la GnRH, puis à administrer de fortes doses de gonadotrophines pour induire une croissance folliculaire multiple tout en contrôlant l'apparition du pic de LH, l'objectif étant de récupérer plusieurs ovocytes matures et d'augmenter les chances d'obtenir des embryons de bonne qualité. Ces traitements hormonaux sont longs, coûteux et ne sont pas dénués d'effets secondaires, en particulier chez les patientes présentant une dystrophie ovarienne appelée ovaires polykystiques qui sont exposées à un risque élevé d'hyperstimulation ovarienne pouvant engager le pronostic vital. Le développement récent des techniques de maturation *in vitro* d'ovocytes issus de follicules immatures permet de proposer une alternative à la prise en charge de ces femmes infertiles.

Le concept de maturation *in vitro* est ancien puisque la première maturation *in vitro* d'ovocytes humains a été décrite par Edwards en 1965, et la première fécondation d'ovocyte mûrifié *in vitro* a été obtenue en 1969 par la même équipe. La première naissance a été rapportée par Veeck et al. (1983) à partir d'ovocytes immatures obtenus au cours d'un cycle stimulé. Depuis, de nombreuses équipes se sont intéressées à cette technique. Il faut souligner que seule la maturation finale de l'ovocyte est obtenue dans l'espèce humaine.

Cette technique particulière est encore très peu développée en France. En 2008, seuls 5 centres d'AMP y ont eu recours et ont réalisé, dans l'ensemble, 88 tentatives de fécondation (2 en FIV classique et 86 en ICSI (intracytoplasmic sperm injection)). La maturation *in vitro* représente moins de 0,2 % de l'ensemble des tentatives. De plus, les taux de succès restent limités. Au total, 11 enfants sont nés suite à une tentative initiée grâce à cette technique.

Outre l'amélioration de prise en charge qu'elle peut représenter dans certaines indications, on pourrait également envisager que le développement des recherches fondamentales sur le cycle complet de maturation permette à terme une réponse à l'insuffisance des dons d'ovocytes.

L'IMSI (Intracytoplasmique magnified sperm injection)

L'IMSI consiste à observer à un très fort grossissement et à choisir le spermatozoïde qui sera injecté au cours de la procédure d'ICSI. Aucune manipulation directe n'est faite en vue de modifier la qualité des gamètes ou la composition du milieu. La recherche consiste à évaluer l'efficacité comparée de l'IMSI et de l'ICSI classique. Cette technique peut être considérée comme une « amélioration technique » visant à augmenter les chances sans faire appel à des manipulations invasives des gamètes ou des embryons. Une évaluation multicentrique est en cours en France.

La greffe de fragments d'ovaire

Certains travaux laissent entrevoir un espoir de grossesse pour des femmes traitées pour un cancer notamment dans leur enfance, grâce à une greffe de fragments d'ovaire prélevés avant le traitement ovariotoxique.

Depuis 1995, en France, les fillettes et jeunes femmes soumises à un traitement ovariotoxique peuvent se voir proposer un prélèvement et une congélation de tissu ovarien. A ce jour 11 centres ont mis en œuvre en France cette autoconservation et 667 patientes en France disposeraient de tissu ovarien cryoconservé.

En France, en 2009, deux naissances ont été obtenues après autogreffe d'ovaire, alors que moins de 10 grossesses ont été rapportées dans le monde. Il s'agit de deux patientes qui, avant de suivre un traitement ovariotoxique, ont bénéficié de la conservation de leur tissu ovarien.

Chez le garçon prépubère exposé à un traitement stérilisant, il est possible de prélever chirurgicalement un fragment de tissu testiculaire selon une technique comparable à celle utilisée chez l'homme adulte azoospermique. Ce tissu testiculaire peut être congelé puis conservé pendant des années. La réutilisation du tissu en vue de restaurer la fonction de reproduction implique en revanche le développement de nouvelles méthodes telles que la maturation *in vitro* des cellules germinales spermatiques, les greffes de cellules germinales ou de tissu testiculaire.

A ce jour, aucun système de culture n'a permis de reproduire une spermatogénèse complète *in vitro* dans l'espèce humaine. La maturation *in vitro* présente l'avantage d'écartier tout risque de réintroduction de cellules malignes et les spermatozoïdes ainsi obtenus seraient théoriquement utilisables en ICSI. Le tissu testiculaire peut être greffé (au niveau du site de prélèvement ou en dehors) et une spermatogénèse complète a pu être obtenue dans ce type de greffe sur différents modèles animaux.

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 sperme. Celle-ci 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 ainsi 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.

L'organisation du suivi des femmes et des enfants

Aucune donnée scientifique ne permet de mettre en évidence une augmentation du risque de malformations néonatales ou de maladies particulières. Le suivi individuel et exhaustif des 22 000 enfants conçus chaque année par AMP en France, et ce jusqu'à l'âge adulte, n'est pas envisageable.

L'Agence de la biomédecine mène une réflexion approfondie sur le sujet et s'oriente vers la possibilité de croiser différents registres existants, notamment le registre national de FIV que l'Agence de la biomédecine a mis en place et qui comporte des données nominatives et ceux de l'assurance maladie et du PMSI afin de mettre en évidence des pathologies qui affecteraient ces enfants et auraient nécessité des soins. De la même façon, le registre national des FIV pourrait permettre de mettre en place un meilleur suivi des personnes qui ont recours à l'AMP et celui des donneuses d'ovocytes.

Le dispositif d'AMP vigilance n'a pas pour objectif d'évaluer les conséquences à long terme sur la santé des personnes, mais les praticiens impliqués en vertu du décret n°2006-1660 du 22 décembre 2006 relatif au don de gamètes et à l'AMP, sont tenus de déclarer à l'Agence de la biomédecine tout événement indésirable survenu dans l'accomplissement de ces activités, susceptible d'avoir des conséquences graves pour les membres du couple ou l'enfant à naître.

2.2. Dépistages néonataux

Le dépistage néonatal systématique a pour principe de rechercher chez tous les nouveau-nés de la population générale ou d'une population à risque, une pathologie de révélation précoce, avant que celle-ci n'entraîne des séquelles irréversibles. C'est une pratique classique de santé publique (2.2.1.), mais son élargissement à de nouvelles pathologies demande une vigilance toute particulière (2.2.2.).

2.2.1. Indications de dépistages : quels critères de mise en place ?

Les critères en fonction desquels telle ou telle politique publique de dépistage sera justifiée sont précisément codifiés par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) :

- la maladie doit représenter, par ses aspects épidémiologiques, cliniques et économiques, un important problème de santé publique ;
- l'histoire naturelle de la maladie doit être bien connue et offrir la possibilité d'être détectée au cours d'une phase asymptomatique ou latente, peu spécifique ;
- il doit exister un traitement pour les malades détectés et un intérêt de santé publique intégrant des paramètres économiques, associés à la prise en charge précoce de la maladie ;
- il doit exister un test de dépistage fiable, performant, simple d'utilisation et bien accepté par la population, sans danger pour la personne dépistée ;
- il doit exister des facteurs de risque de la maladie ou des facteurs associés à la maladie offrant la possibilité de sélectionner la population dépistée dans le cas où un dépistage de masse n'est pas recommandé ;
- il doit exister des modalités de mise en œuvre d'un programme de dépistage dont le rendement est favorable et les conséquences économiques acceptables.

Aujourd'hui en France, tous les nouveau-nés bénéficient, pendant leur séjour à la maternité, d'un dépistage de certaines maladies : la phénylcétonurie, l'hypothyroïdie, l'hyperplasie des surrénales, la mucoviscidose et, pour certaines populations ciblées, la drépanocytose.

2.2.2. Vers une extension des pathologies dépistées ?

Les progrès récents de la spectrométrie de masse en tandem ont permis d'étendre considérablement les capacités de dépistage à partir d'un échantillon de sang chez le nouveau-né. C'est ainsi par exemple qu'en 2006 le Collège américain de génétique a recommandé que le dépistage néonatal soit étendu à 29 pathologies, recommandation mise en pratique aujourd'hui dans 21 états américains. Le Center for diseases control américain a cherché à évaluer combien d'enfants auraient été dépistés pour l'une de ces 29 maladies si les 50 états américains avaient appliqué la recommandation dès 2006. L'augmentation aurait alors été de 32% (6 439 au lieu de 4 370 enfants dépistés). Selon cette estimation, 9 des 29 dépistages ne révéleraient que 15 cas ou moins, 10 pathologies représenteraient une centaine de cas, et 61% des dépistages concerneraient une hémoglobinopathie ou une hypothyroïdie congénitale. Le développement des dépistages néonataux outre-Atlantique motive l'inquiétude de certains groupes de défense des libertés individuelles.

Le Citizen council on health care se mobilise ainsi contre l'archivage des données génétiques et des échantillons de sang des nouveaux-nés au niveau de chaque Etat. Le groupe de défense des droits individuels revendique ainsi que la pratique du test, la conservation des données et de l'échantillon soient dorénavant soumis au consentement des parents.

En France, la Haute autorité de santé a été saisie pour évaluer l'intérêt d'un tel dispositif dans le cadre d'indications particulières. Le groupe de travail devrait rendre ses conclusions fin 2010. Même si la technique permet d'envisager une multiplication des tests, il paraît nécessaire de toujours se référer aux critères définis par l'OMS, en particulier l'existence un traitement pour les malades détectés, pour que ce dépistage ne soit pas uniquement source d'anxiété pour les parents. Ainsi, la récente recommandation de la Haute autorité de santé en faveur d'un dépistage systématique de la surdité du nouveau-né a nourri un débat sur la pertinence du dépistage à la naissance compte tenu des moyens nécessaires et des difficultés d'acceptabilité par les équipes soignantes notamment.

2.3. Génétique

Les tests génétiques visent à confirmer le diagnostic d'une affection génétique chez un sujet malade, à préciser les statut des apparentés et le risque encouru par un enfant né ou à naître, et à déterminer si un sujet à risque est ou non porteur du gène responsable avant que n'apparaissent les premiers symptômes. En France les tests génétiques ne peuvent être prescrits et réalisés que dans l'intérêt d'une personne. Ils doivent faire l'objet d'une explication préalable lors d'une consultation dédiée et d'un consentement écrit du sujet. Cet effort d'information du public s'impose tout particulièrement, alors que de nouvelles technologies sont disponibles (2.3.1.) et que l'offre de tests génétiques explose sur Internet (2.3.2.).

2.3.1. De nouvelles technologies

Les études « génome entier »

Les nouvelles technologies permettent des études sur le génome entier. Qu'il s'agisse des puces à ADN (array CGH) ou des méthodes de séquençage haut débit par exemple, elles ont en commun d'explorer le génome dans sa globalité pour un coût allant respectivement de 500 euros à 1000-1500 euros. Elles ne ciblent donc plus spécifiquement des gènes mais aussi des régions non codantes qui sont pour certaines impliquées dans la pathogenèse. Elles sont un plus, pour toutes les maladies pour lesquelles la cause génétique n'est pas identifiée. Elles comportent néanmoins un certain nombre de difficultés. En premier lieu, l'interprétation d'une mutation pathogène par rapport à une simple variation du génome est complexe car cette notion évolue au fur et à mesure de l'avancée des connaissances, une variation du génome considérée aujourd'hui comme « normale » pouvant être considérée demain comme pathogène dans un contexte particulier.

D'autre part, ces nouvelles technologies mettent à jour des pathologies non recherchées et posent la question de la conduite à tenir face au résultat ; l'enjeu aujourd'hui est notamment de définir la façon dont le patient doit en être informé, lorsque la pathologie identifiée n'est pas curable, lorsqu'il s'agit d'une mutation hétérozygote, ou encore lorsque le pronostic appelle une conduite préventive spécifique. L'évolution rapide des technologies doit s'accompagner de la volonté d'assurer aux patients une information fiable sur les bénéfices attendus de ces tests.

Le diagnostic de gènes de prédisposition

Les gènes de prédisposition sont des gènes qui, lorsqu'ils sont mutés, entraînent un risque supérieur à la population générale de développer une maladie. Pour être légitimes, les tests de prédisposition doivent mettre en valeur un risque qui soit réellement plus important et supérieur aux influences environnementales, et face auquel une action préventive ou curative est possible.

Le développement de l'étude des gènes de prédisposition aux cancers du sein familiaux (BRCA1 et BRCA2) fournit un exemple d'une telle utilisation.

Alors même que le développement de ces tests engage d'importants intérêts financiers, ce sont les conséquences individuelles de l'annonce d'une susceptibilité génétique qui posent question. L'enjeu de la responsabilité des équipes médicales et l'impact financier du développement de ces tests doivent également être pris en compte. Il convient en outre de déployer un effort de formation et d'information, essentiellement pour porter à la connaissance des professionnels et du public les conséquences délétères du recours à des tests hors de toute utilité clinique avérée et de contrôle de qualité bien documentés.

Tests de pharmacogénétique

La pharmacogénétique est l'étude de l'origine génétique de la variabilité de réponse aux médicaments, avec pour objectifs principaux d'identifier les sujets répondeurs et non répondeurs à un médicament donné, d'identifier les sujets à risque de survenue d'un effet indésirable pour un médicament donné et de prévoir la dose la plus adaptée à chaque individu pour un médicament donné.

En pratique, il convient de distinguer la pharmacogénétique somatique, qui correspond à la prédiction de réponse d'une tumeur à un traitement, et la pharmacogénétique constitutionnelle, où ce sont les caractéristiques génétique de la personne qui permettent de prédire sa réponse au médicament.

2.3.2. L'explosion de l'offre sur Internet

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 pluridisciplinaire pour les patients asymptomatiques. Les tests proposés sur Internet sortent de ce cadre, de sorte que les personnes qui y recourent ne sont pas accompagnées.

Au cours de l'année 2007, au moins trois sociétés (23andMe, DecodeMe, Navigenics) se sont lancées sur le marché des tests génétiques individuels sur Internet. Ces entreprises proposent à leurs clients d'étudier leur génome et d'en déduire leur risque de développer une vingtaine de maladies courantes pour lesquelles des facteurs génétiques ont été identifiés. 23andMe et DecodeMe proposent également à leur client de retracer sa généalogie, de comparer son information génétique à celle de proches, d'amis, de vedettes, pour une mise en réseau sur Internet par le biais de réseaux sociaux encore inédits. Chaque recherche de susceptibilité par pathologie est facturée entre 200 et 500 dollars. Le plus souvent, les résultats sont fournis sous forme brute. Quelques sites, comme Navigenics, ont choisi de ne proposer des tests que lorsque le patient peut agir, par une modification de son comportement ou par une surveillance accrue, lorsqu'il reçoit ses résultats.

Prédiction, personnalisation, préemption : quelles conséquences sur l'organisation des soins et le rapport à la médecine ?

Le développement des tests génétiques, qu'ils visent à prédire l'apparition d'une pathologie, à personnaliser la prescription d'un traitement, ou encore à favoriser la prévention voire la préemption de la pathologie anticipée, est susceptible de modifier en profondeur notre rapport à la médecine et l'organisation du système de soins. En effet, d'un paradigme curatif dans lequel le système de soins prend en charge les patients dans la phase aiguë de leur pathologie ou bien pour minimiser son expression chronique, on passe à un paradigme d'anticipation, dans lequel la mission du système de soins se déplace vers l'amont de la pathologie. Les promesses de la prédiction et de la personnalisation de la médecine conduisent à une individualisation croissante des soins.

De plus, la question de pose de définir quels nouveaux métiers, quelles nouvelles formes d'information ou d'éducation thérapeutique inventer pour accompagner la diffusion de ces nouveaux outils et la prise en charge de patients se sachant malades en amont de toute expression pathologique.

2.4. Diagnostic prénatal et diagnostic préimplantatoire

2.4.1. Diagnostic prénatal

Le diagnostic prénatal (DPN) d'une pathologie du fœtus *in utero* est encadré par la loi française. Cette pratique est ainsi bien suivie, notamment par l'Agence de la biomédecine qui 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 dépistages et rendent les actions diagnostiques plus fiables et les pronostics plus précis. De plus, les nouvelles techniques d'imagerie s'appliquent désormais aussi au fœtus *in utero*. Dans des indications précises, elles apportent des précisions diagnostiques importantes pour le pronostic.

Dépistage plus précoce des aneuploïdies fœtales par calcul de risque

Depuis 1996, un dispositif national permet de réaliser, chez les femmes enceintes qui le souhaitent, le calcul du risque d'aneuploïdie et de trisomie 21 en particulier pour leur futur enfant. Ce risque est calculé par un algorithme qui associe l'âge de la future mère et le dosage d'au moins deux marqueurs spécifiques présents dans le sang maternel. Ces dosages ne sont considérés comme réellement discriminants qu'entre la 15^{ème} et la 18^{ème} semaine d'aménorrhée.

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^{ème} et la 13^{ème} semaine de développement embryonnaire) et plus spécifique. Le dispositif qui a été mis en place associe pour ce calcul la mesure de la clarté nucale du fœtus, la longueur crânio-caudale, l'âge de la femme enceinte et le dosage de deux marqueurs présents dans son sang (PAP-A et β hCG). Les objectifs sont, outre un dépistage et donc un diagnostic plus précoce, de diminuer les faux positifs du dépistage, sans diminuer la sensibilité de la méthode. Seule une évaluation en vraie grandeur, à partir des données recueillies sur plusieurs mois pourra valider ces objectifs. Par ailleurs, il faudra compléter ce dispositif en développant des actions d'information, notamment pour laisser les femmes libres d'y recourir ou non, et des actions d'accompagnement des familles.

ARN fœtal dans le 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 permettent maintenant d'envisager des diagnostics sur le fœtus sans utiliser de prélèvement fœtaux invasifs (amniocentèse, biopsie de villosités chorales ou prélèvement de sang placentaire). Actuellement deux diagnostics sont proposés en routine : la détermination du sexe fœtal dans le cadre du diagnostic prénatal de maladies associées au chromosome X et 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). D'autres diagnostics pourraient être envisagés. Ils nécessitent notamment de pouvoir utiliser des marqueurs discriminant les chromosomes paternels et maternels.

Ces conditions limitent les applications, mais d'autres évolutions techniques pourraient permettre soit de le simplifier, soit de s'en affranchir. Ce sont des sujets de recherches assez répandus.

Cellules fœtales dans le sang maternel

Pour disposer d'ADN fœtal bien identifié il est possible de rechercher des cellules fœtales dans le sang des femmes enceintes. En effet, on sait depuis plusieurs décennies que des cellules circulent dans le sang de la future mère. Plusieurs obstacles ont été reportés à leur utilisation : leur caractérisation, leur qualité, le fait qu'elles peuvent persister d'une grossesse à l'autre, la durée d'obtention d'un résultat incompatible avec le diagnostic prénatal, etc. Néanmoins, si ces obstacles étaient levés, cette technique pourrait être utilisée dans le cadre d'un diagnostic prénatal non invasif précoce de maladie monogénique.

2.4.2. Diagnostic préimplantatoire

Le diagnostic préimplantatoire (DPI) exigera toujours de disposer des embryons *in vitro* avant le remplacement embryonnaire chez la femme. Ce type de diagnostic est donc conditionné par la pratique d'une fécondation *in vitro*, ce qui le différencie du DPN. Cette nécessité de la FIV sera aussi une limite pour les couples qui feraient connaître leur préférence pour cette procédure. Il n'est donc pas envisageable de remplacer le DPN par le DPI.

Les moyens techniques actuels et les évolutions prévisibles à court et moyen termes pourraient faire que le DPI puisse être réalisé pour plusieurs pathologies en fonction des antécédents familiaux et dans de meilleures conditions techniques.

- 3 -

Cellules souches : état des lieux et perspectives

3. Cellules souches : état des lieux et perspectives

La période récente a vu une accélération importante des travaux et connaissances dans le domaine de la biologie des cellules souches humaines, due à une diversification importante des types de cellules souches qui sont l'objet de recherches. D'autre part, celles-ci suscitent un intérêt croissant dans le grand public, lié en particulier au tournant dans les perspectives thérapeutiques et à la perspective de pouvoir pallier les conséquences du dysfonctionnement des tissus, dont la fonction se dégrade avec le vieillissement ou la maladie. Ces éléments expliquent l'augmentation très significative des investissements dévolus à ce domaine dans un grand nombre de pays.

Au moment du vote de la loi de bioéthique du 6 août 2004, la situation scientifique était relativement simple. A l'époque, la nouvelle loi devait répondre au problème posé par l'utilisation des cellules souches embryonnaires humaines (CSEh). Les cellules souches embryonnaires avaient été dérivées chez l'homme pour la première fois en 1998 aux USA, il n'en existait alors que quelques dizaines de lignées à travers le monde (aucune lignée française, puisque la recherche sur l'embryon était interdite). Des publications faisaient état de l'établissement de protocoles de différenciation permettant d'obtenir des cellules à des stades plus ou moins différenciés. Aucune application thérapeutique à court terme n'était alors envisagée.

Auparavant, on n'avait accès chez l'homme qu'aux cellules souches adultes. Deux types de thérapies les utilisant étaient alors pratiquées en routine dans les hôpitaux : la greffe de cellules souches hématopoïétiques (issues de la moelle osseuse ou du sang placentaire) dans des indications hématologiques (leucémies, drépanocytose, déficits immunitaires par exemple), et la greffe de cellules souches de l'épiderme chez les grands brûlés. Des données récentes évoquaient la possibilité d'élargir les indications thérapeutiques de ces cellules en dehors de leur tissu d'origine.

En 2010, les deux seules thérapies validées par des résultats indiscutables utilisant des cellules souches restent, comme en 2004, la greffe de cellules souches hématopoïétiques et la greffe de cellules souches épidermiques. Aucun autre protocole de soin utilisant des cellules souches humaines n'a franchi le stade de la recherche clinique. Cette situation était prévisible :

- La communauté scientifique, dans sa majorité, avait averti que ce délai de 5 ans n'apporterait pas d'amélioration significative dans des indications nouvelles : le temps de la recherche n'est pas celui du grand public, et les contraintes réglementaires visant à garantir la sécurité des patients imposent des temps de développement clinique de plus en plus longs.

- Parallèlement, les connaissances fondamentales concernant les cellules souches se sont élargies de façon exponentielle. Ces découvertes ont permis d'affiner la définition des cellules souches pluripotentes, de mieux comprendre le rôle crucial de l'environnement dans la fonction des cellules souches, en particulier chez l'adulte, et d'identifier de nouvelles classes de cellules souches, créées par reprogrammation, les plus célèbres étant les cellules souches induites pluripotentes (reprogrammées), ou « induced pluripotent stem cells » (iPS).

3.1. Etat de l'art

3.1.1. Résumé des avancées significatives

Depuis la loi du 6 août 2004, les connaissances dans le domaine de la biologie des cellules souches ont progressé de façon spectaculaire. On peut classer les avancées réalisées en 4 catégories :

- Diversité des cellules souches : un grand nombre de travaux de recherche ont livré un panorama très détaillé des différents types de cellules souches se succédant *in vivo* durant la vie de l'individu ; de nouveaux types de cellules souches ont été découverts, *in vivo* et *in vitro* ;
- Compréhension de l'état de pluripotence et de multipotence : les progrès technologiques ont permis de mieux cerner les déterminants moléculaires de l'état pluripotent des cellules souches et leur utilisation dans le processus de reprogrammation de cellules différenciées en iPS ou en progéniteurs ;
- Reconnaissance de l'importance de l'environnement : *in vivo*, les propriétés d'une cellule souche adulte, fœtale ou embryonnaire, sont déterminées de façon très précise par son environnement (notion de « niche ») ;
- Utilisation des cellules souches dans la modélisation de pathologies humaines, utilisant des CSEh issues de diagnostic pré-implantatoire (DPI) ou de cellules dérivées de patients atteints de ces pathologies.

Ces concepts expliquent la diversité des stratégies thérapeutiques utilisant des cellules souches humaines :

- Action thérapeutique directe : les cellules souches (ou leurs dérivés) sont greffées à un receveur pour remplacer directement des cellules lésées. On utilise les propriétés « souches » (auto-renouvellement et production de cellules différenciées) des cellules ;
- Action thérapeutique indirecte : les cellules sont injectées pour favoriser indirectement la reconstitution des tissus qui se fait par les cellules endogènes du patient (via l'expression de substances diffusibles, la modulation du processus inflammatoire ou immunologique) : action « trophique ». Il faut noter que, dans ce cas, ce ne sont pas nécessairement les propriétés « souches » des cellules qui sont utilisées ;
- Action thérapeutique indirecte : les cellules sont utilisées comme outils de criblage pour évaluer ou identifier de nouveaux médicaments (criblage de banques de molécules à la recherche de nouveaux médicaments, évaluation toxicologique, remplacement des modèles animaux). Ces médicaments peuvent par exemple stimuler la régénération des tissus *in vivo* ;
- Action thérapeutique indirecte : les cellules souches cultivées permettent de reproduire *in vitro* des modèles de pathologies humaines, de favoriser leur compréhension et idéalement de trouver des traitements.

Plus qu'une cellule souche universelle hypothétique capable de réparer tous nos organes défectueux, on s'achemine vers de multiples « outils cellulaires thérapeutiques » adaptés, dont certains pourront être autologues et proposés « à façon », d'autres validés et disponibles dans des banques allogéniques, probablement internationales.

3.1.2. Les cellules souches embryonnaires humaines (CSEh)

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 issu d'une procédure de fécondation *in vitro* (FIV). Leur extraction, puis les conditions de culture *in vitro* « gèlent » ces cellules dans l'état pluripotent¹ qui est le leur *in vivo*, avant la spécification des différents organes, et qui peut se perpétuer à l'identique de façon indéfinie en culture. L'expérimentateur, en changeant ces conditions et en sélectionnant des combinaisons appropriées de molécules et de substrats, les guide dans une voie de différenciation donnée. Cette double propriété, de prolifération indéfinie (auto-renouvellement), et de différenciation dans tous les types de tissus (pluripotence), assure un nombre illimité de cellules capables de multiples destins cellulaires.

Plus de 500 lignées ont été dérivées et caractérisées dans le monde, et sont utilisées par de très nombreux laboratoires. Notons que ces lignées ne correspondent pas à une réalité physiologique, puisque, *in vivo*, cette pluripotence est perdue dans les stades immédiatement ultérieurs.

Depuis 2004, la rapidité des progrès technologiques d'analyse à large échelle (collectivement appelées techniques « omics ») du génome et des produits de ce génome (ARN et protéines) et de l'ensemble des modifications de la chromatine (que l'on nomme profil épigénétique) ont permis de 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 identifié les gènes, protéines et réseaux de régulation à l'origine de ces deux propriétés d'autorenouvellement indéfini et de pluripotence des CSEh. Cette signature génique et épigénétique n'a rien de commun avec celle que l'on observe dans les cellules souches adultes, ce qui reflète bien les propriétés très différentes de ces cellules. Notamment, les CSEh se caractérisent par un profil épigénétique très spécifique et par l'expression d'une dizaine de gènes définissant l'état pluripotent, qui sont exclusivement exprimés ensemble par des cellules pluripotentes (CSEh, mais aussi cellules germinales), mais pas par les cellules souches adultes ni fœtales. Ces gènes sont notamment responsables de l'induction du processus de reprogrammation en iPS.

Au cours des 5 dernières années, un grand nombre de protocoles a été mis au point, permettant la différenciation, de façon reproductible, de CSEh en plusieurs types cellulaires différenciés : hépatocytes, neurones (dopaminergiques, GABAergiques), épiderme, etc. L'une des leçons de la période récente concerne l'importance de la connaissance de 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 aboutissant in vivo, à partir du blastocyste, à la formation du tissu.

Des succès ont été obtenus pour le développement des cardiomyocytes, des cellules des îlots β de Langerhans (pancréas) sécrétant l'insuline (détruites dans le cas du diabète), des progéniteurs neuraux. Il faut noter dans ce cadre la notion de 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 afin de sélectionner celle qui se différencie dans la voie choisie avec la plus grande efficacité et la meilleure reproductibilité. L'un des enjeux de l'utilisation des iPS sera de comprendre si elles répondent aux mêmes contrôles.

¹ Une **cellule pluripotente** est une cellule ayant la capacité de donner, après différenciation, l'ensemble des tissus d'un organisme excepté les annexes embryonnaires (entre autres : placenta, cordon ombilical)

3.1.3. Les cellules souches adultes humaines (CSAh)

De très nombreuses recherches ont également été conduites sur les cellules souches présentes chez l'adulte. La notion de « niche » a notamment fait l'objet de nombreux articles. Celle-ci conditionne en particulier le maintien de la cellule dans son état « souche » selon un subtil équilibre permettant la conservation d'un réservoir de ces cellules ainsi que la production, en quantité suffisante, de cellules différenciées. Trois types de niches de cellules souches adultes ont été particulièrement bien explorés ces dernières années chez l'animal: la niche hématopoïétique, la niche contenant les cellules souches de villosités intestinales, ainsi que les cellules souches composant le follicule pileux, présent à la base des poils et des cheveux.

Contrairement aux lignées de cellules souches embryonnaires, ces cellules souches déjà spécialisées prolifèrent très mal *in vitro*, et, sauf exception (peau, neurosphères), sont peu capables d'autorenouvellement. Cela est en grande partie dû au dysfonctionnement progressif qui accompagne leur « vieillissement » physiologique, inéluctable *in vivo*. Si elles peuvent représenter en théorie un produit thérapeutique séduisant, car validé *in vivo* et sûr, elles sont, par leur faible nombre, leur difficulté d'isolement, d'amplification et de survie, difficilement exploitables en pratique à large échelle : hormis les cellules souches hématopoïétiques et celles de l'épiderme interfolliculaire, dont le bénéfice est connu depuis 20 ans, aucune autre cellule souche adulte n'a depuis 10 ans été régulièrement utilisée en thérapeutique. Certaines cellules de type « neurosphères » ou « cardiosphères » isolées respectivement de cerveau fœtal ou de muscle cardiaque, sont en phase d'essai clinique, toujours en situation de greffe allogénique.

Les obstacles à la manipulation efficace *ex vivo* de cellules souches adultes, inhérents à leur statut, expliquent l'intérêt des stratégies thérapeutiques essayant d'activer ces cellules souches *in situ*, dans leur environnement naturel. En effet, le sevrage des cellules souches des influences de leur niche naturelle (voir ci-dessous) entraîne souvent leur mort ou leur dysfonctionnement, ou un comportement « aberrant » (neurosphères) qui pourrait être délétère. Cette approche thérapeutique *in situ* a été validée dans des modèles animaux avec un certain succès, et certains essais cliniques sont en cours chez l'homme. Cette activation *in situ* peut se faire de plusieurs façons : via des molécules pharmacologiques, ou via des cellules ayant un rôle dit « trophique » ou « adjuvant » parce qu'elles apportent localement des facteurs de croissance, ou ont une fonction anti-inflammatoire ou immunomodulatrice, pro-angiogénique, et restaurent donc un environnement propice à une réparation tissulaire de qualité. Ce pourrait être en particulier le rôle des cellules « souches mésenchymateuses » adultes ou fœtales (voir ci-dessous).

Au cours des dernières années, plusieurs groupes ont publié des données suggérant que certaines populations de cellules souches adultes auraient des caractéristiques de pluripotence, leur conférant la capacité de donner naissance à d'autres types de cellules que leur tissu d'origine. Il y a eu deux types de résultats très différents :

- Dans les années 2000, il est apparu que des dérivés de cellules souches, en particulier hématopoïétiques, pouvaient fusionner avec des cellules tissulaires après greffe et corriger certains déficits, faisant croire, à tort, au potentiel pluripotent de ces CSH ; c'est ce que l'on a appelé « transdifférenciation » ; si ce phénomène de fusion existe, son exploitation thérapeutique ne pourra pas s'envisager dans un futur proche.
- une autre piste méritant d'être approfondie décrit le caractère « pluripotent » de certaines sous-populations de cellules souches mésenchymateuses isolées de moelle osseuse ou de tissu adipeux (voir ci-dessous).

3.1.4. Cellules souches mésenchymateuses (CSM) : une classe atypique de cellules souches adultes

Cette catégorie de cellules a été très étudiée au cours des 5 dernières années et elle a suscité à la fois interrogations et espoirs : ces cellules peuvent être facilement amplifiées à partir de tissus accessibles, moelle osseuse, tissu adipeux, tissu conjonctif du cordon, et probablement d'autres tissus. Les cellules obtenues, qui ne sont pas immortelles, ont deux propriétés : elles peuvent se différencier en précurseurs osseux ou cartilagineux, et des essais cliniques sont en cours pour tester leur intérêt en orthopédie ou traumatologie. Indépendamment de ce rôle précis bien établi, elles ont aussi une propriété particulière, celle d'induire une tolérance immunologique.

Cette propriété peut être très utile dans les situations de maladies autoimmunes ou de rejet de greffe (greffe de moelle osseuse ou d'organes solides). Des essais cliniques sont en cours, notamment dans les GVH aiguës (maladie du greffon contre l'hôte : attaque du receveur par le système immunitaire du donneur), avec succès. Contrairement aux cellules souches adultes spécifiques d'un tissu (voir 3.1.3), on ne sait pas à quoi correspondent *in vivo* ces CSM. Quelle est leur fonction ? Quelle est leur cellule d'origine ? Le paradoxe est qu'elles disparaissent très rapidement des tissus de l'hôte après greffe.

Les propriétés de pluripotence qu'on a parfois attribuées aux cellules souches 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).

L'intérêt thérapeutique de ces cellules réside donc, pour l'instant, plus dans leur rôle d'immunomodulation que dans celui de remplacement cellulaire, et à 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.

3.1.5. Cellules souches fœtales : un statut particulier ?

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.

Elles gardent cependant une capacité de prolifération très supérieure à celle des CSA, qui leur permet d'assurer la croissance des organes, et n'ont pas encore accumulé les altérations liées à l'âge qui expliquent les dysfonctionnements des CSA. Ces propriétés ont été corrélées à des voies de signalisation moléculaires particulières, et notamment à une régulation particulière du cycle cellulaire. Néanmoins, aucune preuve définitive ne démontre, pour l'instant, que certaines populations de cellules fœtales ont la capacité de proliférer indéfiniment sous forme de lignées, comme c'est le cas des lignées de CSEh².

L'intérêt tient essentiellement à la disponibilité des cellules souches fœtales qui circulent dans le sang placentaire et pourraient résider dans le tissu conjonctif du cordon, facilement accessible sans effet délétère pour le donneur.

² On rappellera qu'il n'y a pas de cellules souches embryonnaires circulant dans le sang placentaire

Mais, début 2010, seules les cellules souches hématopoïétiques circulant dans le sang placentaire ont prouvé leur utilité thérapeutique dans des protocoles thérapeutiques éprouvés (voir ci-dessus).

Hormis les cellules souches hématopoïétiques, deux autres types de cellules circulent dans le sang placentaire, mais ils sont rares et leur présence n'est pas systématique : les progéniteurs des cellules endothéliales et de rares cellules dites « mésenchymateuses ». Malgré leur pouvoir d'amplification important, leur rareté et le côté aléatoire de leur présence compromettent leur utilisation clinique. Des cellules mésenchymateuses ont récemment été identifiées dans le tissu conjonctif du cordon ombilical, et leur présence est, cette fois, systématique. Il est nécessaire d'approfondir les travaux sur ces cellules, d'en comprendre l'origine dans le tissu fœtal et d'en définir le comportement après greffe dans des modèles animaux rigoureux avant d'envisager leur éventuelle utilité thérapeutique.

D'autres types de cellules fœtales ont été utilisés dans certains protocoles de thérapie cellulaire, et notamment certains fragments de cerveau fœtal dans des protocoles de correction de maladie de Parkinson ou de maladie de Huntington. Cependant, ce type de thérapie s'est avéré trop lourd, et ses résultats sont décevants (au moins dans le Parkinson).

3.1.6. Cellules souches et progéniteurs obtenus par un processus de reprogrammation (cellules souches induites, ou iPS)

La technique de reprogrammation d'une cellule somatique adulte (par exemple, un fibroblaste de peau) en une cellule souche pluripotente (baptisée iPS) par un simple transfert de gènes a été mise au point chez la souris par le Pr Yamanaka, au Japon, en 2006. Ce chercheur s'est appuyé sur des années de recherche antérieures ayant caractérisé le processus de reprogrammation de noyaux somatiques, notamment par fusion cellulaire avec des cellules souches embryonnaires, ou encore par transfert nucléaire dans des ovocytes. La découverte du Pr Yamanaka provient de l'essai systématique de combinaisons des gènes soupçonnés, à l'époque, de jouer un rôle dans la pluripotence des cellules souches embryonnaires murines, puis humaines. Il a prouvé que l'induction de la pluripotence dans une cellule complètement différenciée ne nécessitait que l'expression de 4 gènes. L'année suivante, l'équipe du Pr Yamanaka a réussi à obtenir le même résultat en partant de cellules humaines. Cependant, l'expression forcée de ces 4 « transgènes » passait 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.

Reprogrammer une cellule est un processus artificiel qui force la cellule à adopter un destin et un comportement qui ne sont pas les siens physiologiquement. En ce sens, toute cellule reprogrammée artificiellement diffère fondamentalement des cellules souches physiologiques, ce qui peut induire un risque. Ainsi, ces cellules adultes ou fœtales (fibroblastes) une fois reprogrammées ont un comportement proche de celui des CSEh, mais elles ne sont pas embryonnaires.

Jusqu'à maintenant, les travaux se sont essentiellement focalisés sur les aspects « techniques » du processus de reprogrammation. Compte tenu du peu de recul dont on dispose, il est impossible d'anticiper aujourd'hui leur avenir en thérapie cellulaire, même s'il apparaît très prometteur.

En effet, les iPS pourraient en théorie permettre une approche de greffe autologue ou patient-spécifique, évitant l'administration d'immunosuppresseurs que requiert l'utilisation thérapeutique de cellules dérivées de CSEh allogéniques. On peut cependant douter de la faisabilité en pratique de cette approche personnalisée, principalement pour des raisons économiques et logistiques. Plusieurs solutions doivent être trouvées :

- la nécessité de méthodes alternatives à l'utilisation de virus intégratifs ou, plus généralement, au transfert d'ADN étranger, actuellement utilisés pour forcer l'expression de molécules pluripotentes : utilisation d'ARN, de protéines ou de petites molécules ;
- l'identification d'une combinaison de facteurs n'entraînant pas de signal oncogénique dans les iPS ; il est probable que ce verrou, comme le précédent, sera levé dans un futur proche car les progrès sont extrêmement rapides dans un contexte de compétition internationale ;

- l'induction de programmes de différenciation efficaces à partir des iPS obtenues. Ce dernier point se heurte manifestement à quelques difficultés, et notamment à la possible « mémoire » que pourraient avoir les cellules reprogrammées de leur tissu d'origine, qui serait un obstacle à une reprogrammation complète de type cellules souches embryonnaires.

Si la reprogrammation en cellules pluripotentes paraît la plus 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 l'importance des stratégies de reprogrammation « partielle » où l'objectif ne sera pas de « retourner » à un état pluripotent, mais simplement à un état de cellule souche tissulaire multipotente, voire de progéniteur tissulaire, qui pourra être réorienté vers la lignée défectueuse. Cette démarche pourrait s'avérer la plus fructueuse à l'avenir.

A ce stade, il est donc probable que les iPS ne sont pas strictement équivalentes à des cellules CSEh. L'effort international est cependant tel qu'on devrait disposer dans les prochaines années d'éléments de réponse précis à ces questions et à celle de l'utilisation thérapeutique des cellules iPS.

3.2. Perspectives cliniques d'utilisation des cellules souches

Comme expliqué précédemment, il faut clairement distinguer deux stratégies thérapeutiques utilisant des cellules « souches », et susceptibles d'amener des progrès en « médecine régénérative » : l'une exploite leur fonction de production de cellules différenciées remplaçant des cellules lésées, (action directe) ; l'autre exploite la fonction « adjuvante » des cellules souches, stimulant la réparation par les cellules endogènes ou par d'autres cellules (action indirecte). Dans la première, les cellules doivent persister à long terme ; dans la seconde, elles seront probablement éliminées rapidement.

Peu de nouvelles cellules souches ont prouvé leur utilité par une action directe : les CSH (adultes et fœtales) et cellules souches épidermiques restent toujours les deux seules classes de cellules souches validées pour une utilisation thérapeutique à large échelle. Il faut noter les succès récents des protocoles de thérapie génique utilisant ces cellules, qui vont probablement s'étendre dans les prochaines années. D'autres essais plus ponctuels sont en cours, utilisant des progéniteurs osseux, des neurosphères ou des progéniteurs cardiaques.

Parmi les cellules souches qui agissent indirectement, les cellules souches mésenchymateuses issues de moelle osseuse font l'objet de la majorité des essais cliniques sur le sujet, et on peut en attendre une analyse statistique permettant de statuer sur leur efficacité dans les prochaines années.

L'objectif de ces essais est d'étudier le rôle de ces cellules souches d'une part via leurs propriétés d'immunomodulation ou de production de molécules trophiques, et, d'autre part, plus rarement, comme source de cellules réparatrices osseuses. Par ailleurs, les premiers essais cliniques avec les CSEh seront programmés dans les 5 prochaines années. Aux Etats-Unis un premier essai sur les lésions de la moelle épinière a été autorisé en 2009, mais a été immédiatement suspendu sur la base de nouvelles données pré-cliniques. Un second essai sur la DMLA (dégénérescence maculaire liée à l'âge) a été autorisé. Les essais cliniques utilisant des iPS ne démarreront quant à eux probablement pas avant 5 ans.

3.2.1. Progrès significatifs constatés au cours de 5 dernières années

Au cours de ces 5 dernières années, il est devenu évident qu'à la diversité des cellules souches (voir précédemment) correspondait une diversité possible de leur mode d'action en médecine régénérative.

Remplacement direct

La première approche, classique, est celle utilisant actuellement cellules souches hématopoïétiques et des cellules souches épidermiques : remplacement direct des cellules lésées ou non fonctionnelles, qu'on y adjoigne ou non une étape de thérapie génique. Les cellules souches hématopoïétiques et des cellules souches épidermiques sont aujourd'hui reconnues comme des outils thérapeutiques efficaces dans les maladies de types hématologiques (cellules souches hématopoïétiques) ou dans le remplacement de grande surface d'épiderme (grands brûlés, accidents d'irradiation). En 2010, aucune autre thérapie utilisant des cellules souches adultes, fœtales ou embryonnaires n'a atteint, ou même approché, ce degré d'efficacité. Des essais ont été menés avec des progéniteurs endothéliaux (ischémie des membres inférieurs) ou des précurseurs musculaires (insuffisance cardiaque, incontinence sphinctérienne) issus de donneurs, mais les résultats sont trop ponctuels et peu convaincants. Certains essais de phase I sont en cours avec des progéniteurs de type neurosphères (issus de cerveaux fœtaux) notamment dans les ischémies cérébrales, ou dans certaines maladies neurodégénératives (lipofuscinose), ou des cardiosphères issues de biopsies myocardiques autologues (voir tableau 1). Il est néanmoins trop souvent oublié, dans certains commentaires un peu hâtifs, que ces essais de phase I sont conçus pour s'assurer de la sécurité et de l'innocuité du produit (en l'occurrence des préparations de cellules). Ces essais ne sont en aucun cas conçus pour tirer quelques conclusions que ce soit sur l'efficacité du produit testé (nombre extrêmement réduit de patients, le plus souvent moins de dix, absence de cohorte « placebo » non traitée, etc.). Les commentaires, trouvés en général dans la presse généraliste, essayant de tirer des données significatives de ce type d'essais, sont dans le meilleur des cas erronés. Pour démontrer l'efficacité de traitement utilisant des cellules souches embryonnaires, fœtales ou adultes, il faudra attendre des essais randomisés en double aveugle (essais de phase 2/3).

Quant aux précurseurs dérivés des cellules souches embryonnaires, les premiers essais cliniques (phase 1) sont attendus dans les 5 ans (voir ci-dessous).

Action indirecte

Une seconde stratégie thérapeutique a démontré son intérêt : elle utilise une autre propriété de certaines cellules souches. 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 cellules dites « souches mésenchymateuses », ou encore « stromales mésenchymateuses » agissent de cette façon, qu'elles soient d'origine médullaire, adipeuse, ou de cordon ombilical.

Plusieurs protocoles de recherche clinique ont utilisé leurs propriétés d'immunomodulation, notamment dans des cas de GVH aiguë (maladie du greffon contre l'hôte suivant la greffe de cellules souches hématopoïétiques), ou de maladies auto-immunes ou inflammatoires (par exemple dans le cas de brûlures). 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 cotransplanter avec des organes ou d'autres cellules réparatrices, afin d'atténuer les phénomènes de rejet du greffon dans le cas de greffe allogénique.

L'utilisation de ces cellules stromales mésenchymateuse est facilitée par leur disponibilité en grand nombre, leurs sources faciles d'accès (tissu adipeux, moelle osseuse, peut-être cordon) et leur faible risque, puisqu'elles ne perdurent probablement pas à long terme dans l'organisme. Si leur utilisation devait s'accroître, il faudrait envisager des banques de cellules allogéniques, validées sur le plan de la qualité, typées sur le plan immunologique, et donc rapidement disponibles. Une utilisation autologue à large échelle exposerait à des difficultés logistiques importantes, et peu compatibles avec l'urgence du traitement, par exemple dans les cas d'ischémie.

Dans une acception qui n'est pas celle de la médecine régénérative, certaines cellules souches pourraient être utilisées comme vecteurs de drogues ou d'enzymes clivant des pro-drogues (précurseurs de médicaments), tirant parti de leurs propriétés migratoires remarquables, en particulier vers une lésion tumorale.

Tableau 1 - Cellules souches adultes utilisées en thérapeutique

| CELLULES | ACTIONS | EXEMPLES DE MALADIES CIBLEES | RESULTATS |
|---|---|---|--|
| Cellules souches mésenchymateuses (moelle osseuse, sang placentaire) | Remplacement os, cartilage | Ostéonécrose tête fémorale/pertes osseuses | Essais en cours + bio-ingénierie |
| | Immunomodulation, Anti-inflammatoire | - Induction tolérance (greffes organes/CSH) - Maladies inflammatoires (Crohn) | Essais cliniques en cours (bénéfices GVH) |
| | Action trophique | Stimulation réparation spontanée (ischémie rénale, cerveau, insuffisance cardiaque) | Essais en cours coinjection avec autres CS |
| | Vecteurs de drogues cytotoxiques | Cancers (gliomes) | Essais en cours |
| Cellules souches hématopoïétiques (autologues /allogéniques) | Multiplés indications hématologiques et immunologiques ± thérapie génique | Déficits immunitaires, hémoglobinopathies, VIH, adrénoleucodystrophies | Validation thérapeutique Succès |
| Cellules souches épidermiques (autologues) | Réparation transitoire ou permanente | Brûlures | Validation thérapeutique |
| | + thérapie génique | Maladies génétiques (épidermolyses bulleuses) | Succès |
| Cellules souches neurales (neurosphères allogéniques) | Remplacement de neurones ou action trophique (sécrétion paracrine) | Lipofuscinose Ischémie cérébrale | Essais Phase I/II en cours |
| Progéniteurs cardiaques (biopsies myocardiques) | | Insuffisance cardiaque | Essai en cours phase I |

3.2.2. Perspectives cliniques 2010-2015: enjeux et défis

L'explosion récente des connaissances dans le domaine des cellules souches, très médiatisée, est encore du domaine de la recherche et n'aura pas de traduction immédiate en termes de progrès médicaux à large échelle.

En revanche, 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) permet 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.

Comme précisé plus haut, les premiers essais cliniques utilisant les dérivés des CSEh devraient débuter dans les 5 prochaines années, et les essais cliniques avec les cellules souches mésenchymateuses, qu'elles soient d'origine fœtale ou adulte, se poursuivront. Pour ces derniers, des essais randomisés (phase 2/3) permettront une conclusion statistiquement validée sur leur réel bénéfice thérapeutique dans différentes indications (notamment GVH, maladie de Crohn, sclérose en plaques, diabète), de même qu'une réponse sur les bénéfices comparés des CSM d'origine adipeuse, médullaire ou fœtale (cordon). Les premiers essais cliniques de CSM dans des essais de réparation osseuse, en association avec des biomatériaux, devraient également débuter.

Le greffon réparateur du futur : un greffon complexe « à la carte »

L'un des atouts qu'offre la diversité des cellules souches à notre disposition est la possibilité d'associer plusieurs populations complémentaires en un greffon plus fonctionnel. En effet, il ne s'agit pas seulement d'obtenir la population de cellules/précurseurs différenciés appropriée, mais de lui permettre de s'insérer très rapidement dans un environnement qui lui permette de survivre et de fonctionner. Cela implique par exemple une vascularisation immédiate, un substrat sur lequel adhérer et/ou migrer, ou encore la présence de facteurs anti-inflammatoires car la greffe se fera souvent dans un milieu lésé donc réactif et hostile. Cela souligne l'importance probable pour les futurs greffons des combinaisons de cellules d'origine diverse (associant cellules souches tissulaires spécifiques, cellules souches mésenchymateuses, et peut-être cellules souches vasculaires), mais également l'intérêt de l'interdisciplinarité et du rôle des ingénieurs qui inventeront les substrats adaptés. On peut également anticiper des progrès dans la science de la bio-ingénierie cellulaire. Peu médiatique, la recherche sur les biomatériaux est un pré-requis indispensable car les cellules souches ne pourront ni survivre ni fonctionner en l'absence d'un substrat adéquat, imbibé de facteurs de croissance, et de cellules de soutien reconstituant une « niche » indispensable (voir plus haut). On peut citer par exemple l'utilisation de polymères de type hydrogel, pour conférer une structure tridimensionnelle et assurer le contact entre ces cellules. Ces stratégies sont à l'essai dans les greffons osseux utilisant des cellules mésenchymateuses, ou pour les greffes d'épithélium rétinien pigmentaire. Elles ont également permis des greffes de vessies synthétiques et la greffe d'un segment important de trachée. Il ne faut pas négliger une autre voie de « réparation », via l'action médicamenteuse directe : l'idée étant de stimuler *in situ* les composants de l'environnement (niche) afin d'activer une réparation endogène.

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

Pour s'inscrire dans les stratégies exposées ci-dessus, et parallèlement aux recherches cognitives, de très nombreux groupes cherchent à adapter les cellules souches à des conditions de culture compatibles avec la production d'un produit thérapeutique. 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.

Cela implique donc un certain nombre de pré-requis :

- l'élimination des réactifs (substrats, feeders cellulaires non humains et souvent sérums) d'origine animale, qui sont proscrits dans le cadre d'une application thérapeutique (thérapie cellulaire, criblage pharmacologique) ;
- l'adaptation à une production à l'échelle industrielle (culture cellulaire en masse, conditions standardisées, robotisation) ;
- la dérivation de nouvelles lignées de CSEh dans des conditions les rendant utilisables pour d'éventuelles visées thérapeutiques ;
- un contrôle de qualité phénotypique, sanitaire et génétique.

Compte tenu du développement attendu des essais cliniques utilisant des cellules souches, des enjeux d'organisation en termes de production et de contrôle de qualité se posent, qui devront être gérés à l'échelon national dans des structures appropriées. Les exemples de recherche clinique en matière de thérapie cellulaire font souvent intervenir, dans leur modèle de développement, des sociétés privées au moment d'un passage de la technologie à des échelles plus larges. L'intervention du secteur privé semblant pour l'instant, pour des raisons réglementaires, impossible en France, cette étape du développement clinique semble actuellement compromise dans notre pays.

Essais cliniques utilisant les dérivés des CSEh

Quatre essais cliniques sont sur le point d'être autorisés aux Etats-Unis par la FDA, tous menés par des sociétés pharmaceutiques en collaboration avec des équipes académiques.

Tableau 2 - Essais cliniques envisagés avec les CSEh dans les 5 ans

| Phénotype des cellules thérapeutiques | Maladie | Compagnie/ Laboratoire | Pays |
|--|---------------------------------------|-------------------------------|--|
| Précurseurs d'oligodendrocytes | Traumatisme de la moelle épinière | Géron corporation | Etats-Unis |
| Précurseurs des cellules beta du pancréas (insuline) | Diabète (cellules encapsulées) | Novocell | Etats-Unis |
| Précurseurs de l'épithélium pigmentaire de la rétine | Dégénérescence maculaire liée à l'âge | | Etats-Unis + Royaume-Uni |
| Précurseurs de cardiomyocytes | Insuffisance cardiaque ischémique | Inserm/APHP | France |
| Précurseurs de l'épithélium pigmentaire de la rétine | Stargardt's macular dystrophy (SMD) | Advanced cell Technology | Etats-Unis Phase I/II Muticentrique (FDA approved) |

Un défi : le risque tumoral des cellules pluripotentes

Le risque tumoral est un obstacle majeur à l'utilisation thérapeutique des précurseurs dérivés de CSEh et, à terme, des cellules reprogrammées (iPS). Il est dû à deux écueils :

- le premier écueil concerne la possible contamination au cours de la culture, des suspensions de précurseurs différenciés destinés à l'injection chez le patient, par des cellules indifférenciées pluripotentes potentiellement tumorigènes, cependant, des progrès réalisés permettent actuellement d'obtenir un degré de purification des précurseurs thérapeutiques qui, sans l'éliminer, réduisent considérablement le risque de persistance de cellules indifférenciées. Il est donc essentiel de poursuivre la recherche de marqueurs spécifiques permettant de trier cellules indifférenciées et différenciées et de développer des outils de reconnaissance appropriés ;
- le second écueil est commun à toutes les cellules ayant une capacité de prolifération importante et cultivées *in vitro* (c'est le cas des cellules fœtales, par exemple des neurosphères ou des CSM de cordon) : il concerne l'instabilité génétique conduisant à une prolifération inappropriée des cellules greffées.

Enfin, le risque d'instabilité génétique des iPS, encore mal cerné, devra être rigoureusement analysé.

L'un des déterminants du succès de ces techniques sera la mise au point de tests avant greffe appropriés détectant ce risque (modèles animaux précliniques) et celui, après greffe, de tests sensibles permettant de détecter une émergence tumorale éventuelle.

La compatibilité immunologique

Les problèmes de compatibilité immunologique (risque de rejet du greffon par le système immunitaire du receveur) se posent à partir du moment où le patient est traité à l'aide de cellules autres que les siennes : on parle de situation allogénique. Ce sera le cas de tout traitement éventuel utilisant des cellules différenciées à partir de CSEh, ou des cellules provenant de sang placentaire.

A l'inverse, un greffon provenant du patient lui-même permettra une greffe autologue, qui ne posera pas de problème de compatibilité immunologique. C'est le cas par exemple des autogreffes de moelle osseuse dans certaines indications hématologiques.

Si l'on ne connaît pas bien le degré d'immunogénicité des CSEh et de leurs dérivés, le risque de rejet est réel. Outre une immunosuppression transitoire envisagée dans les essais cliniques prévus, deux possibilités sont explorées à plus long terme : manipuler le système immunitaire (induction de tolérance) et/ou la constitution d'une banque internationale de CSEh couvrant la majorité des compatibilités HLA. Plusieurs articles envisagent également une faible immunogénicité des cellules du cordon ombilical ou de sang placentaire. Si elle semble avérée, il reste à démontrer la pérennité de cet état lorsque, par la suite, les cellules vont se différencier et se mettre à exprimer à leur surface les molécules HLA, responsables des phénomènes de rejet.

La greffe allogénique de cellules souches pourra bénéficier des avancées des recherches en greffe d'organes. Par exemple, des protocoles actuellement testés utilisant des anticorps monoclonaux anti-CD3 ou anti-CD8 semblent induire l'établissement, dans le système immunitaire du receveur, d'une tolérance à l'organe greffé. On peut tout à fait imaginer que ce type de protocole d'établissement de tolérance soit appliqué dans des situations de greffes de cellules souches.

Malgré les difficultés d'ordre technique liées aux problèmes d'immunosuppression, il faut rappeler que la greffe de cellules souches de type allogénique est le seul modèle valable dans le traitement par médecine régénérative de maladies communes ou très communes, comme le diabète, ou même l'insuffisance cardiaque.

En effet, tout traitement à base de greffe autologue implique une manipulation à petite échelle, non standardisée, d'un petit nombre de cellules et donc très coûteuse, qu'il n'est possible d'appliquer, dans un contexte de santé publique, qu'à des pathologies peu représentées (cas actuel des autogreffes dans les hémopathies ou des greffes de peau pour les grands brûlés). Comme l'a souligné l'Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques dès 2006, il est nécessaire 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.

Cellules souches pluripotentes : outils de criblage

Une autre utilité, non négligeable, des cellules souches pluripotentes (cellules souches embryonnaires et iPS) est d'offrir, par leur disponibilité en grand nombre en culture, et par la variété de leurs potentiels, un outil de criblage de petites molécules pharmacologiques. Prenons quelques exemples :

- identification de futurs médicaments stimulant, par exemple, la réparation cardiaque ou pancréatique. On peut facilement insérer dans des cellules souches embryonnaires ou iPS des gènes dont l'expression est facilement détectable lorsque la cellule passe par un état donné de différenciation, précurseur cardiaque par exemple. Cela permet de cribler, à l'aide de robots permettant des travaux à large échelle, des « banques » (collections) de petites molécules chimiques à la recherche de celles qui vont stimuler la différenciation des cellules souches et allumer ces gènes. Ces molécules pourraient ensuite être utilisées sous forme de médicaments susceptibles de stimuler directement *in situ* chez le patient la même fonction à partir de cellules souches endogènes.
- recherche de médicaments corrigeant les conséquences d'une mutation délétère. Les cellules souches embryonnaires seront dérivées d'embryons porteurs de cette mutation (issus d'un diagnostic pré-implantatoire) ou les iPS de patients atteints de la maladie. On identifiera dans ces cellules une anomalie de différenciation reproduisant certains aspects des maladies, et on testera, comme précédemment, des milliers de molécules chimiques à la recherche de celles qui corrigeront cette anomalie.
- utilisation en toxicologie, que ce soit pour analyser les effets toxiques de molécules commerciales à des fins médicales ou cosmétiques, ou que ce soit pour l'analyse de la détoxification de produits (dans ce cas, des hépatocytes seront utilisés).

Des données existent démontrant la faisabilité de ces approches. Mais c'est ici le domaine des firmes privées, interagissant en coopération avec les laboratoires académiques, car cette recherche ne peut être faite que grâce à une technologie de type robotisation. Un tel partenariat existe déjà en France et surtout aux Etats-Unis.

