

Avis sur la constitution de collections de cellules embryonnaires humaines et leur utilisation à des fins thérapeutiques ou scientifiques

N° 53 - 11 mars 1997

Sommaire

[Les collections de cellules embryonnaires humaines](#)

[Recommandations](#)

[A - Constitution de collections de cellules à partir de prélèvements effectués sur des embryons ou foetus morts après leur expulsion](#)

[B- Constitution et utilisation de cellules souches totipotentes humaines à partir de blastocystes](#)

[Observations sur le statut des cellules ES et des embryons conservés in vitro](#)

[Rapport](#)

[Les possibilités de prélèvements embryonnaires](#)

[A\) Les embryons conçus in vitro avant leur transfert in utero](#)

[B\) Les embryons ou foetus morts expulsés après l'implantation](#)

[Les collections de cellules embryonnaires humaines](#)

[Les collections de tissus et organes embryonnaires humains](#)

[Données éthiques et juridiques](#)

Dès le début de son activité le C.C.N.E. a été interrogé sur les problèmes éthiques posés par des programmes de recherches utilisant des prélèvements de tissus d'embryons et de foetus humains morts. Ce fut le sujet du premier avis du Comité du 22 mai 1984. Cet avis a, depuis lors, servi de guide aux programmes de recherches et a été complété par l'avis n° 23 du 13 décembre 1990 concernant les greffes intracérébrales de tissus mésencéphaliques d'embryons humains chez des malades parkinsoniens dans un but d'expérimentation thérapeutique.

La loi n° 94-654 du 29 juillet 1994 relative au don et à l'utilisation des éléments et produits du corps humain, aborde la question des recherches sur l'embryon (article L. 152-8 du code de la Santé Publique). L'interdiction édictée par la loi, sauf les exceptions précisément prévues, protège tout embryon humain vivant. Les recherches sur les embryons conçus *in vitro* et cultivés *ex vivo* sont directement concernées par les dispositions de ce texte. Les recherches sur des embryons ou foetus morts n'ont pas été traitées par la loi.

Le développement de recherches nécessitant des prélèvements embryonnaires humains a conduit à envisager la constitution de collections de cellules embryonnaires humaines ce qui a amené le CCNE à compléter son avis n° 1.

Les collections de cellules embryonnaires humaines

I) - La possibilité de cultiver et de multiplier *ex vivo* des cellules humaines a connu une extension considérable à partir de 1950 à la suite des recherches sur les virus responsables de maladies chez l'homme, certains de ces virus ne se multipliant que sur des cellules humaines. On s'est tourné vers les cellules embryonnaires humaines du fait de leur grand pouvoir prolifératif *ex vivo* permettant, à partir d'un seul embryon, la production de quantités importantes de cellules conservées congelées.

Ces lignées de cellules embryonnaires normales, après un contrôle très rigoureux de leurs caractéristiques, ont été mises à la disposition de l'ensemble de la communauté scientifique par des institutions comme l'O.M.S. et sont utilisées comme systèmes cellulaires pour des diagnostics, pour la préparation de réactifs (antigènes viraux) et surtout comme substrat pour la production industrielle de vaccins contre des maladies virales comme la rubéole et la rage.

Outre ces collections de cellules embryonnaires humaines "normales", il existe aussi de cellules humaines provenant de sujets atteints de maladies génétiques, ou d'embryons après interruption de la grossesse à la suite du diagnostic prénatal de telles maladies. Ces collections de cellules ont permis des recherches importantes sur l'origine et les mécanismes de désordres héréditaires.

Les cellules cultivées sont généralement des fibroblastes, d'autres fois des lymphoblastes, toutes cellules peu différenciées mais faciles à cultiver et de grande longévité. En revanche, les cellules différenciées ont, en général, un pouvoir prolifératif limité et, seules des cultures de courte durée sont possibles.

L'introduction dans les cellules humaines cultivées *ex vivo* d'un gène du virus oncogénique SV40 leur confère un potentiel illimité de divisions. Cela a permis la création de lignées de cellules provenant de certains organes, foie, rein, cartilage... ; certaines de ces lignées sont d'origine embryonnaire et conservent de manière stable quelques caractères de la différenciation spécifique du tissu dont elle dérivent. Ces lignées de cellules différenciées sont d'un grand intérêt pour la recherche en pharmacologie cellulaire, en particulier dans l'industrie où elles peuvent parfois remplacer les modèles animaux. Enfin, certaines de ces cellules en culture sont -et, surtout, pourront être- utilisées à des fins thérapeutiques. Il existe des collections de cellules différenciées constituées par des laboratoires de recherche et, dans certains cas, par des entreprises qui les commercialisent.

Les collections de cellules embryonnaires différenciées peuvent être aussi constituées à partir de cellules cryoconservées en vue d'une utilisation thérapeutique différée. Ce pourrait être envisagé pour les greffes de cellules du système nerveux en vue de leur transplantation.

II) - Des collections d'un autre type de cellules embryonnaires humaines pourraient apparaître prochainement : **les cellules souches**, dont il existe plusieurs catégories :

- **Les cellules souches spécifiques de tissu.** Il s'agit des précurseurs des différentes populations cellulaires constituant un tissu différencié tel que le système hématopoïétique, le système nerveux, les muscles, etc... Ces cellules peuvent, en principe, être utilisées pour tenter de reconstituer un tissu endommagé par une maladie ou une anomalie du développement, mais ne participent d'aucune façon à la constitution de la lignée germinale, c'est-à-dire des gamètes.

- **Les cellules souches embryonnaires**, également appelées cellules ES (*embryonic stem cells*), sont en principe "totipotentes". Ces cellules ont d'abord été établies chez la souris à partir de la masse cellulaire interne d'embryons au stade de blastocyste.

Elles ne sont pas elles-mêmes des "embryons ou des oeufs" en ce qu'elles sont incapables d'avoir par elles-mêmes une évolution coordonnée vers un embryon multicellulaire et un foetus normaux.

Cependant, ces cellules sont totipotentes en ce qu'elles peuvent participer à la formation de tous les tissus lorsqu'elles sont injectées dans un embryon authentique constitué au stade morula ou blastocyste, y compris à la formation de la lignée germinale. Les souris issues de

telles expériences sont des chimères somatiques et germinales, fabriquant notamment des gamètes qui peuvent transmettre, soit le génome des embryons, soit celui des cellules ES.

- Cultivées *ex vivo*, ces lignées de cellules ES peuvent, soit se perpétuer semblables à elles-mêmes, conservant leur totipotence, grâce à des artifices expérimentaux, soit se différencier en cellules précurseurs des différents tissus somatiques, puis en cellules différenciées. Le type de différenciation emprunté peut être contrôlé par les conditions de culture et par différents agents. Dès que les cellules ES ont commencé à se différencier, elles ont perdu leur totipotence et ne peuvent plus contribuer à la constitution de la lignée germinale.

Plus récemment, des lignées de cellules souches embryonnaires ont été établies à partir de la masse cellulaire interne d'un blastocyste de brebis et également d'un singe rhésus. Quoique la "totipotence" de ces cellules ne soit pas encore fermement établie, elles pourraient annoncer la création prochaine de cellules souches embryonnaires humaines dont le champ d'applications potentielles est vaste :

- accroissement des connaissances sur les mécanismes de la différenciation

cellulaire, et de la tumorigénèse

- création de larges quantités de cellules différenciées qui pourraient être utilisées comme greffes pour traiter différentes maladies, par exemple des maladies du sang, du système immunitaire, du système nerveux ou du muscle.

Un tel usage exigerait la constitution de collections de lignées de cellules ES humaines dûment caractérisées (phénotype immunologique, absence d'anomalie chromosomique et de contamination par des agents infectieux, absence de pouvoir transformant).

Les méthodes utilisables en biologie engendrent continuellement de nouveaux outils dont certains, à la fois, recèlent de réelles perspectives thérapeutiques et posent d'importantes questions éthiques.

Ainsi en est-il particulièrement des cellules souches embryonnaires humaines qui, quoiqu'elles n'existent pas encore, pourraient être établies rapidement, mettant les biologistes, les médecins et les autorités sanitaires face à de difficiles problèmes si ceux-ci n'avaient déjà été discutés auparavant.

C'est en ce sens que le CCNE a désiré formuler des recommandations à propos de l'utilisation éventuelle de techniques et de moyens thérapeutiques qui ne sont pas encore au point mais dont tout laisse à penser qu'ils pourraient être disponibles rapidement. L'ampleur des perspectives ouvertes et des questions éthiques soulevées par les cellules souches embryonnaires humaines justifie cette démarche qui amène le CCNE à précéder l'évènement dont il analyse les conséquences éventuelles.

Recommandations

A - Constitution de collections de cellules à partir de prélèvements effectués sur des embryons ou foetus morts après leur expulsion

Le C.C.N.E. recommande :

1) - Les termes de l'avis éthique présenté par le CCNE le 22 mai 1984 sont maintenus.

2) Le protocole de l'étude doit être soumis à l'avis de la Commission Nationale de Médecine et de Biologie de la Reproduction et du Diagnostic Prénatal, par l'équipe de recherches en exposant la finalité cognitive ou médicale et par l'équipe obstétricale exposant les conditions de recueil des prélèvements.

3) - Le consentement de la patiente doit être obtenu après une information orale et écrite dans laquelle est précisée la finalité de la recherche dont le protocole a reçu un avis favorable.

Lorsque l'interruption de la grossesse nécessite une anesthésie générale, il est préférable d'obtenir le consentement avant l'intervention. En effet, l'information ne devrait pas être donnée à une patiente dont les capacités de réflexion risqueraient d'être perturbées.

4) Dans le cas d'une interruption volontaire de grossesse, l'information et le consentement ne peuvent être envisagés qu'après le délai légal de réflexion, pour que la connaissance d'une possible utilisation de l'embryon à des fins scientifiques soit postérieure à la décision de la femme.

5) Les documents écrits du consentement doivent être conservés pendant 30 ans de telle façon qu'une totale confidentialité soit garantie.

B- Constitution et utilisation de cellules souches totipotentes humaines à partir de blastocystes

- De telles cellules souches humaines, équivalentes des cellules ES de souris, n'existent pas encore aujourd'hui, mais plusieurs laboratoires dans le monde, hors de France, travaillent à leur établissement. De ce fait, le C.C.N.E. considère de sa mission de faire d'ores et déjà des recommandations sur les conditions de leur établissement et de leurs utilisations éventuelles.

1) L'article L. 152-8 du code de la Santé Publique interdit aujourd'hui toute recherche sur l'embryon : de ce fait l'établissement de lignées de cellules ES à partir de blastocystes humains obtenus par fécondation *in vitro* et cultivés *ex vivo* n'est pas possible.

Cependant, compte tenu des importantes perspectives dans les recherches thérapeutiques, des dispositions nouvelles prises dans le cadre de la révision de la loi, prévue à l'échéance de l'année 1999 devraient permettre de modifier cette interdiction.

2) Dans ce but, seuls pourraient être utilisés à des fins de recherches les embryons congelés provenant de dons des couples qui, par consentement écrit, ont abandonné leur projet parental et décidé de l'arrêt de la conservation.

3) Cependant toute création de novo d'embryons humains à d'autres fins que la conduite d'un projet parental demeure exclue.

4) Dans le même esprit, le recueil par lavage utérin avant leur implantation, d'embryons conçus *in vivo* en vue d'établir des lignées cellulaires, doit être interdit.

5) Conformément aux recommandations énoncées dans l'avis n° 8 du CCNE du 15 Décembre 1986 relatif aux " recherches et utilisations des embryons humains *in vitro* à des fins médicales" , les dispositions nouvelles devront préciser le champ des recherches possibles et des recherches à proscrire.

L'utilisation des cellules souches embryonnaires humaines devra être limitée :

- à des activités de recherche fondamentale
- ou à des recherches thérapeutiques selon les dispositions en vigueur.

6) Dans ce cadre doivent être interdites les utilisations thérapeutiques risquant de modifier le génome du receveur. Les cellules souches embryonnaires pourraient être utilisées, pour pallier la déficience d'un tissu somatique (par exemple, greffe de cellules précurseurs érythroïdes, nerveuses, musculaires). Ceci dans des conditions telles qu'elles ne pourraient en aucun cas participer à la constitution de la lignée germinale, c'est-à-dire des gamètes de l'homme ou de la femme, et donc pourraient être transmises à leur descendance.

7) Toutes utilisations des cellules ES dans le but de créer plusieurs embryons humains au génome identique, doit être interdite.

- En tout état de cause, ces cellules d'origine humaine ne doivent pas faire l'objet d'un commerce, qu'il s'agisse de la cession de cellules obtenues en France ou de l'utilisation de cellules en provenance d'un autre pays, selon les principes maintes fois réaffirmés par le CCNE (Avis n° 9 du 23 Février 1987) et repris dans la loi du 29 juillet 1994.

Observations sur le statut des cellules ES et des embryons conservés in vitro

Olivier de DINECHIN

Plus encore que le statut ontologique des embryons, le **statut ontologique des cellules ES** humaines apparaît comme énigmatique. Leur **origine** par prélèvement sur un embryon humain les qualifie comme cellules humaines. Leur **totipotence** les différencie des cellules différenciées, et les rapproche de l'embryon. **La nécessité d'une intervention**, et plus précisément d'un rapprochement avec d'autres éléments embryonnaires, pour actualiser cette totipotence, leur donnerait-elle une certaine ressemblance avec des gamètes ?

Quant à leur **statut éthique**, il devrait tenir compte des mêmes deux réalités : leur origine et leur totipotence. Leur origine par prélèvement sur un embryon humain requiert que soit respecté le statut éthique reconnu à cet embryon lors du prélèvement. Leur totipotence requiert que soit respecté le statut éthique à reconnaître à l'embryon qu'elles sont susceptibles de produire.

Pour ces raisons, on peut penser que **leur statut éthique est à établir à un niveau du même ordre que celui des embryons**. C'est dire qu'il est plus exigeant que celui des cellules souches de tissus ou de celui d'autres cellules humaines.

C'est d'ailleurs ce que tendent à exprimer certaines des recommandations adoptées par le CCNE : la recommandation n° 2 demandant l'accord des couples d'où proviennent les embryons de départ ; la recommandation n° 3 évoquant la création " de novo" d'embryons humains (sous-entendu : notamment à partir de telles cellules) ; la recommandation n° 6 limitant les utilisations ; enfin la recommandation n° 5 se référant à l'avis n° 8 du CCNE relatif aux recherches et utilisations des embryons humains in vitro à des fins médicales" .

L'humanité énigmatiquement présente dans un embryon même obtenu et conservé in vitro et dont le transfert pour l'implantation ne peut plus être raisonnablement envisagé me conduit à estimer qu'il existe une différence éthique entre les deux attitudes suivantes à l'égard d'un tel embryon :

l'arrêter la conservation et donc le laisser mourir naturellement ;

l'utiliser à des fins de recherche.

Cette deuxième attitude implique en effet une réduction de l'embryon à un objet, voire à un matériau de recherche.

Les limites proposées par le CCNE pour l'utilisation des embryons in vitro sont indispensables, étant donné la forte demande et les évolutions probables de la demande de recherche, cependant elles ne semblent pas tenir compte de cette différence de façon suffisamment claire.

Rapport

Dès le début de son activité le CCNE a été interrogé sur les problèmes éthiques posés par des programmes de recherches utilisant des prélèvements de tissus d'embryons et de fœtus humains morts. Ce fut le sujet du premier avis du Comité du 22 mai 1984. Les propositions de cet avis ont servi de guide aux programmes de recherches ; elles ont été complétées par l'avis n° 23 du 13 décembre 1990 concernant les greffes intracérébrales de tissus mésencéphaliques d'embryons humains chez des malades parkinsoniens dans un but d'expérimentation thérapeutique.

La loi n° 94-654 du 29 Juillet 1994 relative au don et à l'utilisation des éléments et produits du corps humain, aborde la question des recherches sur l'embryon (article L. 152-8 du code de la santé publique). L'interdiction édictée par la loi, sauf les exceptions précisément prévues, protège tout embryon humain vivant. Les recherches sur les embryons in vitro sont directement concernées par les dispositions de ce texte.

Les recherches sur des embryons ou fœtus morts n'ont pas été abordées par la loi. Les embryons et les fœtus expulsés après l'implantation ne sont pas viables en dehors de l'organisme maternel jusqu'à environ la 24^{ème} semaine de gestation. Pour ces embryons, ou fœtus on doit distinguer la mort de l'organisme dans son entier déterminée par l'interruption de la circulation sanguine consécutive à l'expulsion hors de l'organisme maternel, et l'état des cellules qui peuvent rester viables plusieurs heures. Cette survie cellulaire est une des conditions indispensables pour des recherches à des fins diagnostiques, à visée cognitive ou dans un but thérapeutique.

Le développement des connaissances dans ces domaines a conduit à envisager la constitution de collections de cellules embryonnaires humaines.

Les problèmes éthiques posés par les collections de cellules embryonnaires se distinguent de ceux posés par les collections de tissus et organes embryonnaires :

Dans le cas des collections de cellules, celles-ci restent viables et il est possible soit de les conserver congelées, soit d'établir à partir d'un seul embryon des quantités importantes de cellules cultivées *ex vivo* et conservées congelées, à des fins de recherches et éventuellement des applications thérapeutiques.

Dans le cas des collections de tissus et organes, les techniques de conservation suppriment la viabilité, et il est donc nécessaire d'envisager le recueil de nombreux spécimens embryonnaires qui seraient disponibles seulement pour des recherches à visée cognitive.

Les possibilités de prélèvements embryonnaires

A) Les embryons conçus *in vitro* avant leur transfert *in utero*

Les ovocytes sont fécondés *in vitro* et, par divisions cellulaires successives, les embryons ainsi formés vont évoluer *ex vivo* vers le stade morula (32 cellules) constitué de cellules encore entourées de la membrane pellucide de l'ovocyte, et ensuite au stade blastocyste où se forme une cavité, ces cellules (blastomères) vont alors évoluer vers le trophoblaste (ébauche placentaire) ou vers le bouton embryonnaire constitué de cellules qui progressivement donneront les différents tissus de l'embryon lui-même. Le disque embryonnaire apparaîtra ensuite vers le 14^e jour.

Au cours de cette évolution, on va passer d'un état éphémère de cellules souches totipotentes à une prise progressive de décisions de chacune des cellules vers une différenciation.

Dans la pratique de l'assistance médicale à la procréation, les embryons sont transférés *in utero* du stade de deux à huit cellules (2^eme - 3^eme jour).

La poursuite de leur culture *ex vivo* au-delà du stade de blastocyste ne permet pas le transfert.

B) Les embryons ou fœtus morts expulsés après l'implantation

Ils peuvent provenir soit d'expulsions spontanées, soit d'expulsions provoquées.

1) Les avortements spontanés

On connaît la grande fréquence des arrêts du développement après la fécondation ; seul environ un tiers des oeufs fécondés se développeront jusqu'au terme de la grossesse. La plus grande partie de ces échecs de la reproduction seront éliminés au cours des deux premières semaines après la fécondation, avant ou après l'implantation et seront méconnus. Puis des avortements spontanés surviennent dans environ 25 % des grossesses cliniquement reconnues, en général au cours du premier trimestre de la gestation.

Les recherches à fins diagnostiques sur ces avortements spontanés ont montré que le plus grand nombre de ces avortements résultait d'un arrêt du développement embryonnaire, conséquence d'une anomalie génétique, au premier plan les anomalies chromosomiques. Il faut tenir compte de ces données fondamentales lorsqu'on envisage l'utilisation à fins de recherches des cellules provenant d'avortements spontanés.

Données obstétricales

Il y a, le plus souvent, un délai de quelques semaines entre l'arrêt du développement embryonnaire, donc la mort de l'embryon, et l'expulsion spontanée, ce qui a pour conséquence une lyse des tissus embryonnaires. Il est, en général, préférable pour la femme de laisser s'effectuer le processus naturel d'expulsion spontanée, et de ne procéder à une intervention évacuatrice que lorsque la rétention pourrait nuire à la santé de la femme.

2) Les interruptions de la grossesse

Ce sont les interruptions de grossesses effectuées dans le cadre de la loi du 17 Janvier 1975 (articles L.162-1 à L.162-14 du code de la santé publique) :

- les interruptions volontaires de grossesse avant la douzième semaine gestationnelle. Il

s'agit d'embryons théoriquement normaux. (Par convention internationale le stade de la grossesse est évalué à partir du premier jour des dernières règles, soit environ deux semaines avant la fécondation, la douzième semaine gestationnelle correspondant à un développement embryonnaire de dix semaines.)

- les interruptions médicales de grossesse décidées à la suite de la découverte d'une anomalie que la loi désigne comme une "affection d'une particulière gravité reconnue comme incurable au moment du diagnostic". Ces anomalies sont décelées soit par des examens biologiques réalisés sur des prélèvements in utero de tissus embryonnaires, soit par des examens échographiques. Dans ces cas les embryons ou fœtus sont donc atteints d'anomalies et cette notion doit être retenue s'il est envisagé des recherches à visée cognitive sur leurs cellules. Les interruptions médicales de la grossesse pour une affection grave de la mère sont exceptionnelles et dans ce cas l'embryon peut être normal.

Données obstétricales sur les conditions des interruptions

Les interruptions volontaires de grossesse sont pratiquées soit par des méthodes médicamenteuses (Mifépristone ou RU 486 et prostaglandines) avec une expulsion sans intervention instrumentale (environ un tiers des IVG), soit par aspiration avec anesthésie générale (voir avis n° 10 du CCNE du 16 Décembre 1987).

Lorsqu'il est envisagé l'utilisation de cellules embryonnaires pour une transplantation, la méthode d'aspiration est légèrement modifiée. Au lieu d'une aspiration mécanique rapide dilacérant les tissus, on procède à une aspiration manuelle douce à l'aide d'un cathéter sous contrôle échographique. Cette technique ne modifie pas les conditions et les conséquences de l'interruption pour la femme, mais demande plus de précautions pour l'opérateur afin de maintenir une certaine intégrité de l'embryon.

Les interruptions médicales de grossesse sont pratiquées le plus souvent à un stade de développement ne permettant plus les méthodes utilisées dans les IVG.

Il y a eu une évolution dans les méthodes dans le but d'amoindrir les souffrances de la femme et de préserver son avenir obstétrical. Les méthodes avec préparation médicamenteuse tendent à remplacer les anciennes méthodes. L'existence d'anomalies pathologiques justifiant l'interruption de la grossesse nécessite de faire d'abord des analyses confirmant ou précisant le diagnostic. Un protocole de recherches à visée cognitive sur ces cellules doit en tenir compte.

Critères de mort de l'embryon

La recommandation 1100 de l'Assemblée parlementaire du Conseil de l'Europe distingue :

- les embryons préimplantatoires vivants
- les embryons préimplantatoires morts
- les embryons postimplantatoires ou les fœtus vivants hors de l'utérus
- les embryons ou les fœtus morts

Les critères de définition de la mort retenus pour le prélèvement d'organes sur des cadavres humains (activité cérébrale par électroencéphalogramme) ne sont pas utilisables pour des embryons.

Le document de l'Assemblée parlementaire du Conseil de l'Europe, considère que la mort est déterminée en référence à l'absence de fonctions vitales : respiration spontanée et battements cardiaques qui, en pratique, ne sont pas facilement observables.

Les embryons et les fœtus expulsés après l'implantation ne sont pas viables en dehors de l'organisme maternel jusqu'à 24 semaines environ. C'est pourquoi l'avis n° 1 du CCNE a limité "l'utilisation des tissus foetaux à la vingt-deuxième semaine gestationnelle, soit vingt semaines à compter de la date de la conception". L'avis du CCNE a estimé que l'absence de

fonctions vitales était déterminée par l'interruption de la circulation sanguine qui à ce stade du développement dépend de l'organisme maternel.

Les collections de cellules embryonnaires humaines

I. La possibilité de cultiver et de multiplier *ex vivo* des cellules animales a connu une extension considérable à partir de 1950 à la suite des travaux de John Enders sur le virus de la poliomyélite. Ce sont les recherches sur les virus responsables de maladies chez l'homme qui ont développé les besoins de cellules humaines cultivées *in vitro*, certains de ces virus ne se multipliant que sur des cellules humaines. On s'est tourné vers les cellules embryonnaires humaines du fait de leur grand pouvoir prolifératif *in vitro* permettant la production de quantités importantes de cellules.

Depuis 1960 ont été développées au Wistar Institute de Philadelphie (lignée WI38) puis au Medical Research de Londres (lignée MRC5) des lignées fibroblastiques embryonnaires humaines développées chacune à partir d'un embryon d'IVG.

Les techniques de congélation des cellules permettent des utilisations répétées à partir d'un même stock constitué lors de l'établissement de la lignée cellulaire. Ces lignées cellulaires après un contrôle très rigoureux de leurs caractéristiques ont été mises à la disposition de l'ensemble de la communauté scientifique par des institutions comme l'OMS et sont utilisées comme systèmes cellulaires pour des diagnostics, pour la préparation de réactifs (antigènes viraux) et surtout comme substrat pour la production industrielle de vaccins contre des maladies virales comme la rubéole et la rage.

Outre ces collections de cellules embryonnaires humaines "normales", il existe aussi des collections de cellules humaines provenant de sujets atteints de maladies génétiques, ou d'embryons après interruption de la grossesse à la suite du diagnostic prénatal de ces maladies. Ces collections de cellules ont permis des recherches importantes sur l'origine et les mécanismes des désordres héréditaires. Ces collections sont constituées et gérées par des laboratoires (par exemple le laboratoire de biochimie de l'hôpital Paul Brousse à Lyon) ou par des institutions qui les mettent à la disposition des équipes de recherche en demandant une participation financière couvrant le fonctionnement de ces "banques" (par exemple : Institut Corriell à Camden, NJ).

Toutes ces collections concernent des cellules fibroblastiques, d'autres fois des lymphoblastes qui sont des cellules peu différenciées mais ont une grande longévité *in vitro*.

II. Les cellules différenciées ont, un pouvoir prolifératif limité et, sans artifices, seules des cultures de cellules de courte durée sont possibles. Ce fut le cas, en particulier, des cellules épithéliales rénales qui présentaient un grand intérêt pour des recherches en virologie et demandaient une "collecte" régulière d'embryons et avaient induit un commerce de cellules à partir d'embryons humains sud coréens.

L'introduction dans les cellules humaines cultivées *ex vivo* d'un gène du virus oncogénique SV40 leur confère un potentiel illimité de divisions. Cela a permis la création de lignées de cellules provenant de certains organes, foie, rein, cartilage... ; certaines de ces lignées sont d'origine embryonnaire et conservent de manière stable quelques caractères de la différenciation spécifique du tissu dont elle dérivent. Ces lignées de cellules différenciées sont d'un grand intérêt pour la recherche en pharmacologie cellulaire, en particulier dans l'industrie où elles peuvent parfois remplacer les modèles animaux. Enfin, certaines de ces cellules en culture sont -et, surtout, pourront être- utilisées à des fins thérapeutiques. Il existe des collections de cellules différenciées constituées par des laboratoires de recherche et, dans certains cas, par des entreprises qui les commercialisent.

Les collections de cellules embryonnaires différenciées peuvent être aussi constituées à

partir de cellules cryoconservées en vue d'une utilisation thérapeutique différée. Ce pourrait être envisagé pour les greffes de cellules du système nerveux en vue de leur transplantation.

III. Des collections d'un autre type de cellules embryonnaires humaines pourraient apparaître prochainement : **les cellules souches**, dont il existe plusieurs catégories :

- **Les cellules souches spécifiques de tissu.** Il s'agit des précurseurs des différentes populations cellulaires constituant un tissu différencié tel que le système hématopoïétique, le système nerveux, les muscles, etc... Ces cellules peuvent, en principe, être utilisées pour tenter de reconstituer un tissu endommagé par une maladie ou une anomalie du développement, mais ne participent d'aucune façon à la constitution de la lignée germinale, c'est-à-dire des gamètes.

- **Les cellules souches embryonnaires**, également appelées cellules ES (*embryonic stem cells*), en principe " totipotentes" . Ces cellules au départ ont été établies chez la souris à partir de la masse cellulaire interne d'embryons au stade de blastocytes. Elles ne sont pas elles-mêmes des " embryons ou des oeufs" en ce qu'elles sont incapables d'avoir par elles-mêmes une évolution coordonnée vers un embryon multicellulaire et un fœtus normal. Cependant, ces cellules sont totipotentes en ce qu'elles peuvent participer à la formation de tous les tissus lorsqu'elles sont injectées dans un embryon authentique constitué au stade morula ou blastocyste, y compris à la formation de la lignée germinale. Les souris issues de telles expériences sont des chimères somatiques et germinales, fabriquant notamment des gamètes qui peuvent transmettre, soit le génome des embryons, soit celui des cellules ES.

- Cultivées *ex vivo*, ces lignées de cellules ES peuvent, soit se perpétuer semblables à elles-mêmes, conservant leur totipotence, grâce à des artifices expérimentaux, soit se différencier en cellules précurseurs des différents tissus somatiques, puis en cellules différenciées. Le type de différenciation emprunté peut être contrôlé par les conditions de culture et par différents agents. Dès que les cellules ES ont commencé à se différencier, elles ont perdu leur totipotence et ne peuvent plus contribuer à la constitution de la lignée germinale.

Plus récemment, des lignées de cellules souches embryonnaires ont été établies à partir de la masse cellulaire interne d'un blastocyste de brebis et également d'un singe rhésus. Quoique la " totipotence" de ces cellules ne soit pas encore fermement établie, elles pourraient annoncer la création prochaine de cellules souches embryonnaires humaines dont le champ d'applications potentielles est vaste :

- accroissement des connaissances sur les mécanismes de la différenciation cellulaire ou de la tumorigénèse

- création de larges quantités de cellules différenciées qui pourraient être utilisées comme greffes pour traiter différentes maladies, par exemple des maladies du sang, du système immunitaire, du système nerveux ou du muscle.

Un tel usage exigerait la constitution de collections de lignées de cellules ES humaines dûment caractérisées (phénotype immunologique, absence d'anomalie chromosomique et de contamination par des agents infectieux, absence de pouvoir transformant)

Il faut aussi signaler des applications qui soulèveraient à l'évidence d'importants problèmes éthiques :

transfert des noyaux de ces cellules dans des ovocytes énucléés ouvrant une possibilité de clonage (déjà réalisé chez des mammifères domestiques)

injection de ces cellules, génétiquement modifiées ou non, à des blastocystes humains afin de créer des chimères humaines et donc la possibilité de transmettre le génome de ces cellules souches.

L'importance que pourrait revêtir le domaine de l'utilisation thérapeutique de cellules souches embryonnaires humaines et leur possible exploitation commerciale exigent que la réflexion se développe à ce propos.

Les collections de tissus et organes embryonnaires humains

Les recherches dans le domaine de l'embryogenèse et du développement sont importantes. Les modèles animaux, de la drosophile à la souris en passant par l'oeuf embryonnaire de poule ou de caille, ont apporté d'énormes progrès dans les données fondamentales. Il est alors souhaitable de confirmer ces données pour l'homme et donc de disposer d'éléments embryonnaires humains.

Les conditions de conservation des tissus et organes embryonnaires demandent la fixation ou la congélation des prélèvements en supprimant la viabilité et ne permettent que des recherches à visée cognitive.

Dans les premières années de ce siècle la Carnégie Institution de Washington avait constitué une collection d'embryons provenant d'avortements. C'est l'analyse de ces pièces fixées qui a permis la description des premiers stades du développement humain publiée en 1916, cette publication ayant servi de base aux ouvrages d'embryologie. En 1920, à partir de cette même collection, était publiée une description des anomalies du développement embryonnaire mettant en évidence le rôle primordial de ces anomalies à l'origine des avortements spontanés.

L'administration américaine a organisé il y a quelques années la création de grandes banques de tissus provenant de prélèvements effectués après les avortements spontanés pour éviter les polémiques sur les interruptions de la grossesse. Malgré les mises en garde des scientifiques sur le caractère irréaliste de ce programme du fait du grand nombre d'anomalies génétiques responsables des arrêts précoces du développement, le programme a été lancé. Après deux années il a été abandonné car moins de 1% des prélèvements pouvaient être utilisés pour des recherches.

Plus récemment, en septembre 1994 un document du NIH préparé par un groupe de travail, Human embryo research panel, a proposé différentes possibilités de recherches sur l'embryon humain. La Chambre des Représentants a rejeté le 4 Août 1995 les conclusions de ce rapport et interdit toutes les recherches sur les embryons humains faites avec des fonds fédéraux. Il n'y a aucunes recommandations scientifiques et éthiques sur les recherches subventionnées par des fonds privés.

En France il faut distinguer deux situations

A - Les recherches à des fins diagnostiques, réalisées après l'interruption de la grossesse consécutive à la mise en évidence d'une anomalie particulièrement grave de l'embryon (ou fœtus).

Ces examen diagnostique est indispensable et ses modalités seront envisagées dans le décret d'application relatif aux centres pluridisciplinaire de diagnostic prénatal (article 162-16 de la loi 94-654). La plupart des pathologies responsables des anomalies du développement embryonnaire sont rares et leur examen est confié à des laboratoires très spécialisés qui peuvent constituer de petites collections des prélèvements en vue d'étendre les recheches dans ces domaines soit dans leur propre laboratoire soit en association avec d'autres équipes.

Les collections de tissus ou organes d'embryons humains pathologiques ne présentent pas de problèmes éthiques particuliers et leur utilisation suit les recommandations de l'avis n° 1 du CCNE.

B - Les recherches à visée cognitive sur des tissus ou organes d'embryons normaux

Les conditions dans lesquelles sont entreprises ces recherches ont suivi en général, les recommandations de l'avis n° 1 du CCNE, en l'absence d'autres documents législatifs ou réglementaires.

Ces recherches ont été poursuivies au cours des dernières années avec des protocoles présentés par des équipes de recherches et par des équipes médicales informées de la finalité du programme de recherches.

Dans quelques cas des équipes de recherches se sont associées pour étudier des tissus et organes embryonnaires qui n'étaient pas utilisés dans le cadre d'un premier protocole de recherches présenté par l'équipe scientifique et obstétricale. L'intérêt scientifique d'un nouveau protocole utilisant ces prélèvements devrait être soumis également à des instances scientifiques.

Il a été proposé de constituer des collections de tissus et organes embryonnaires à partir du recueil systématique et sans projet défini de recherches, d'embryons normaux morts provenant d'interruptions volontaires de la grossesse, en vue de mettre les tissus ou organes ainsi obtenus à la disposition d'équipes de recherche.

Des tissus et organes normaux ne peuvent provenir que d'embryons après interruptions volontaires de la grossesse dans le cadre de la loi (articles 162-1 à 162-14 du Code de la santé publique).

En outre sur le plan de la pratique médicale

- le recueil des embryons nécessiterait
- Une collaboration régulière du personnel hospitalier en charge des IVG en lui demandant des modifications plus contraignantes des techniques, pour une finalité non définie.
- Une présence régulière, à côté de l'équipe médicale, d'équipes techniques compétentes pour sélectionner, conditionner et conserver les prélèvements dans des conditions assurant la qualité en vue de diverses méthodes d'analyse utilisées en recherche.
- Le CCNE dans son avis n° 1 avait insisté sur le caractère exceptionnel des utilisations des embryons : " Le caractère exceptionnel s'impose, afin d'éviter que l'utilisation ne constitue une pression en faveur d'avortements massifs et ne devienne une technique de routine généralisée".

Données éthiques et juridiques

I. Pour les cellules embryonnaires prélevées sur des embryons ou fœtus morts, leur prélèvement doit suivre les recommandations de l'avis n°1 du CCNE.

"la décision et les conditions (date, techniques, etc.) de l'interruption de grossesse ne doivent en aucun cas être influencées par l'utilisation ultérieure possible ou souhaitée de l'embryon ou du fœtus. La technique d'expulsion doit être choisie sur des critères exclusivement obstétricaux en veillant à préserver l'avenir obstétrical de la femme.

une totale indépendance doit être établie et garantie, sous le contrôle d'une instance d'éthique, entre l'équipe médicale qui procède à l'IVG et l'équipe susceptible d'utiliser les embryons ou les fœtus."

"Aux fins susénoncées, seuls peuvent être utilisés les embryons ou fœtus n'ayant pas atteint le seuil de la viabilité et dont la mort a été préalablement constatée."

Information et consentement

Dans son avis n°1 le CCNE avait proposé "une règle souple dont la mise en oeuvre dépendra des circonstances de l'interruption de la grossesse", "il paraît souhaitable de réserver à la mère un droit de veto, mais non d'exiger dans tous les cas son consentement".

Dans ce présent rapport le CCNE considère :

L'interruption d'une grossesse est un acte grave, traumatisant physiquement et psychologiquement pour la femme. L'information et le consentement concernant une utilisation éventuelle de cellules embryonnaires doit tenir compte de cette situation.

Cette information orale et écrite doit préciser la finalité des recherches dont le protocole a reçu l'avis favorable d'un comité d'éthique.

Dans le cas d'une interruption volontaire de la grossesse, l'information et le consentement ne peuvent être envisagés qu'après le délai légal de réflexion, pour que la connaissance d'une possible utilisation de l'embryon à des fins scientifiques soit postérieure à la décision de la femme.

Lorsque l'interruption de la grossesse ne nécessite pas d'anesthésie générale le consentement peut être obtenu après l'expulsion.

Lorsque l'interruption de la grossesse nécessite une anesthésie générale, il est préférable d'obtenir le consentement avant l'intervention, car après, l'information serait donnée à une patiente dont les capacités de réflexion risquent d'être réduites et perturbées.

Il faut, dans tous les cas, assurer une totale confidentialité, et les documents du consentement écrit doivent être conservés hors du dossier médical.

L'information orale sera accompagnée d'un document écrit précisant :

- 1) que l'utilisation des prélèvements n'est qu'une éventualité. En effet il n'est pas possible de prévoir l'état des cellules après l'expulsion et donc si elles peuvent être utilisées.
- 2) L'objectif du programme de recherches et son approbation par un comité d'éthique.
- 3) Les règles de confidentialité.

II. Pour les cellules souches totipotentes qui sont des cellules des premiers stades blastomériques de l'embryon *in vitro*, dans sa formulation actuelle, la loi exclut l'obtention de ces cellules.

L'article L. 152-8 du code de la santé publique précise :

" La conception *in vitro* d'embryons humains à des fins d'étude, de recherche ou d'expérimentation est interdite.

"Toute expérimentation sur l'embryon est interdite.

"A titre exceptionnel, l'homme et la femme formant le couple peuvent accepter que soient menées des études sur leur embryons.

"Leur décision est exprimée par écrit.

"Ces études doivent avoir une finalité médicale et ne peuvent porter atteinte à l'embryon.

"Elles ne peuvent être entreprises qu'après avis conforme de la commission mentionnée à l'article L. 184-3 ci-dessous dans des conditions définies par décret en Conseil d'Etat.

"La commission rend publique chaque année la liste des établissements où s'effectuent ces études, ainsi que leur objet."

Les prélèvements de cellules en vue d'établir une collection constitueraient une atteinte à l'embryon et ne sont pas envisageables en application de ce texte.

Bien que l'utilisation des cellules et tissus embryonnaires ne soit pas envisagée dans les lois n° 94-653 relative au respect du corps humain, n° 94-654 relative au don et à l'utilisation des éléments et produits du corps humain et n° 96-452 (Titre IV, Des produits de thérapies génique et cellulaires), certaines dispositions insérées par ces textes dans le code civil, le code de la santé publique et le code de la propriété intellectuelle, pourraient être appliquées, aux collections de cellules embryonnaires constituées dans un but de recherche ou thérapeutique (greffe de cellules par exemple).

Ces dispositions concernent :

1) Le principe de non patrimonialité

- art. 16-1 du code civil : "Le corps humain, ses éléments et ses produits ne peuvent faire l'objet d'un droit patrimonial"

- art. 16-5 du code civil : "Les conventions ayant pour effet de conférer une valeur patrimoniale au corps humain, à ses éléments ou à ses produits sont nulles"

- art. 16-6 du code civil : "Aucune rémunération ne peut être allouée à celui qui se prête à une expérimentation sur sa personne, au prélèvement d'éléments de son corps ou à la collecte de produits de celui-ci"

2) La non brevetabilité

- art. L. 611-17 du code de la propriété intellectuelle: "Le corps humain, ses éléments et ses produits ainsi que la connaissance de la structure totale ou partielle d'un gène humain ne peuvent, en tant que tels, faire l'objet de brevet"

3) L'anonymat

- art. 16-8 du code civil et L. 665-14 du code de la santé publique: "Aucune information permettant d'identifier à la fois celui qui a fait don d'un élément ou d'un produit de son corps et celui qui l'a reçu ne peut être divulguée. Il ne peut être dérogé à ce principe d'anonymat qu'en cas de nécessité thérapeutique. "

4) Le consentement

- art. L.665-11 du code de la santé publique : "Le prélèvement d'éléments du corps humain et la collecte de ses produits ne peuvent être pratiquées sans le consentement préalable du donneur. Ce consentement est révocable à tout moment."

5) Les règles de sécurité sanitaire

- art. L. 665-15 du code de la santé publique

6) Les règles concernant la conservation, la transformation, l'utilisation, la distribution et la cession des tissus et cellules

- art. L. 672-10, L. 672-11 et L.672-12 du code de la santé publique.

L'article L. 672-11 est abrogé par la loi 96-452 du 28 Mai 1996 qui redéfinit le statut des produits des thérapies génique et cellulaire.

Dans tous les cas l'article L. 145-16-1 de cette loi régit " les prélèvements ayant pour fin de constituer une collection d'échantillons biologiques humains" . " Le terme : " collection" désigne la réunion, à des fins des recherches génétiques, de prélèvements biologiques effectués sur un groupe de personnes identifiées et sélectionnées en fonction des caractéristiques cliniques ou biologiques d'un ou plusieurs membres du groupe, ainsi que des dérivés de ces prélèvements."

Les collections de cellules embryonnaires entrent-elles dans le cadre de cette loi ?

L'application de tous ces textes aux collections de cellules embryonnaires n'est pas simple et il faut aussi tenir compte des questions éthiques soulevées par les possibilités d'établir des lignées de cellules souches embryonnaires humaines.

Toute recherche sur la constitution de ces lignées cellulaires est impossible dans le cadre de l'article L. 158-8 du code de la santé publique puisqu'il faut obtenir des cellules d'un blastocyste éventuellement maintenu en culture *ex vivo* au delà de la période de l'implantation.

Les équipes de recherche qui désirent travailler dans ce domaine particulièrement important sur le plan des connaissances et d'éventuelles utilisations thérapeutiques, pourraient obtenir ces lignées cellulaires de " collections" étrangères, dont certaines seront commerciales.

Les cellules embryonnaires humaines entrent-elles dans le cadre du décret 96-327 du 16 Avril 1996 complété par son arrêté d'application de la même date publié au JO du 18 Avril 1996 et dont les règles sont applicables depuis le 19 Avril 1996 ?

Ce nouveau texte sur les activités d'importation et d'exportation d'organes, de tissus et de cellules du corps humain impose les principes suivants :

1) Le consentement et l'anonymat du donneur.

Est admise la possibilité d'établir des documents sous la forme non nominative, capables de faciliter la détermination du donneur du produit, à des fins de sécurité sanitaire.

2) La gratuité des dons.

3) L'exercice des opérations d'importation ou d'exportation de tissus ou de cellules à des fins scientifiques est soumis à des autorisations délivrées par le ministre chargé de la santé.

Comme ce décret n'a pas envisagé les cellules embryonnaires humaines, un point éthique important est la constitution d'embryons *in vitro* dans le seul but de créer des lignées cellulaires destinées à des collections, commerciales ou non.

On se dirige vers des situations paradoxales résultant de la loi :

- interdiction des recherches portant atteinte à l'embryon *in vitro* et donc pouvant le détruire, mais possibilité de destruction après conservation au-delà de cinq ans.

- interdiction d'expérimentation ou de recherches thérapeutiques à partir de cellules totipotentes provenant d'embryons *in vitro*, mais possibilité d'importation de cellules de collections constituées sans respect de règles éthiques spécifiques des cellules embryonnaires.