

De l'embryon humain aux embryons chimères porc-homme

Claude Monneret et Rose Agnès Jacquesy

La découverte et l'utilisation notamment de la technique CRISPR-Cas9, dite des « ciseaux moléculaires à ADN », sont à l'origine d'un changement de paradigme en santé humaine. Leurs conséquences exigent une réflexion éthique fondamentale et probablement des dispositions réglementaires contraignantes au niveau mondial.

Dans un précédent article intitulé « Nouvelles technologies et risques d'eugénisme » [1], nous avons exprimé nos craintes face à l'utilisation des nouvelles techniques de « réécriture génétique », comme CRISPR-Cas9, sur l'embryon. Nous avons rappelé les expérimentations de chercheurs américains dès 2007 puis celles de chercheurs chinois sur les embryons humains, afin de corriger des gènes défectueux responsables de la β -thalassémie⁽¹⁾.

L'un des objectifs majeurs des sciences du vivant est de mieux comprendre le développement humain et sa physiopathologie pour progresser en termes de traitement. L'isolement de cellules souches humaines [2], puis la génération de cellules souches pluripotentes humaines induites [3], associées à la nouvelle technologie de réécriture génétique CRISPR-Cas9, sont autant de nouvelles possibilités d'intervenir sur le génome, qu'il convient de manier avec précaution.

On conçoit aisément la tentation d'une « fuite en avant » que représente l'utilisation de chimères entre animaux et hommes, travaux dont le but ultime serait d'offrir une alternative aux dons d'organes, dont le manque se fait cruellement sentir. Jusqu'à récemment, ces expériences n'avaient été menées à leur terme qu'entre animaux [4]. Les chercheurs avaient ainsi montré qu'il est possible d'obtenir le développement d'un pancréas de rat chez la souris en introduisant les cellules souches pluripotentes de rat dans les blastocystes⁽²⁾ de souris, une fois l'embryon de la souris privé génétiquement de son propre pancréas. Pour cela, ils ont éteint l'expression du gène *Pdx1* chez la souris grâce à la technique CRISPR-Cas9, l'expression de *Pdx1* durant le développement de la souris étant strictement liée au développement du pancréas. La protéine codée par ce gène est en effet un activateur transcriptionnel de plusieurs gènes, dont ceux de l'insuline, de la somatostatine, de la glucokinase et des transporteurs du glucose.

Sur la base de ces résultats, ces mêmes scientifiques sont allés plus loin en imaginant la « transplantation » de pancréas humain chez des porcs privés de leur propre pancréas [5]. Il leur semblait possible et naturel d'appliquer ce type de travaux pour différents organes humains tels que le cœur ou les reins. De plus, disaient-ils, les cellules souches utilisées provenant du futur receveur, le risque de rejet par immuno-incompatibilité devrait être minimisé.

Ceci est désormais une réalité puisque, selon une publication récente parue dans la revue *Cell* [6], des chercheurs de l'Institut

Salk (Juan Carlos Izpisua Belmonte *et coll.*, La Jolla, Californie) et de l'Université de Murcie (Espagne) ont utilisé des embryons de porc dans lesquels ils ont injecté des cellules souches pluripotentes induites humaines (CSPi, en anglais : « induced pluripotent stem cells », soit iPS ou iPSCs). Ces CSPi provenant de cellules adultes de peau reprogrammées sous l'effet d'un « cocktail » de plusieurs gènes ont la capacité de se différencier en n'importe quel type cellulaire (foie, pancréas, cœur, etc.). Ces embryons chimères porc-homme ont été ensuite transférés à un stade extrêmement précoce – au 5^e ou 6^e jour de leur développement – dans l'utérus de truies « porteuses ». Il n'y a pas eu comme escompté de rejet, l'embryon ainsi manipulé étant au stade blastocyste.

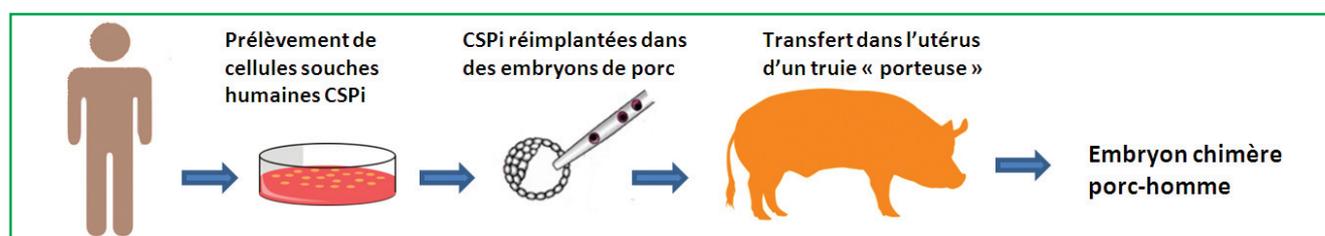
L'injection de cellules humaines CSPi a abouti à la production d'embryons porcins comportant un nombre significatif de cellules humaines. L'expérience n'a pas été poursuivie jusqu'à la naissance de porcelets, les chercheurs ayant décidé de sacrifier les embryons entre le 21^e et le 28^e jour de développement. L'objectif à long terme serait que des truies donnent naissance à des porcelets possédant un pancréas humain. Par la suite, la greffe du pancréas humain ainsi fabriqué par une chimère porc-homme pourrait être envisagée pour le traitement d'un diabète grave. Ceci d'autant qu'une telle greffe, comme cela a été dit plus haut, aurait l'avantage de ne pas nécessiter un traitement immunosuppresseur à vie, les cellules humaines CSPi utilisées provenant des propres cellules du patient.

En 2013, la preuve de ce concept avait été apportée chez le porc par la production d'un pancréas fonctionnel *in vivo* par complémentarité de blastocystes [7].

Des questions éthiques

La création de chimères animal-homme pose de sérieuses questions éthiques. Une telle approche ne pourrait-elle pas doter l'animal chimère de capacités humaines dans le cas où de trop nombreuses cellules humaines atteindraient son cerveau ? Selon certains spécialistes, la limite supérieure acceptable ne devrait jamais dépasser un certain pourcentage de contribution humaine dans le cerveau animal [8]. Autre danger potentiel évoqué : la production de gamètes humains par de tels animaux chimères ne pourrait-elle pas conduire à la naissance de porcelets dotés de membres ou de sperme humains ?

Le risque d'« humaniser » un animal de laboratoire est pratiquement nul si l'on injecte ces cellules souches à un stade de développement post-natal, mais il devient lié au nombre et au type de cellules souches transplantées et au lieu de transplantation dès lors que ces cellules souches sont implantées à un stade embryonnaire ou fœtal [9]. Toutefois, même dans ce dernier cas, étant donnée la grande différence inter-espèces qui existe entre



l'homme et le bétail, même pour le porc dont on connaît certaines compatibilités tissulaires, le risque encouru serait minime, voire nul selon d'autres chercheurs [10]. D'ailleurs, ajoutent ces derniers, les expériences mettant en jeu des rats et des souris, deux espèces nettement plus proches, ont effectivement montré que l'on observe au maximum 20 % de « chimérisation ».

Fait plus rassurant, les chercheurs développent maintenant ce que l'on désigne comme une « targeted organ generation », c'est-à-dire la génération d'un organe ciblé [11] : les cellules souches qui vont être transférées sont génétiquement modifiées vers un lignage endodermique qui produira les organes recherchés, et non vers un lignage ectodermique (celui donnant les cellules du système nerveux).

Position du NIH

Aux États-Unis, le National Institute of Health (NIH) avait annoncé en septembre 2015 qu'« [il ne financerait] pas d'études impliquant des chimères animales humaines à moins que ces études soient passées au crible pour leurs implications sociales et scientifiques. » De ce fait, divers centres américains de recherche ont obtenu d'autres financements pour développer des tissus humains à l'intérieur de porcs et de moutons « afin de créer des cœurs, des foies et d'autres organes pour la transplantation. » Le MIT Technology Review estime ainsi que plus de 60 portées de chimères porc-homme ou mouton-homme ont été créées au cours des douze derniers mois aux États-Unis.

Pour régulariser cette situation, le NIH a lancé le 4 août 2016 une consultation au sujet de cette recherche sur les chimères, des « *embryons animaux hybrides comportant des cellules souches humaines* », auprès de spécialistes et du grand public, consultation dont on attend toujours les résultats.

D'un autre côté, un groupe de la Chambre des représentants des États-Unis a demandé au NIH de se pencher sur l'utilisation des embryons humains issus d'avortements dans la recherche scientifique. Ce groupe appelle le NIH à déterminer si l'embryon humain est « *le modèle le plus approprié* » pour la recherche financée par le gouvernement. Il a également exhorté le Congrès à commander des études sur l'utilité de ces « *tissus de nourrissons mort-nés et prématurés* » [12].

En Europe et en France

Rappelons en préambule que la convention d'Oviedo pour la protection des droits de l'homme et de la dignité de l'être humain à l'égard des applications de la biologie et de la médecine a été signée en 1997 à Oviedo en Espagne. Concernant l'embryon, elle stipulait qu'il est interdit d'utiliser les techniques d'assistance médicale à la procréation en vue de sélectionner le sexe de l'enfant à naître (sauf pour éviter une maladie héréditaire grave liée au sexe), ainsi que de constituer des embryons humains aux fins de recherche. Elle stipulait en outre que lorsque la recherche sur l'embryon est admise par la loi, celle-ci doit assurer une protection adéquate de l'embryon. Cette convention n'a été ratifiée par la France qu'en 2011.

Le dispositif législatif et réglementaire français n'interdit plus la recherche sur l'embryon depuis l'adoption de la loi du 6 août 2013. Pour que le protocole soit autorisé, la pertinence scientifique de la recherche doit être établie et celle-ci doit s'inscrire dans une finalité médicale. Par ailleurs, et comme le précise l'article L 2151-5 du code de santé publique, la recherche doit être menée « *à partir d'embryons conçus in vitro dans le cadre d'une assistance médicale à la procréation et qui ne font plus l'objet d'un projet parental* », avec le consentement du couple dont les embryons sont issus.

Selon ce dernier point, deux types d'embryons peuvent être utilisés : ceux dont les caractéristiques nucléaire, cytoplasmique ou moléculaire sont jugées, dans les jours suivant la fécondation

in vitro, incompatibles avec le développement ; ceux qui ont été conservés, congelés, mais pour lesquels il n'y a plus de projet parental [13].

Conclusions

Fin 2015, une réunion organisée sous l'égide des Académies des sciences et de médecine américaines avec la participation de l'Académie des sciences chinoise et de la Royal Society de Grande-Bretagne concluait ses travaux en déclarant que la modification génomique ne serait acceptable que lorsque ses bénéfices (individuels et pour la société au sens large) surpasseraient ses risques.

On le voit bien, le potentiel thérapeutique de l'outil CRISPR se révèle pleinement lorsqu'il est associé aux dernières évolutions technologiques du champ des cellules souches. La combinaison des cellules souches pluripotentes induites avec CRISPR démultiplie les possibilités thérapeutiques, notamment pour des maladies que l'on peut difficilement traiter comme la β -thalassémie, et peut-être demain pour les transplantations d'organes.

Alors espérons, comme on le dit généralement dans le domaine du médicament, que le bénéfice l'emportera toujours sur le risque.

Notes et références

- [1] La β -thalassémie (ou thalassémie bêta) est une maladie génétique de l'hémoglobine, substance contenue dans les globules rouges du sang qui permet de transporter l'oxygène à travers le corps.
- [2] Blastocyte (ou blastomère) : cellule qui résulte des premières divisions de l'œuf fécondé ou zygote (<http://dictionnaire.acadpharm.org>).
- [1] Jacquesy R.A., Monneret C., Nouvelles technologies et risques d'eugénisme ?, *L'Act. Chim.*, **2016**, 406, p. 5.
- [2] Thomson J.A. et al., Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts, *Science*, **1998**, 282, p. 1145.
- [3] Takahashi K. et al., Induction of pluripotent stem cells from fibroblast cultures, *Nat. Protoc.*, **2007**, 2, p. 3081.
- [4] Kobayashi T. et al., Generation of rat pancreas in mouse by interspecific blastocyst injection of pluripotent stem cells, *Cell*, **2010**, 142, p. 787.
- [5] Rashid T., Kobayashi T., Nakauchi H., Revisiting the flight of Icarus: making human organs from PSCs with large animal chimeras, *Cell Stem Cell*, **2014**, 15, p. 406.
- [6] Wu J. et al., Interspecies chimerism with mammalian pluripotent stem cells, *Cell*, **2017**, 168, p. 473.
- [7] Coulombel L., Production d'un pancréas fonctionnel *in vivo* par complémentarité de blastocyste : preuve de concept chez le porc, *Med. Sci.*, **2013**, 29, p. 262.
- [8] Bourret R. et al., Human-animal chimeras: ethical issues about farming chimeric animals bearing human organs, *Stem Cell Res. Ther.*, **2016**, 7, p. 87.
- [9] Hyun I., What's wrong with human/nonhuman chimera research, *PLoS Biol.*, **2016**, 14, p. e1002535.
- [10] Rodriguez E., Ethical issues in genome editing using Crispr/Cas9 system, *J. Clin. Res. Bioeth.*, **2016**, 7, p. 268.
- [11] Kobayashi T., Kato-Itoh M., Nakauchi H., Targeted organ generation using *Mix11*-inducible mouse pluripotent stem cells in blastocyst complementation, *Stem Cells Dev.*, **2014**, 24, p. 182.
- [12] Ledford H., US scientists fear new restrictions on fetal-tissue research: House Republicans conclude that tissue from aborted fetuses is of limited value for research and seek to reduce funding, *Nature news*, 04/01/2017, www.nature.com/news/us-scientists-fear-new-restrictions-on-fetal-tissue-research-1.21254.
- [13] Rapport de l'Académie nationale de médecine « Modifications du génome des cellules germinales et de l'embryon humains », **2016**, www.academie-medecine.fr/wp-content/uploads/2016/04/Vesrion-bulletin-11.pdf.



C. Monneret

Claude Monneret

est président honoraire de l'Académie nationale de pharmacie et directeur de recherche émérite au CNRS**.

Rose Agnès Jacquesy

est rédactrice en chef honoraire de *L'Actualité Chimique**.



R.A. Jacquesy

* Institut Curie, 26 rue d'Ulm, F-75248 Paris Cedex 05.
Courriel : claudemonneret@curie.fr

** Courriel : agnes.jacquesy@noos.fr