

# **La gestion de la recherche sur l'embryon**

**Pierre Jouannet**  
Université Paris Descartes

# La gestion de la recherche sur l'embryon

**En France:**

**Une réglementation changeante  
incertaine  
complexe**

## LOI no 94-654 du 29 juillet 1994 relative au don et à l'utilisation des éléments et produits du corps humain, à l'assistance médicale à la procréation et au diagnostic prénatal

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 leurs embryons.

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

## Décret no 97-613 du 27 mai 1997 relatif aux études menées sur des embryons humains in vitro et modifiant le code de la santé publique

Une étude sur des embryons humains in vitro, prévue à titre exceptionnel par l'article L. 152-8, ne peut être entreprise que si elle poursuit l'une des finalités suivantes

- 1 Présenter un **avantage direct pour l'embryon concerné**, notamment en vue d'accroître les chances de réussite de son implantation ;
- 2 Contribuer à **l'amélioration des techniques d'assistance médicale à la procréation**, notamment par le **développement des connaissances sur la physiologie et la pathologie de la reproduction humaine**.
- Aucune étude ne peut être entreprise si elle a pour objet ou risque d'avoir pour effet de modifier le patrimoine génétique de l'embryon, ou est susceptible d'altérer ses capacités de développement.

## Loi n° 2004-800 du 6 août 2004 relative à la bioéthique

La recherche sur l'embryon humain est interdite.

A titre exceptionnel, lorsque l'homme et la femme qui forment le couple y consentent, des études ne portant pas atteinte à l'embryon peuvent être autorisées (...)

Par dérogation au premier alinéa, et pour une période limitée à cinq ans (...) les recherches peuvent être autorisées sur l'embryon et les cellules embryonnaires lorsqu'elles sont susceptibles de permettre des progrès thérapeutiques majeurs et à la condition de ne pouvoir être poursuivies par une méthode alternative d'efficacité comparable, en l'état des connaissances scientifiques.

(...)

Une recherche ne peut être entreprise que si son protocole a fait l'objet d'une autorisation par l'Agence de la biomédecine.

(...)

Les embryons sur lesquels une recherche a été conduite ne peuvent être transférés à des fins de gestation.

(...)

L'importation de tissus ou de cellules embryonnaires ou foetaux aux fins de recherche est soumise à l'autorisation préalable de l'Agence de la biomédecine

Décret n° 2004-1024 du 28 septembre 2004 relatif à l'importation à des fins de recherche de cellules souches embryonnaires, aux protocoles d'études et de recherche et à la conservation de ces cellules et portant application des dispositions de l'article 37 de la loi n° 2004-800 du 6 août 2004 relative à la bioéthique

Décret n° 2006-121 du 6 février 2006 relatif à la recherche sur l'embryon et sur les cellules embryonnaires et modifiant le code de la santé publique (dispositions réglementaires)

## LOI n° 2011-814 du 7 juillet 2011 relative à la bioéthique

La recherche sur l'embryon humain, les cellules souches embryonnaires et les lignées de cellules souches est interdite.

Par dérogation au I, la recherche est autorisée si les conditions suivantes sont réunies

- 1° La pertinence scientifique du projet de recherche est établie ;
- 2° La recherche est susceptible de permettre des progrès médicaux majeurs ;
- 3° Il est expressément établi qu'il est impossible de parvenir au résultat escompté par le biais d'une recherche ne recourant pas à des embryons humains, des cellules souches embryonnaires ou des lignées de cellules souches ;
- 4° Le projet de recherche et les conditions de mise en œuvre du protocole respectent les principes éthiques relatifs à la recherche sur l'embryon et les cellules souches embryonnaires. (...)

Les protocoles de recherche sont autorisés par l'Agence de la biomédecine (...)

Les embryons sur lesquels une recherche a été conduite ne peuvent être transférés à des fins de gestation. (...)

A titre exceptionnel, des études sur les embryons visant notamment à développer les soins au bénéfice de l'embryon et à améliorer les techniques d'assistance médicale à la procréation ne portant pas atteinte à l'embryon peuvent être conduites avant et après leur transfert à des fins de gestation

Dossier de demande d'autorisation



Agence de la Biomédecine

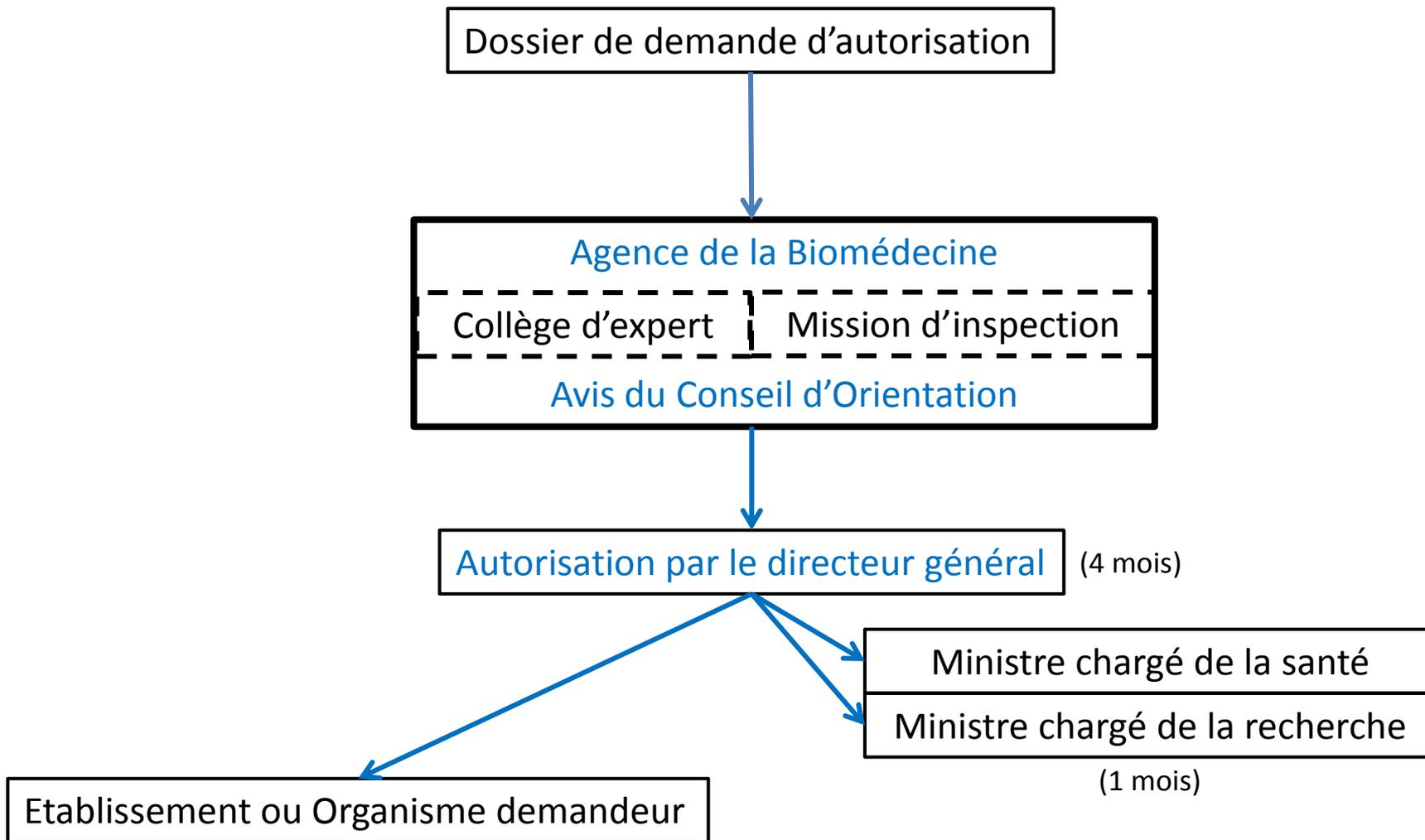
Collège d'expert

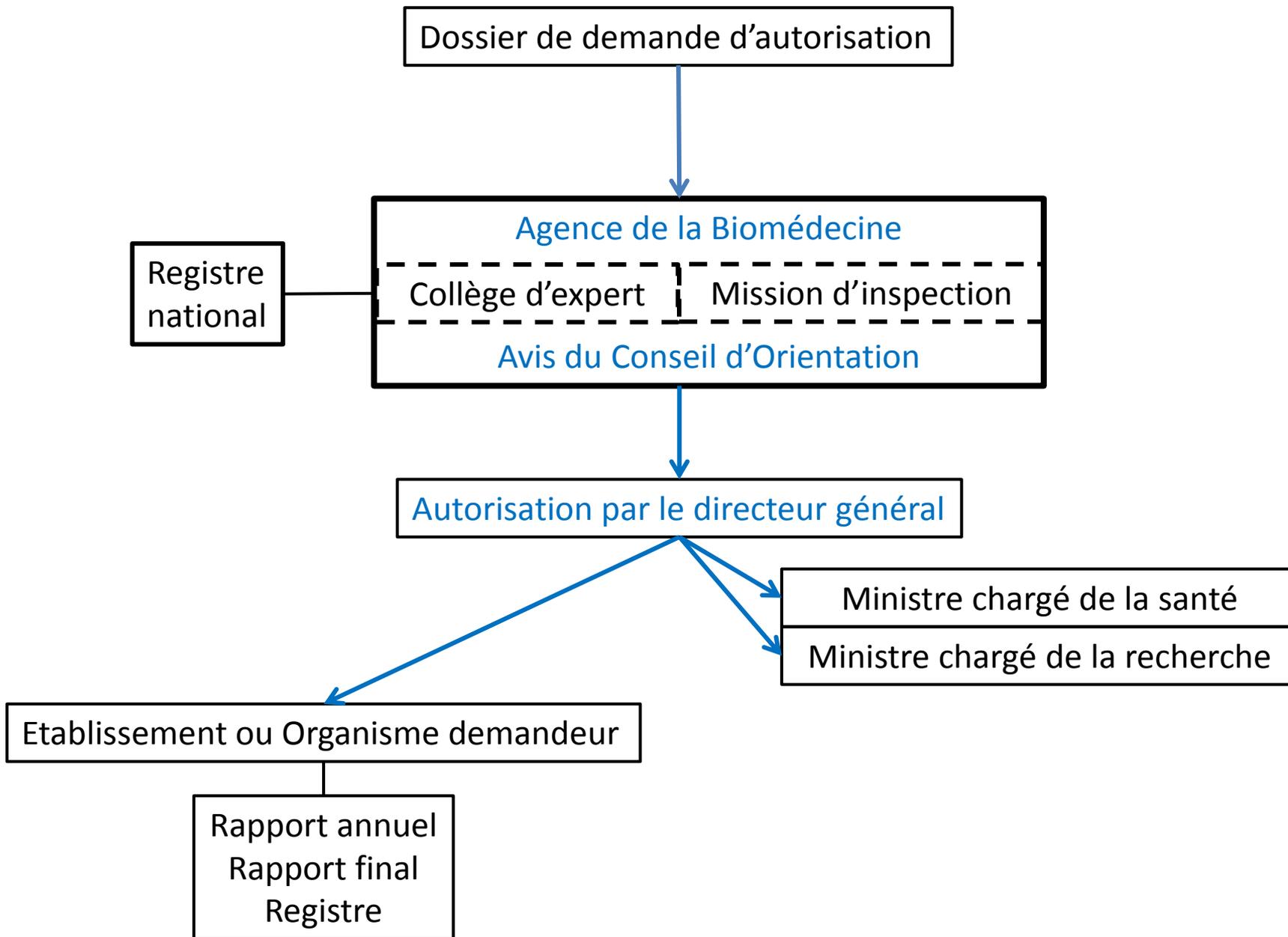
Mission d'inspection

- Progrès médicaux majeurs
- Pertinence scientifique
- Faisabilité du projet
- Compétence des chercheurs
- Moyens mis en œuvre (sécurité, qualité, traçabilité des embryons et des cellules ES).



Avis du Conseil d'Orientation





## DÉNOMBREMENT DES DÉCISIONS RENDUES DU 1<sup>ER</sup> SEPTEMBRE 2004 AU 31 DÉCEMBRE 2012

	Décisions / arrêtés	Autorisations	Refus	Retraits	Protocoles de recherche	Conservation	Importation
1 <sup>er</sup> sept. 2004 → 6 fév. 2006 <sup>(1)</sup>	44	40	4	-	17 autorisations	9	14
6 fév. 2006 → fin 2011	148	133	5	4	43 autorisations + 11 modifications substantielles + 19 renouvellements + 2 prorogations	15 + 11 revvts	32
2012	23	17	3	3	4 autorisations + 1 modification substantielle + 5 renouvellements	4	3
<b>Total</b>	<b>215</b> dont 171 Agence	<b>190</b> dont 150 Agence	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>64 protocoles</b> (dont 12 sur l'embryon) + 12 modifications substantielles + 24 renouvellements + 2 prorogations	<b>28</b> autorisations +11 revvts	<b>49</b> autorisations

(1) dispositif transitoire reposant sur un comité *ad hoc* (compétence des ministres chargés de la santé et de la recherche)

### De 2004 à juin 2010

**11 protocoles ont utilisé 1087 embryons**

- 243 pour des recherches sur l'embryon
- 844 pour dériver 28 lignées de CSEh

**40 protocoles ont utilisé des lignées de CSEh importées**

<b>Jean-Paul BONNEFONT</b> INSERM UMR 781 Hôpital Necker - Paris	20/09/2006	Etude de l'impact des mutations de l'ADNmt sur la ségrégation de l'ADNmt et sur l'expression des gènes mitochondriaux chez les embryons humains atteints de mitochondriopathies (embryon).  <i>Fin de la recherche</i>
<b>Samir HAMAMAH</b> <b>Frank PELLESTOR</b> CHU Montpellier	11/07/2007 15/07/2012	Identification des biomarqueurs moléculaires, impliqués dans la régulation des embryons préimplantatoires humains : approche transcriptomique (embryon).  <i>Renouvellement de l'autorisation le 15 juillet 2012 (JO 05/10)</i>
<b>Catherine PATRAT</b> AP-HP Paris	11/07/2007 21/01/2011	Etude de la dynamique des changements épigénétiques au cours du développement préimplantatoire de l'embryon humain en utilisant l'inactivation du chromosome X comme processus modèle (embryon).  <i>Renouvellement de l'autorisation le 21 janvier 2011 (JO 18/03).</i> <i>Modification substantielle de l'autorisation le 11/02/2013 : collaboration d'une nouvelle équipe (JO19/03)</i>
<b>Annick LEFEBVRE</b> <b>Jean-François GUERIN</b> INSERM UMR 846 - Bron	20/6/2008	Caractéristiques épigénétiques de l'embryon humain préimplantatoire : analyse du profil de méthylation de gènes soumis à empreinte parentale (embryon).  <i>Modification de l'autorisation le 20/11/2009 : Reprogrammation épigénétique dans l'embryon humain préimplantatoire : analyse du profil de méthylation de Nanog et Oct 4 (embryon)</i> <i>Rapport final remis le 18 novembre 2011.</i>
<b>Abdel AOUACHERIA</b> <b>Jean-François GUERIN</b> CNRS UMR 5086 - IBCP Lyon CHU Lyon - Bron	22/12/2008	Etude de la protéine de survie BCL2L10, un membre divergent de la famille BCL2, lors du développement embryonnaire précoce chez l'humain (embryon).  <i>Rapport final remis le 04/03/2010</i>

## LOI n° 2013-715 du 6 août 2013 tendant à modifier la loi n° 2011-814 du 7 juillet 2011 relative à la bioéthique en autorisant sous certaines conditions la recherche sur l'embryon et les cellules souches embryonnaires

Aucune recherche sur l'embryon humain ni sur les cellules souches embryonnaires ne peut être entreprise sans autorisation. Un protocole de recherche conduit sur un embryon humain ou sur des cellules souches embryonnaires issues d'un embryon humain ne peut être autorisé que si :

- 1° La pertinence scientifique de la recherche est établie ;
- 2° La recherche, fondamentale ou appliquée, s'inscrit dans une finalité médicale ;
- 3° En l'état des connaissances scientifiques, cette recherche ne peut être menée sans recourir à ces embryons ou ces cellules souches embryonnaires ;
- 4° Le projet et les conditions de mise en œuvre du protocole respectent les principes éthiques relatifs à la recherche sur l'embryon et les cellules souches embryonnaires.

(...)

Les embryons sur lesquels une recherche a été conduite ne peuvent être transférés à des fins de gestation.

# La gestion de la recherche sur l'embryon

**En France:**

**Une réglementation changeante  
incertaine  
complexe**

**Une réglementation  
favorisant les recherches à partir de l'embryon  
Inhibant les recherches au bénéfice de l'embryon**

# La gestion de la recherche sur l'embryon

## *De nombreuses questions à résoudre*

- La recherche sur l'embryon humain est-elle inutile dans la mesure où toutes les connaissances peuvent être acquises sur des modèles animaux?
- Quel avenir pour les nombreux embryons disponibles pour la recherche?
- Une recherche au bénéfice de l'embryon est-elle souhaitable?
- La conception d'embryons in vitro à des fins de recherche est-elle évitable?

# La gestion de la recherche sur l'embryon

## *De nombreuses questions à résoudre*

- La recherche sur l'embryon humain est-elle inutile dans la mesure où toutes les connaissances peuvent être acquises sur des modèles animaux?

## Eutherian mammals use different strategies to initiate X-chromosome inactivation during development

Ikuhiro Okamoto<sup>1\*</sup>, Catherine Patrat<sup>1,2\*</sup>, Dominique Thépot<sup>3</sup>, Nathalie Peynot<sup>3</sup>, Patricia Fauque<sup>4,5</sup>, Nathalie Daniel<sup>3</sup>, Patricia Diabangouaya<sup>1</sup>, Jean-Philippe Wolf<sup>6</sup>, Jean-Paul Renard<sup>3</sup>, Véronique Duranthon<sup>3</sup> & Edith Heard<sup>1</sup>

X-chromosome inactivation (XCI) in female mammals allows dosage compensation for X-linked gene products between the sexes<sup>1</sup>. The developmental regulation of this process has been extensively investigated in mice, where the X chromosome of paternal origin (Xp) is silenced during early embryogenesis owing to imprinted expression of the regulatory RNA, *Xist* (X-inactive specific transcript). Paternal XCI is reversed in the inner cell mass of the blastocyst and random XCI subsequently occurs in epiblast cells. Here we show that other eutherian mammals have very different strategies for initiating XCI. In rabbits and humans, the *Xist* homologue is not subject to imprinting and XCI begins later than in mice. Furthermore, *Xist* is upregulated on both X chromosomes in a high proportion of rabbit and human embryo cells, even in the inner cell mass. In rabbits, this triggers XCI on both X chromosomes in some cells. In humans, chromosome-wide XCI has not initiated even by the blastocyst stage, despite the upregulation of *XIST*. The choice of which X chromosome will finally become inactive thus occurs downstream of *Xist* upregulation in both rabbits and humans, unlike in mice. Our study demonstrates the remarkable diversity in XCI regulation and highlights differences between mammals in their requirement for dosage compensation during early embryogenesis.

First we examined rabbit embryos *in vivo*, from the 4-cell stage to the blastocyst stage, using *Xist* RNA fluorescence *in situ* hybridization (FISH; Fig. 1 and Supplementary Fig. 1). Sex chromosome constitution was determined after RNA FISH, by DNA FISH using X- and Y-chromosome probes. Punctate *Xist* RNA signals could be detected from both X chromosomes in females and from the single X chromosome in males, from the 8-cell stage (Fig. 1b, d), which corresponds to major embryonic genome activation (EGA) in rabbits<sup>15,16</sup>. This contrasts with mice, where maternal *Xist* is never expressed<sup>4,6,11</sup> between major EGA (the 2-cell stage<sup>17</sup>) and the blastocyst stage. *Xist* RNA accumulation was first detected in female, but not male, embryos at the morula stage (62 hours post-coitum (h.p.c.); about 60–70 cells). However, the percentage of female blastomeres showing *Xist* expression was low at this stage (Fig. 1c, d). By the early blastocyst stage (96 h.p.c.; Fig. 2a), over 90% of trophoblast cells had at least one *Xist* RNA domain (Fig. 2a, c). Surprisingly, a substantial proportion of blastomeres (26%) showed *Xist* RNA domains on both X chromosomes (Fig. 2a, c). The detection of double *Xist* RNA domains in rabbit blastocysts contrasts with mouse, where such a situation is not usually seen *in vivo*<sup>4–6</sup> except in polyploid trophoblast cells or in a low percentage (<4%) of *in vitro* differentiating female embryonic stem cells<sup>18</sup>. This unusual pattern is transient, however, as it is no longer

# La gestion de la recherche sur l'embryon

## *De nombreuses questions à résoudre*

- Quel avenir pour les nombreux embryons disponibles pour la recherche?

### Embryons conservés en France au 31 12 2011

	Embryons		Couples	
	N	%	N	%
Projet parental en cours	123360	66.6	36953	66.8
Abandon du projet parental	32131	17.3	9572	17.3
Proposé à la recherche	17667		5379	
Proposé à l'accueil	14464		4193	
Défaut de réponse ou désaccord du couple	29747	16.1	8815	15.9
Moins de 5 ans de conservation	11572		3853	
Plus de 5 ans ou arrêt à court terme	18175		4962	
<b>Total des embryons en cours de conservation</b>	<b>185238</b>		<b>55340</b>	

<http://www.agence-biomedecine.fr>

### LOI n° 2011-814 du 7 juillet 2011 relative à la bioéthique

**Article 42** - Le Gouvernement présente au Parlement, avant le 1er juillet 2012, un rapport relatif aux conditions de mise en place de centres de ressources biologiques sous la forme d'un système centralisé de collecte, de stockage et de distribution des embryons surnuméraires dont il a été fait don à la science.

# La gestion de la recherche sur l'embryon

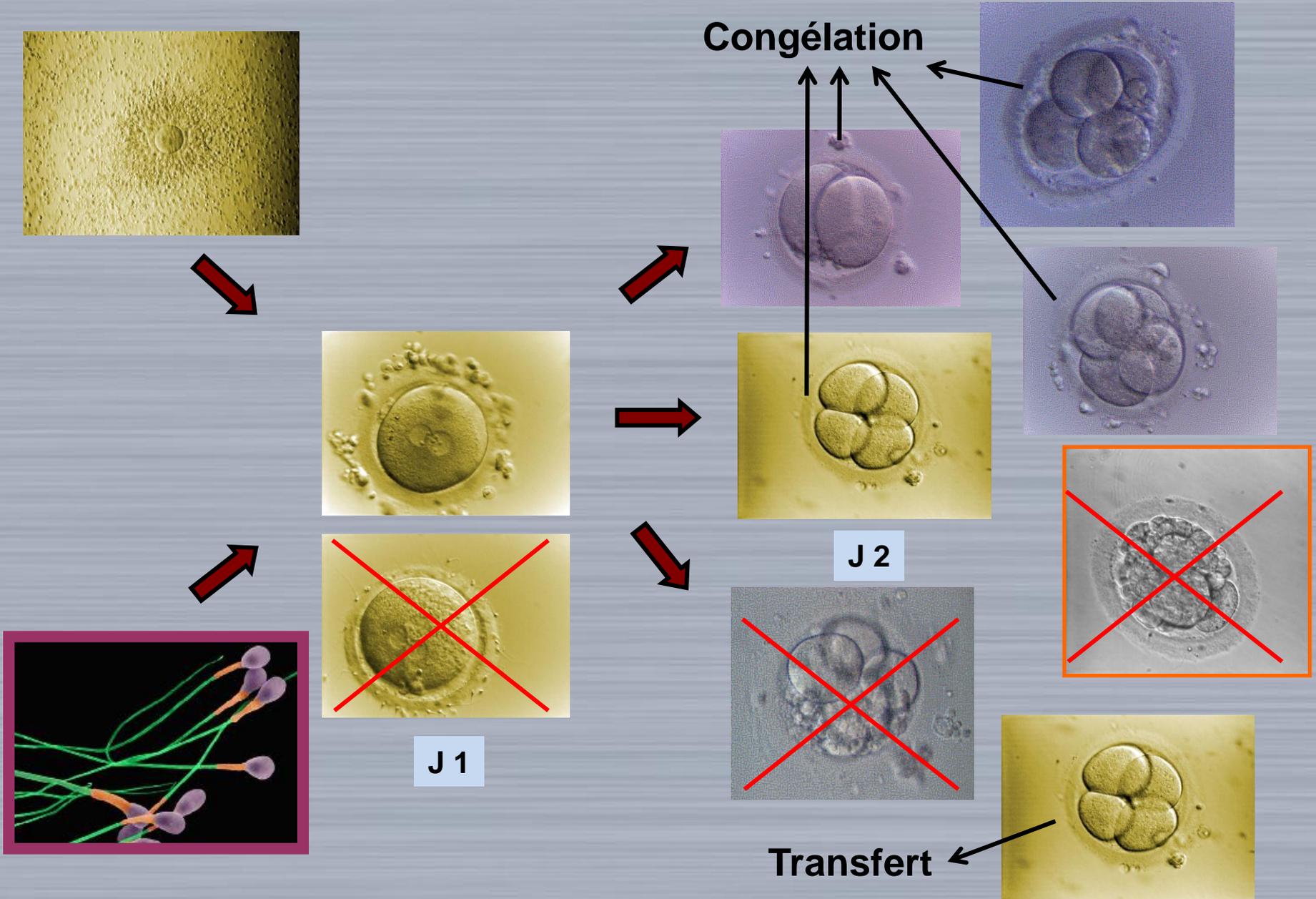
## *De nombreuses questions à résoudre*

- Une recherche au bénéfice de l'embryon est-elle souhaitable?

### Results of IVF and ICSI in France in 2011 (non donors, 104 centres)

<b>Oocytes collections</b>	<b>59697</b>
<b>Oocytes collected</b>	<b>535780</b>
<b>Obtained Embryos</b>	<b>282533</b>
<b>Transferred embryos</b>	<b>88848</b>
<b>Children born</b>	<b>13239 (14.9%)</b>
<b>Frozen embryos</b>	<b>62680</b>
<b>Unused embryos</b>	<b>131405 (46.5 %)</b>

# Fécondation et développement pré-implantatoire



# Fécondation et développement pré-implantatoire



Selective microsurgical removal of a pronucleus from tripronuclear human oocytes to restore diploidy: disregarded but valuable?

Bernd E. Rosenbusch, Ph.D.

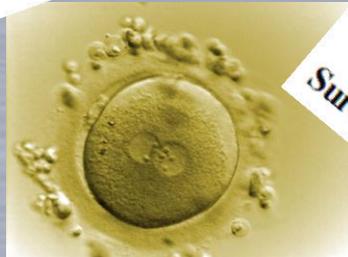
Congélation



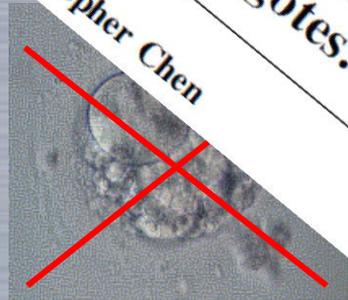
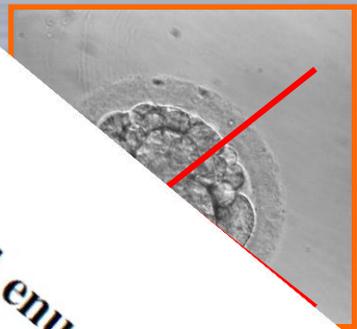
Normal birth after microsurgical enucleation of tripronuclear human zygotes: Case report

Suresh Kattera<sup>1</sup> and Christopher Chen

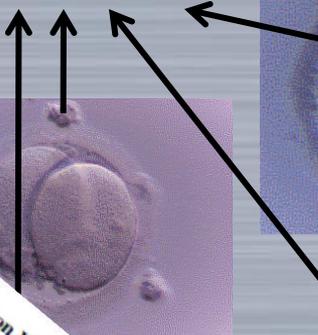
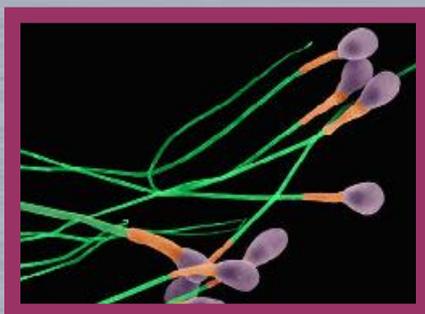
Human Reproduction Vol.18, No.6 pp.1319-1322, 2003



J1



Transfert



# La gestion de la recherche sur l'embryon

## *De nombreuses questions à résoudre*

La conception d'embryons in vitro à des fins de recherche est-elle évitable?

### **Pronuclear transfer in human embryos to prevent transmission of mitochondrial DNA disease**

Lyndsey Craven<sup>1</sup>, Helen A. Tuppen<sup>1</sup>, Gareth D. Greggains<sup>2,4</sup>, Stephen J. Harbottle<sup>3</sup>, Julie L. Murphy<sup>1</sup>, Lynsey M. Cree<sup>1</sup>, Alison P. Murdoch<sup>1,3</sup>, Patrick F. Chinnery<sup>1</sup>, Robert W. Taylor<sup>1</sup>, Robert N. Lightowlers<sup>1</sup>, Mary Herbert<sup>3,4,5</sup> & Douglass M. Turnbull<sup>1,2,3</sup>

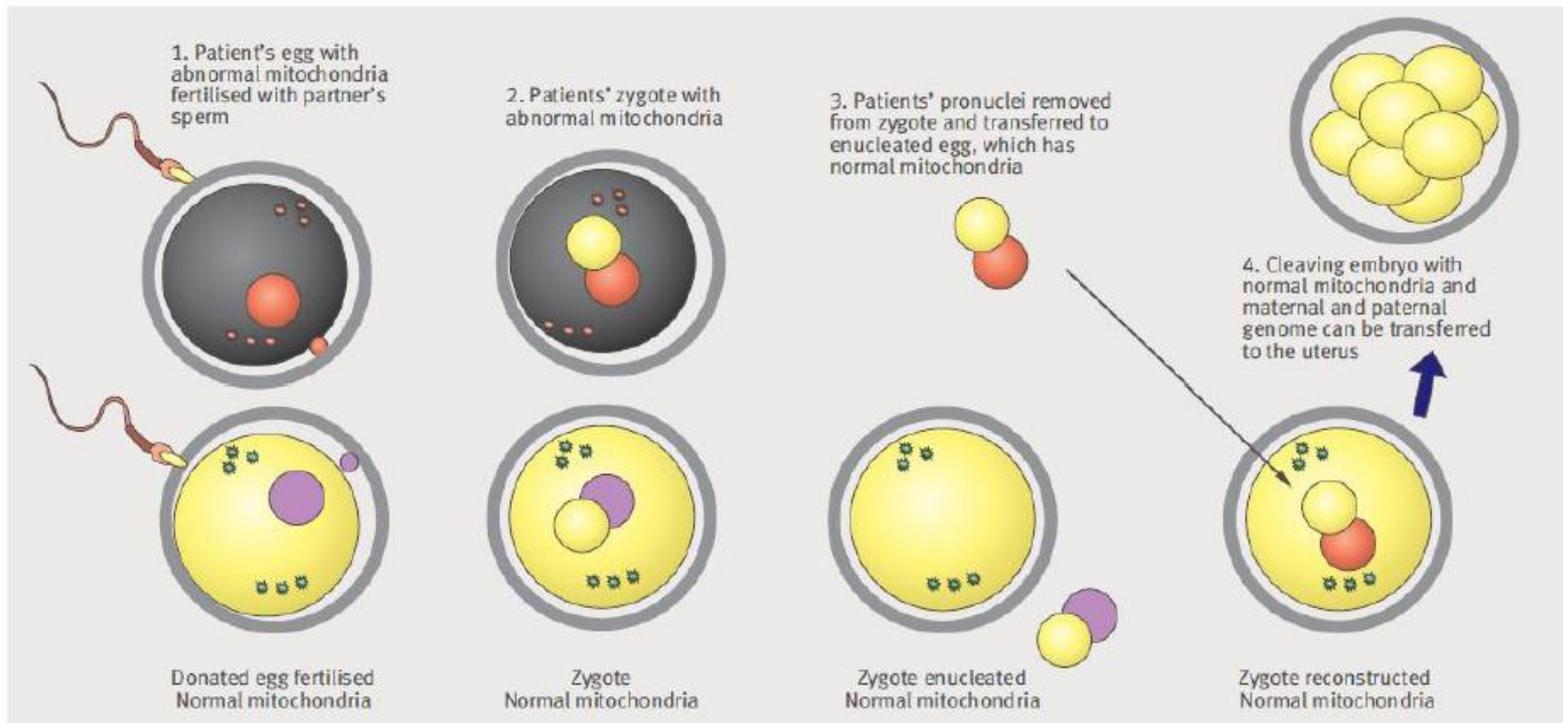


Figure 2. Pronuclear transfer technique<sup>11</sup>

# La gestion de la recherche sur l'embryon

*De nombreuses questions à résoudre*

Une recherche sur l'embryon mais aussi  
Une recherche pour l'embryon

Des réglementations et des procédures simples d'organisation  
et de gestion de la recherche sur et pour l'embryon sont-elles  
incompatibles avec le respect dû à l'embryon?