

**L**ES CELLULES SOUCHES embryonnaires humaines sont un excellent exemple de sujet d'actualité. Elles pourraient tenir leurs promesses sur le plan thérapeutique, mais elles comportent aussi des risques sur le plan médical et social. Elles font la une depuis l'automne 98, moment où l'on avait annoncé qu'elles avaient été produites en lignées cellulaires, qu'elles maintenaient *in vitro* leur potentiel de différenciation, et qu'elles pouvaient se différencier sous l'influence de facteurs de croissance en de nombreux phénotypes cellulaires et tissulaires<sup>1</sup>. Comme ces cellules d'origine embryonnaire maintiennent leur état totipotent en culture et que, en principe, elles peuvent se différencier pour se transformer en n'importe quel type de tissu et d'organe qu'on retrouve dans le corps humain, on a convenu, dès le départ, qu'on pourrait les utiliser pour traiter les maladies dégénératives et, en particulier, celles liées au vieillissement.

Plusieurs pays, dont le Canada, s'apprêtent à réglementer par des lignes directrices déontologiques ou par des lois la recherche et le développement de ce secteur d'activités scientifiques et industrielles. Au Canada, cette réglementation nous viendra des Instituts canadiens de recherche en santé (ICRS) ([http://www.cihr.ca/about\\_cihr/ethics/ethics\\_menu\\_f.shtm](http://www.cihr.ca/about_cihr/ethics/ethics_menu_f.shtm)), voir sous « Initiatives courantes » et « Recherche sur les cellules souches

*M. Raymond D. Lambert, M.Sc., D.Sc., est professeur titulaire au département d'obstétrique et de gynécologie de l'Université Laval et chercheur au Centre de recherche en biologie de la reproduction (CRBR) ainsi qu'à l'Unité de recherche en ontogénie et reproduction du Centre de recherche du CHUL (CHUQ).*

## Des cellules fontaines de Jouvence ?\*

par Raymond D. Lambert

### Encadré

#### Demande « anonymisée » reçue à l'automne 2000

« Monsieur le Professeur, j'ai pris connaissance de vos recherches sur les cellules souches embryonnaires par un article de la revue *Québec Sciences* diffusé dans Internet. Cet article nous a beaucoup intéressés, ma femme et moi, parce que nous avons deux enfants de 13 et de 10 ans qui souffrent du diabète de type 1 depuis l'âge de deux et de quatre ans. Comme ni ma femme ni moi-même n'avons d'antécédents de diabète, il s'agit, sans doute, d'une mauvaise combinaison génétique entre nous. J'aimerais donc vous poser les questions suivantes :

- A-t-on déjà réussi à produire des cellules de pancréas par cette méthode ?
- Peut-on envisager de prendre une cellule de la joue, par exemple, de la faire régresser puis de la transformer en cellule pancréatique afin d'éviter les problèmes de rejet ?
- Dans quel délai pense-t-on expérimenter ces méthodes sur de véritables patients ?

Je dois vous avouer que cet article a suscité en nous de grands espoirs et nous serions prêts à faire traiter nos enfants dans votre pays, si c'était nécessaire et si une telle intervention pouvait se faire plus rapidement. »

humaines : la santé dans un cadre éthique ») et, s'il est adopté, du projet de loi sur l'assistance médicale à la procréation ([http://www.hc-sc.gc.ca/francais/procreation/projet\\_loi.pdf](http://www.hc-sc.gc.ca/francais/procreation/projet_loi.pdf)). Reçu au début de l'automne 2000, le courriel présenté dans l'*encadré* illustre bien l'espoir qu'on fonde dans les cellules souches embryonnaires humaines en lignées cellulaires.

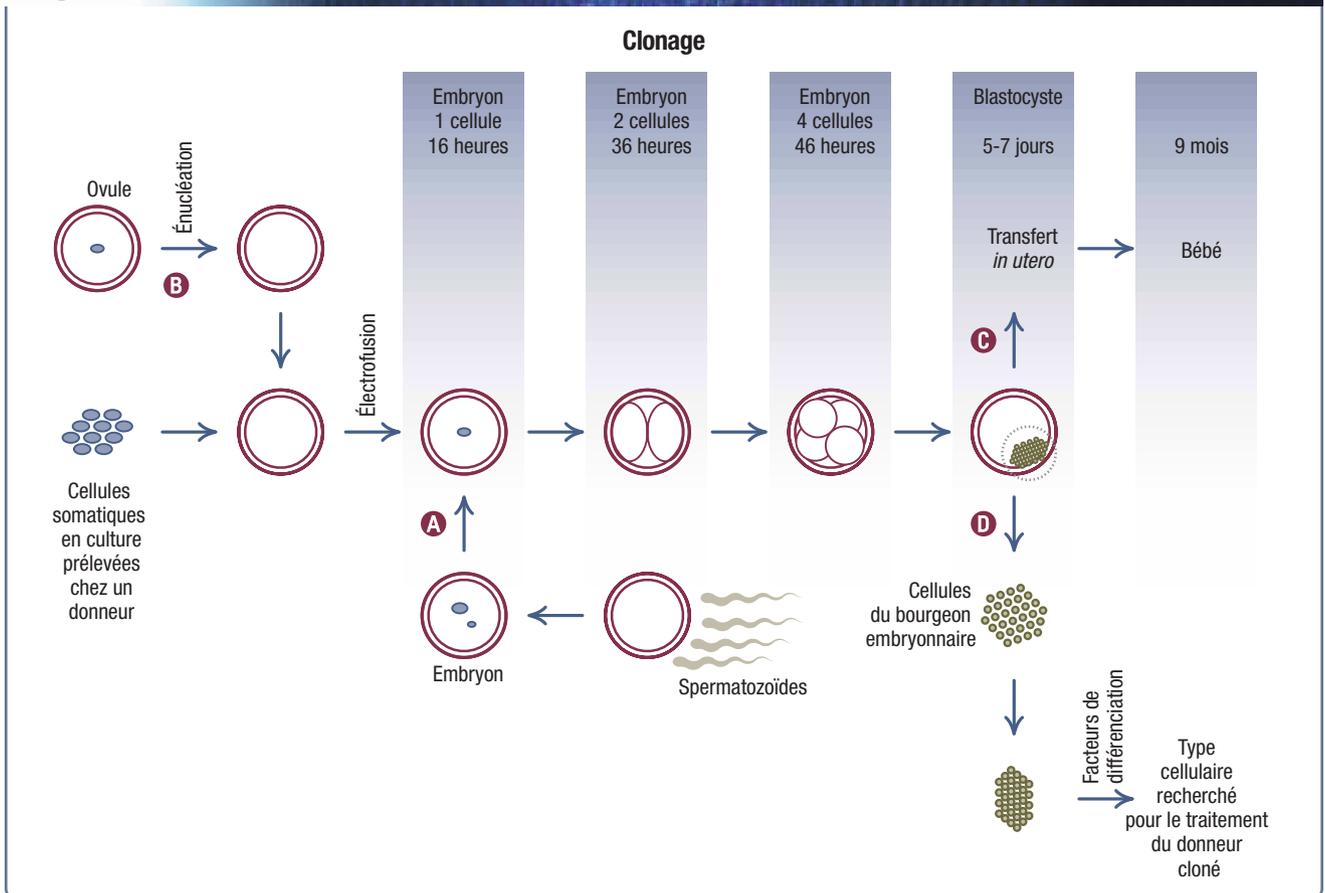
### Des résultats préliminaires convaincants, mais aussi des incertitudes

On connaît depuis longtemps le potentiel thérapeutique des cellules souches embryonnaires ou fœtales<sup>2</sup>. Par exemple, des lésions cardiaques expérimentales ont pu être traitées par injection de cardiomyocytes fœtaux<sup>3</sup>. Par ailleurs, dans un modèle

animal simulant la maladie héréditaire de Pelizaeus-Merzbacher, provoquée, chez l'homme, par une déficience en myéline, le traitement par des cellules souches embryonnaires a été couronné de succès<sup>4</sup>. Les rats porteurs de cette anomalie succombent pendant la quatrième semaine de vie. Cultivées *in vitro* en présence de facteurs de croissance et de différenciation appropriés, les cellules souches se sont différenciées en précurseurs d'oligodendrocytes et d'astrocytes. Deux semaines après la transplantation de ces précurseurs dérivés de cellules souches embryonnaires, on a observé la formation de couches de myéline chez

\* Certaines des idées développées dans cet article ont été présentées au cours d'une conférence donnée à l'occasion du 5<sup>e</sup> Colloque annuel de l'IRCM, tenu en mars 2001, intitulé « L'éthique et le clonage thérapeutique des cellules souches. Regard sur le destin de l'embryon humain ».

Figure 1



six des neuf animaux traités. Dans le même ordre d'idées, des cellules nerveuses immatures, dérivées de cellules souches embryonnaires, ont pu corriger partiellement une paralysie provoquée par le sectionnement de la moelle épinière<sup>5</sup>.

Mais ce genre d'interventions soulève aussi des inquiétudes car, chez la souris, les cellules souches embryonnaires peuvent parfois engendrer des tumeurs. De plus, puisqu'elles ont été moins étudiées, les cellules souches embryonnaires humaines sont beaucoup moins bien caractérisées que les cellules prélevées sur des embryons de souris. On sait aussi que les cellules d'origine humaine prolifèrent moins vite et persistent moins longtemps en

culture que les cellules de souris.

### La technique

Les embryons utilisés en 1998 pour la production de cellules souches (voir la figure 1, A) provenaient de programmes de fécondation *in vitro*. Il s'agissait d'embryons surnuméraires, c'est-à-dire d'embryons dont on ne voulait plus. Plutôt que de les transplanter dans l'utérus maternel (figure 1, C), on les a laissés se développer *in vitro* jusqu'au stade de blastocystes. On les a alors disséqués pour isoler les cellules du bourgeon embryonnaire afin de les cultiver *in vitro* et de les maintenir dans un état indifférencié (figure 1, D). Lorsqu'on a pu obtenir suffisam-

ment de cellules totipotentes, on a ajouté au milieu de culture des facteurs de différenciation pour provoquer la différenciation souhaitée. L'importance de cette percée technologique sur le plan médical et financier a été reconnue par la revue *Science*, qui lui attribuait, en 1999, la mention « *breakthrough of the year* » (percée de l'année)<sup>6</sup>.

Mais ces cellules, malgré leur origine embryonnaire, sont reconnues par le système immunitaire de l'hôte, qui les rejette. Ainsi, les cellules souches fœtales immuno-incompatibles greffées sur des animaux sont rejetées, alors qu'on n'a pas noté de signes de rejet chez la majorité des animaux ayant reçu des cellules souches com-

patibles<sup>3</sup>. Ces réactions de rejet constituent donc un obstacle biologique majeur à l'application de cette nouvelle biotechnologie, d'où l'idée du clonage thérapeutique (*figure 1, B*). En effet, quoi de plus simple, en théorie, que de cloner les cellules d'un être humain pour en faire des cellules totipotentes du soi immunitaire, qui deviendraient alors, en puissance, un formidable outil thérapeutique personnalisé?

Ce scénario, s'il connaît son aboutissement, se réalisera ainsi (*figure 1, B*): le noyau provenant d'une cellule humaine sera introduit dans un ovule énucléé. Après développement *in vitro* pendant quelques jours, les cellules du bourgeon embryonnaire seront isolées et mises en culture pour engendrer des cellules souches embryonnaires identiques à celles du patient en question. La technique est essentiellement la même que celle qui a été utilisée pour engendrer Dolly, le premier clone d'un mammifère adulte, à la seule différence qu'au lieu d'implanter l'embryon ainsi obtenu dans l'utérus, on effectuera une dissection et on récupérera des cellules du bourgeon embryonnaire, ou cellules souches embryonnaires. La possibilité d'utiliser cette méthode a été partiellement démontrée<sup>7</sup>.

### Quelques considérations éthiques

Les premières lignées de cellules souches embryonnaires humaines ont été obtenues par dissection d'embryons surnuméraires fécondés *in vitro*. En règle générale, après que le projet parental a été mené à terme, on demande, dans la majorité des cas, aux couples qui participent à des programmes de fécondation *in vitro* (FIV) d'opter pour la destruction des

embryons congelés ou d'en faire don à des couples stériles ou à la recherche. La recherche sur l'embryon humain est en effet autorisée sous certaines conditions (voir à ce sujet l'« Énoncé de politique des trois Conseils sur l'éthique de la recherche avec des êtres humains », chapitre 9)<sup>8</sup>.

Le clonage thérapeutique visant la production de cellules souches embryonnaires du soi immunitaire implique la création d'embryons humains explicitement à des fins thérapeutiques. Le prix à payer pour l'élaboration de cette méthode thérapeutique prometteuse est donc la réduction du statut de l'embryon humain à celui d'un objet banal, d'un simple moyen. Pour plusieurs de nos concitoyens, l'embryon humain a une valeur supérieure et mérite un profond respect.

Nous voilà donc face à un dilemme: d'une part, entreprendre un clonage à visée thérapeutique et faire ainsi une « faute » éthique et, d'autre part, ne pas le faire et porter préjudice à des personnes malades. Les avantages thérapeutiques qui pourraient découler d'un tel clonage sont considérables. Il serait donc très tentant de l'accepter et de l'intégrer dans notre arsenal thérapeutique. Mais, comme la création d'embryons humains explicitement à des fins thérapeutiques heurte les valeurs morales d'un grand nombre de personnes, il faut envisager des solutions de rechange plus acceptables sur le plan éthique.

Par conséquent, il nous semble qu'il est de notre devoir de scientifiques de proposer de telles solutions de rechange qui n'ébranlent pas nos concitoyens. Ne faudrait-il pas, par respect pour la valeur que certains accordent à l'embryon humain en dehors d'un projet parental, que les partisans du clonage thérapeutique examinent

toutes les solutions de rechange acceptables? Le respect de la personne doit, à notre sens, aller jusque-là.

### Les solutions de rechange

#### Les cellules souches adultes

Les cellules souches qu'on trouve dans les tissus adultes ont un potentiel de différenciation beaucoup plus grand que celui qu'on avait anticipé. Elles sont retenues dans les organes et les tissus durant toute la vie et elles semblent contribuer à la régénération et à la réparation. Les cellules souches mésenchymateuses de la moelle osseuse, par exemple, ont la particularité de pouvoir se différencier et donner naissance à divers types de cellules, dont les cellules osseuses, cartilagineuses, adipeuses, musculaires, etc.<sup>9,10</sup> À la grande surprise des chercheurs, même des cellules neurales ont un large éventail de possibilités de différenciation<sup>11-13</sup>. À cet égard, une revue des applications cliniques des cellules souches adultes a été publiée récemment<sup>14</sup>.

Au Canada, un grand nombre d'équipes travaillent sur des cellules souches hématopoïétiques et tentent d'en orienter la différenciation pour les transformer en cellules cérébrales destinées au traitement de la maladie de Parkinson ou de Huntington, en myocardiocytes destinés au traitement de certaines maladies cardiaques, ou en cellules musculaires destinées au traitement de la dystrophie musculaire<sup>15</sup>. Dans ce cas, les cellules souches d'un tissu ou d'un organe humain sont isolées, maintenues en culture, puis utilisées en clinique. Le principal avantage d'un tel procédé est la tolérance de l'organisme humain pour ces cellules transplantées

(du fait qu'il s'agit de cellules du soi immunitaire), mais son principal désavantage est le temps nécessaire pour en obtenir un nombre suffisant.

### Les cellules souches ombilicales

Au moment de l'accouchement, on isole des cellules souches du cordon ombilical et on les met en culture jusqu'à ce qu'on obtienne un nombre suffisant. Ces cellules sont ensuite congelées et conservées jusqu'à ce qu'un accident ou une maladie dégénérative survienne, des années ou des décennies plus tard. À ce moment-là, ces cellules histocompatibles seront remises en culture, amenées à se différencier pour obtenir le type cellulaire souhaité, et utilisées pour traiter l'organe atteint.

Un exemple récent a clairement montré le potentiel thérapeutique des cellules souches ombilicales. Afin de traiter sa fille souffrant d'une maladie immunologique mortelle, un couple a décidé de recourir à la FIV, de demander un diagnostic avant implantation et, si le résultat était positif, de faire implanter un embryon sain histocompatible dans l'utérus de la mère. Ce couple a pu trouver un programme FIV qui a acquiescé à sa demande. La stratégie a porté ses fruits, puisque, à l'accouchement, on a pu prélever des cellules ombilicales qu'on a cultivées *in vitro* et, environ un mois plus tard, on a pu les utiliser pour traiter la sœur aînée.

### Reprogrammation dans un ovule animal

Plutôt que de se servir d'ovules humains, on pourrait utiliser des ovules animaux. Une telle approche a été couronnée de succès lors d'une tentative visant la sauvegarde d'une espèce en

voie d'extinction<sup>7</sup>. Des embryons ont également été obtenus par implantation de noyaux cellulaires xénogéniques dans des ovules de vaches<sup>16</sup>. Mais, à l'heure actuelle, l'implantation de cellules somatiques dans des ovules animaux ou humains est interdite dans plusieurs pays<sup>8,17</sup>.

### Reprogrammation *in vitro*

Un jour prochain nous connaissons les mécanismes et les facteurs en cause dans la reprogrammation cellulaire. Ce jour-là, par simple incubation *in vitro*, il sera possible de ramener une cellule différenciée à son état indifférencié et totipotent, ce qui permettra d'éviter la création d'embryons.

### Les cellules souches universelles

Le grand défaut des méthodes que nous avons décrites ci-dessus vient de l'obligation de produire des cellules souches personnalisées, ce qui rendra le traitement inabordable pour bien des gens et trop cher pour les organismes publics. Une solution serait de créer des cellules totipotentes universelles qui pourraient être utilisées chez n'importe quel patient sans provoquer une réaction de rejet. Une telle méthode tient, pour le moment, de la science-fiction. Mais, déjà, des laboratoires de biotechnologie travaillent sur un tel scénario.

### Les perspectives de réglementation au Canada

La recherche sur des êtres humains, du moins celle qui est subventionnée par les organismes publics, est régie par une série de règlements déontologiques et juridiques auxquels nous avons déjà fait référence. Au chapitre 9 de l'Énoncé de politique des trois

Conseils précité<sup>8</sup> (voir <http://www.nserc.ca/programs/ethics/francais/policy.htm>), on traite de la recherche sur des gamètes, des embryons et des fœtus. Un examen attentif de cette réglementation nous permet d'affirmer que l'utilisation expérimentale d'embryons humains surnuméraires, c'est-à-dire ceux qui restent une fois le projet parental mené à terme, pourrait être autorisée sous certaines conditions. En effet, la règle 9.4 stipule que : *du point de vue éthique, il est inacceptable de créer des embryons humains uniquement à des fins de recherche. Cependant, la recherche sur ces embryons peut être acceptable sur le plan éthique lorsque des embryons humains créés à des fins de reproduction ne seront plus utilisés par la suite à cette fin, à condition toutefois que tous les critères suivants soient respectés :*

- a) les ovules et les spermatozoïdes dont les embryons sont issus ont été obtenus conformément aux règles 9.1 et 9.2;
- b) la recherche n'entraîne aucune modification génétique des gamètes ou des embryons;
- c) les embryons ayant fait l'objet de manipulations indirectement reliées à leur croissance normale ne seront pas implantés dans le but de produire une grossesse;
- d) la recherche sur des embryons humains ne sera menée que pendant les 14 jours suivant leur création par combinaison de gamètes.

Une interprétation logique de cette règle nous permet d'avancer le postulat suivant : s'il est éthiquement acceptable d'utiliser les embryons surnuméraires à des fins expérimentales, il serait tout aussi acceptable de les utiliser pour la production de cellules souches, si l'on obtient au préalable le consentement éclairé des personnes donnant les embryons (règle 9.1), et si ces embryons ne font pas ultérieu-

rement l'objet d'une transaction commerciale (règle 9.2). Cette prise de position s'apparente d'ailleurs à celle qu'a adoptée la Société canadienne de fertilité et d'andrologie.

En suivant le même raisonnement, nous pouvons avancer que si la création d'embryons humains explicitement à des fins de recherche est interdite (règle 9.4), leur création à des fins thérapeutiques le sera aussi. Cette interdiction nous semblerait d'autant plus fondée que la création d'embryons humains par des méthodes de clonage est interdite. La règle 9.3 de l'énoncé de politique inter-conseils stipule en effet clairement que :

*du point de vue éthique, il est inacceptable de créer ou de vouloir créer des espèces hybrides par le biais de méthodes telles que la combinaison de gamètes humains et animaux ou le transfert de noyaux cellulaires germinaux ou somatiques de cellules provenant d'êtres humains et d'autres espèces.*

Une fois de plus, notre opinion correspond à la ligne de conduite adoptée par la Société canadienne de fertilité et d'andrologie.

Un groupe de travail multidisciplinaire des Instituts canadiens de recherche en santé étudie actuellement l'encadrement de la production et de l'utilisation des cellules souches embryonnaires humaines. Les recommandations préliminaires de ce comité vont dans le sens de notre interprétation (voir [http://www.cihr.ca/governing\\_council/ad\\_hoc\\_working\\_groups/ahwg\\_stem\\_cell\\_f.shtml](http://www.cihr.ca/governing_council/ad_hoc_working_groups/ahwg_stem_cell_f.shtml)).

Finalement, il faut préciser que la recherche menée dans les laboratoires privés n'est pas couverte par la réglementation issue de l'énoncé de politique inter-conseils concernant la recherche chez des êtres humains. Cependant, le ministre Alan Rock a soumis à la consultation du public un

avant-projet de loi visant l'encadrement des pratiques en reproduction humaine. On y aborde les questions de l'expérimentation sur l'embryon humain et de son utilisation à des fins thérapeutiques (voir [http://www.hc-sc.gc.ca/francais/archives/communiques/2001/2001\\_44f.htm](http://www.hc-sc.gc.ca/francais/archives/communiques/2001/2001_44f.htm)). Les intentions préliminaires du ministre semblent calquées sur les stipulations de l'énoncé de politique inter-conseils et sur notre façon de l'interpréter dans ce document.

**L**ES CELLULES SOUCHES embryonnaires présentent un intérêt médical et financier considérable. Certaines applications médicales envisageables à court terme ont le potentiel de devenir une véritable fontaine de Jouvence. Mais à quel prix ? Les problèmes de rejet et les hésitations d'ordre éthique favorisent déjà la recherche de solutions de rechange. Ces dernières semblent avoir, pour le moment, un potentiel thérapeutique tout aussi grand. Pour les médecins, les scientifiques et le public intéressé, il s'agit d'une histoire à suivre, car les cellules souches, qu'elles soient d'origine embryonnaire ou autre, transformeront la pratique médicale curative. Nous devrions, déjà, réfléchir de manière prospective aux conséquences sociales de cette transformation inéluctable. □

**Date de réception :** 28 septembre 2001.

**Date d'acceptation :** 9 octobre 2001.

## Bibliographie

1. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, Jones JM. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998 ; 282 : 1145-7.
2. Hollands P. Embryonic stem cell grafting: the therapy of the future? *Hum Reprod* 1991 ; 6 : 79-84.

3. Soonpaa MH, Young Koh G, Klug MG, Field LJ. Formation of nascent intercalated disks between grafted fetal cardiomyocytes and host myocardium. *Science* 1994 ; 264 : 98-101.
4. Brustle O, Jones KN, Learish RD, Karram K, Choudhary K, Wiestler OD, Duncan ID, McKay RDG. Embryonic stem cell-derived glial precursors: A source of myelinating transplants. *Science* 1999 ; 285 : 754-6.
5. McDonald JW, Liu XZ, Qu Y, Liu S, Mickey SK, Turetsky D, Gottlieb DI, Choi DW. Transplanted embryonic stem cells survive, differentiate and promote recovery in injured spinal cord. *Nature Medicine* 1999 ; 5 : 1410-2.
6. Bloom FE. Breakthroughs 1999. *Science* 1999 ; 286 : 2267.
7. Vogel G. Cloned gaur a short-lived success. *Science* 2001 ; 291 : 409.
8. Conseil de recherches médicales du Canada. Conseil de recherches en sciences naturelles et génie du Canada. Conseil de recherches en sciences humaines du Canada. *Énoncé de politique des trois Conseils : Éthique de la recherche avec des êtres humains*. CIHR/IRSC, 1998 ; article 9.3 : <http://www.nserc.ca/programs/ethics/francais/policy.htm>.
9. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, Moorman MA, Simonetti DW, Craig S, Marshak DR. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999 ; 284 : 143-7.
10. Prockop DJ. Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues. *Science* 1997 ; 276 : 71-4.
11. Bjornson CRR, Rietze RL, Reynolds BA, Magli MC, Vescovi AL. Turning brain into blood: A hematopoietic fate adopted by adult neural stem cells in vivo. *Science* 1999 ; 283 : 534-6.
12. Clarke DL, Johansson CB, Wibertz J, Veress B, Nilsson E, Karlstrom H, Lendahl U, Frisen J. Generalized potential of adult neural stem cells. *Science* 2000 ; 288 : 1660-3.
13. Gage FH. Mammalian neural stem cells. *Science* 2000 ; 287 : 1433-8.
14. Weissman IL. Translating stem and progenitor cell biology to the clinic: barriers and opportunities. *Science* 2000 ; 187 : 1442-6.
15. Windover M. Stem cellars. Canadian scientists aim to unlock the differential vault. *Biotechnology Focus* mars 2001 : 19-22.
16. Dominko T, Mitalipova M, Haley B, Beyhan Z, Memili E, McKusick B, First NL. Bovine oocyte cytoplasm supports development of embryos produced by nuclear transfer of somatic cell nuclei from various mammalian species. *Biol Reprod* 1999 ; 60 : 1496-502.
17. *National Institutes of Health Guidelines for Research Using Human Pluripotent Stem Cells*. 25 août 2000 ; section III.D : <http://www.nih.gov/news/stemcell/stemcellguidelines.htm>.