



**HAL**  
open science

## Cellules humaines à usage thérapeutique : état de la question

F. Guilhot

► **To cite this version:**

F. Guilhot. Cellules humaines à usage thérapeutique : état de la question. Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine, 2020, 204, pp.866 - 876. 10.1016/j.banm.2020.07.051 . hal-03493099

**HAL Id: hal-03493099**

**<https://hal.science/hal-03493099>**

Submitted on 17 Oct 2022

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial 4.0 International License

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25

Cellules humaines à usage thérapeutique : état de la question\*

*Human Cells for therapeutics purpose: state of the art.*

François Guilhot

Inserm CIC 1402,

CHU de Poitiers

2 rue de la Milétrie

Poitiers 86000, France

E mail : [fr.guilhot@wanadoo.fr](mailto:fr.guilhot@wanadoo.fr)

ORCID : 0000-0001-7222-487X

\* Étant donné le contexte sanitaire épidémique lié au Covid-19 du printemps-été 2020, la présentation orale de cette communication en séance à l'Académie a été reportée.

## 26 Résumé

27 Les cellules souches humaines pluripotentes induites et les cellules souches  
28 embryonnaires humaines ont des caractéristiques de pluripotence et de dérivation  
29 permettant aussi l'étude des maladies. Ces cellules sont utilisées actuellement pour  
30 le traitement de maladies neurologiques comme la maladie de Parkinson ou dans les  
31 pathologies cardiaques. La thérapie génique a été un succès pour le traitement des  
32 hémophilies A et B, les hémoglobinopathies et les déficits immunitaires. La greffe de  
33 cellules souches hématopoïétiques est un traitement standard des leucémies,  
34 cependant que les CAR T représentent un nouveau traitement prometteur y compris  
35 dans les lymphomes et le myélome.

## 36 Summary

37 Patient-derived induced pluripotent stem cells as well as human embryonic stem cells  
38 are pluripotent and their derivation has been used for the understanding of numerous  
39 diseases. Currently they are also used for the treatment of neurologic disorders such  
40 as Parkinson disease or cardiac disorders. Gene therapy has been successful for the  
41 treatment of hemophilia A and B, hemoglobinopathies and immunodeficiencies.  
42 Hemopoietic stem cell transplantation is a well-accepted therapeutic strategy for  
43 Leukemias, whereas CAR T cells is a new promising approach even for lymphomas  
44 and myeloma

45 Mots clefs :

46 Key words

47 Cellules souches, thérapie génique, cellules CAR T, médecine personnalisée

48 Stem cells, gene therapy; CAR T cells, personalized medicine

## 49 Introduction

50 Les cellules souches induites comme les cellules souches embryonnaires constituent  
51 des outils particulièrement utiles pour l'étude de certaines pathologies, tester des  
52 nouveaux médicaments voire même s'en servir en tant que traitement et des progrès  
53 dans ce domaine ont été réalisés ces dernières années. Tout comme la thérapie  
54 génique qui, se servant des cellules souches hématopoïétiques, introduit dans  
55 l'organisme les gènes déficitaires : hémophilies, hémoglobinopathies et déficit  
56 immunitaires sont les pathologies qui semblent bien en bénéficier de manière  
57 spectaculaire. Enfin les greffes de cellules souches hématopoïétiques et les cellules  
58 CAR T complètent un arsenal thérapeutique qui a fait émerger en quelques années  
59 le nouveau concept de cellule médicament.

### 60 1. Cellules souches induites IPS

61 Les cellules souches pluripotentes induites, dites iPS (*induced pluripotent stem*  
62 *cells*), sont des cellules issues d'une reprogrammation génétique à partir de cellules  
63 adultes somatiques différenciées. Il peut s'agir de fibroblastes, de la peau ou de  
64 cellules épithéliales ou mésenchymateuses ou de cellules sanguines. Leur grand  
65 intérêt réside dans l'étude de cellules obtenues à partir de tissus pathologiques de  
66 patients permettant de comprendre la physiopathologie de la maladie et  
67 éventuellement des tester les molécules thérapeutiques d'intérêt. Initialement la  
68 reprogrammation consistait à réactiver 4 gènes, Oct3/4, Sox2, c-Myc et KLF4 [1].

#### 69 1.1 Physiopathologie et lignées cellulaires

70 Les premiers vecteurs utilisés comportaient un risque de transformation tumorale de  
71 la cible, les gènes intégrés pouvant aussi être placés dans une région oncogénique.  
72 On utilise donc maintenant des vecteurs non intégratifs (épisomes) et la

73 reprogrammation s'effectue selon des règles rigoureuses [2] et sans c-myc, lequel  
74 comportait un risque oncogène avéré [3,4]. L'utilisation des iPS est théoriquement  
75 double : comprendre la pathologie et réparer les tissus. Ainsi une étude française  
76 récente a permis de mieux comprendre la physiopathologie du syndrome d'ataxie et  
77 de tremblement lié à l'X fragile (FXTAS). Cette maladie neurodégénérative,  
78 incurable, comporte un déclin cognitif et des troubles de la motricité chez l'homme  
79 généralement de plus de 50 ans. On a découvert que la pathologie était liée à la  
80 répétition anormale de 3 nucléotides dans le gène FMR1. En utilisant des souris  
81 génétiquement modifiées et des cellules neuronales dérivées par technique iPS de  
82 fibroblastes de 3 patients, on a montré que la maladie résultait de l'expression des  
83 nucléotides en une protéine pathogène, la FMRpolyG, différente de celle normale  
84 codée par FMR1 [5]. Il s'ouvre donc la possibilité d'utiliser cette protéine comme  
85 marqueur et de tester des molécules à visée thérapeutique. De nombreuses lignées  
86 de cellules iPS ont été constituées, particulièrement pour des maladies rares, mais  
87 aussi pour des maladies plus fréquentes (Tableau 1) [6-8]. Certaines de ces lignées  
88 sont, en France, mises à disposition pour la recherche par l'Infrastructure nationale  
89 d'ingénierie des cellules souches pluripotentes et cellules différenciées (INGESTEM).

90 Si l'utilisation de ces lignées est particulièrement intéressante pour étudier la  
91 physiopathologie des maladies et éventuellement tester des traitements, leur  
92 utilisation en clinique s'avère plus problématique. En effet des risques oncogéniques  
93 restent réels et les techniques pour transformer les cellules ont dû évoluer. Ainsi  
94 l'utilisation d'ARNm synthétiques modifiés afin de les rendre moins immunogènes et  
95 possiblement moins dangereux. Ces ARNm s'intègrent dans le cytosol par  
96 endocytose puis sont immédiatement traduits en protéines transformant le fibroblaste  
97 en iPS; ils sont ensuite dégradés en 2 à 3 jours et donc par conséquent sans aucune

98 intrusion dans le noyau. Les techniques intégratives utilisant des virus ont été  
99 comparées aux techniques non intégratives utilisant l'ARNm ou le virus Sandai. Par  
100 la technique d'hybridation génomique comparative sur micro réseau d'ADN, il s'avère  
101 que les méthodes non intégratives entraînent significativement moins d'activation  
102 d'oncogènes [9,10] et donc moins de risques carcinologiques.

## 103 1.2 Réparation tissulaire

104 La réparation tissulaire a été initialement proposée dans des pathologies  
105 neurologiques utilisant des modèles animaux. Des neurones dopaminergiques  
106 dérivés de fibroblastes ont améliorés les symptômes de rats parkinsoniens [11].  
107 Toujours dans un modèle animal de lésions de la moelle épinière, la greffe de  
108 cellules humaines différenciées a stimulé la régénération neuronale et amélioré la  
109 locomotion [12]. Mais l'utilisation de cellules iPS pour traiter des patients avec  
110 atteinte médullaire traumatique nécessite encore de nombreuses expérimentations  
111 animales car les défis restent nombreux et les résultats dans les modèles animaux  
112 sont assez variables [13]. Les greffes nécessitent souvent une immunosuppression  
113 chez le receveur ; les cellules transplantées peuvent être un mélange de cellules  
114 neuronales mais parfois un seul type cellulaire a été transplanté (astrocytes). Dans  
115 de nombreuses situations les cellules transplantées disparaissent après quelques  
116 semaines. Une première tentative de greffes d'iPS a été effectuée chez une femme  
117 japonaise atteinte d'une dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA). Les cellules  
118 d'épithélium pigmentaire de la rétine ont été obtenues à partir de fibroblastes de la  
119 patiente et ont persisté au moins 4 ans après la greffe [14,15]. Toujours au Japon, un  
120 patient de 50 ans, atteint d'une maladie de Parkinson a été traité par l'injection de 2,4  
121 millions de cellules neuronales dopaminergiques immatures dérivées de cellules iPS  
122 dans la moitié gauche du cerveau [16], début d'un essai qui devait inclure 6 autres

123 patients. Les équipes japonaises ont dû interrompre la recherche du fait de la  
124 survenue de mutations de p53 avec un risque de cancérisation des cellules  
125 transplantées. Des essais sont en cours pour la prévention de la réaction du greffon  
126 contre l'hôte au cours des greffes de cellules souches et dans les pathologies  
127 cardiaques (tableau 2).

## 128 2. Cellules souches embryonnaires

129 Dès 1998, des cellules embryonnaires humaines (CSEH) ont pu être isolées et  
130 cultivées dans un état de pluripotence [17], le caractère de pluripotence étant  
131 démontré par leur capacité à donner naissance aux trois feuillets fondamentaux,  
132 endoderme, ectoderme et mésoderme.

### 133 2.1 Lignées de CSEH.

134 Ces lignées de CSEH ont donné des cellules spécialisées comme des neurones [18],  
135 des cardiomyocytes [19] ou des cellules bêta du pancréas [20]. Depuis ces travaux  
136 pionniers, des milliers de lignées pluripotentiels ont été produites ; bon nombre  
137 d'entre elles non utilisables en clinique car les techniques de culture utilisent des  
138 composés xénogéniques, les sous couches murines et le sérum de veau foetal,  
139 pouvant contenir des organismes pathogènes et être immunogènes. Ultérieurement  
140 ont été mises en place les conditions pour une élaboration de lignées de CSEH selon  
141 des bonnes pratiques de fabrication éliminant toutes substances d'origine animale  
142 [21]. La différenciation dirigée des cellules souches permet d'obtenir des cellules  
143 d'intérêt pour une réparation tissulaire spécifique, par exemple cardiomyocytes,  
144 cellules dopaminergiques, cellules bêta du pancréas. Néanmoins, le niveau de  
145 différenciation de ces cellules peut n'être que partiel.

146

147

## 148 2.1 Essais cliniques impliquant des CSEH

149 Le tableau 2 décrit les essais cliniques en cours dans les traumatismes de la moelle  
150 épinière, des pathologies oculaires, la maladie de Parkinson, des affections  
151 cardiovasculaires et le diabète de type I [22]. Les résultats de ces essais ne sont que  
152 partiellement publiés ; les informations complémentaires proviennent du congrès  
153 annuel de l'ISSCR (International Society for Stem Cell Research) et des industriels.  
154 Le premier essai de traitement des traumatismes de la moelle épinière date de  
155 2010 ; il utilisait des oligodendrocytes, lesquels ont stimulé une néovascularisation, la  
156 sécrétion de facteur de croissance neurologique et ceci en l'absence d'effets  
157 secondaires. Plusieurs essais concernent des pathologies oculaires traitées par la  
158 transplantation d'épithélium pigmentaire rétinien avec, dans une série, l'amélioration  
159 de la vision de 17 des 18 patients inclus, là aussi sans effets secondaires [23]. Sur  
160 une autre série de patients il n'a pas été observé de phénomènes inflammatoires ou  
161 de signes de prolifération tumorale, l'amélioration de la vision étant minime [24]. En  
162 2013 a été débuté le premier essai de phase I pour le traitement de l'insuffisance  
163 cardiaque utilisant un patch de fibrine supportant des progéniteurs cardiaques issus  
164 de CSEH [25]. Parmi les 6 patients, 2 sont décédés, une amélioration de la fonction  
165 cardiaque a été observée chez les 4 autres lesquels n'ont eu aucuns effets  
166 secondaires. Ces patients recevaient aussi de la cyclosporine en tant que traitement  
167 immunosuppresseur. Dans cette étude, l'activité des cellules transplantées aurait pu  
168 se faire par l'intermédiaire de vésicules extracellulaires. Ces vésicules  
169 extracellulaires des cellules progénitrices cardiaques n'entraînent pas de réactions  
170 immunitaires, diminuent l'inflammation et pourraient, elles-mêmes, devenir une  
171 thérapeutique acellulaire de l'insuffisance cardiaque [26]. En 2014 a été débuté un



172 essai de phase I/II chez 65 diabétiques de type I qui utilisait une membrane semi-  
173 perméable encapsulant des cellules bêta du pancréas dérivant de CSEH (essai  
174 Viacyte). Il n'y a pas pour l'instant pas de données d'efficacité, mais les capsules  
175 implantées sous la peau n'ont pas entraîné d'effets secondaires et n'ont pas été  
176 rejetées. En 2017, une étude australienne (Cyto Therapeutics) a inclus 12 patients  
177 avec une maladie de Parkinson pour un traitement par progéniteurs neuronaux issus  
178 de CSEH. Après 6 mois, il y a eu une amélioration de la motricité et des fonctions  
179 cognitives. Des équipes japonaises utilisent actuellement des cellules induites  
180 d'épithélium pigmentaire rétinien allogéniques (iPS allo) provenant d'une banque de  
181 cellules sanguines ; elle permet la sélection des caractéristiques HLA correspondant  
182 aux haplotypes les plus fréquents de la population japonaise (études RIKEN). Les  
183 cellules souches mésenchymateuses (iPS allogéniques) sont utilisées pour le  
184 traitement de la maladie du greffon contre l'hôte après greffe de cellules souches  
185 hématopoïétiques avec, selon Cynata Therapeutics, une amélioration nette chez les  
186 8 premiers patients traités. Outre cette recherche thérapeutique cellulaire, les CSEH  
187 peuvent être utilisée pour tester des médicaments. C'est ce qui a été fait pour la  
188 maladie de Steinert avec la metformine, médicament anti diabétique qui a corrigé la  
189 dérégulation de l'épissage des ARN de cette maladie [27]. Cependant la metformine  
190 n'a pas montré d'effet réellement significatif lorsqu'elle a été testée dans un essai  
191 thérapeutique, selon l'analyse en intention de traiter [28].

192

193

194

195

196

### 197 3. Thérapie génique

#### 198 3.1 Les différentes possibilités de thérapie génique.

199 Le principe général est d'introduire dans l'organisme un acide nucléique et donc un  
200 médicament biologique en vue de réguler, remplacer, ajouter ou supprimer une  
201 séquence génétique. Cette séquence d'acide nucléique aura l'effet thérapeutique lié  
202 à l'expression génétique de ladite séquence. Les difficultés à surmonter pour une  
203 action thérapeutique sans ambiguïtés, sans effets secondaires et durables, sont  
204 nombreuses. Il faut bien sûr avoir identifié le gène responsable de la pathologie et  
205 avoir mis au point les techniques de réparation ou supplémentation génique. Les  
206 stratégies de thérapie génique sont variables selon que l'on souhaite ajouter ou  
207 remplacer un gène déficient, moduler une fonction existante (réponse immune par  
208 exemple) ou apporter une fonction nouvelle (gène suicide ou gène de résistance).  
209 L'introduction d'un gène dans l'organisme peut se faire de deux manières : -  
210 directement, in vivo : le gène thérapeutique est transféré dans un vecteur viral lequel  
211 est directement injecté dans l'organe cible ; - ou ex vivo (technique plus souvent  
212 utilisée) : des cellules souches hématopoïétiques sont prélevées chez le patient, le  
213 vecteur rétroviral contenant le gène d'intérêt est ensuite introduit dans ces cellules  
214 souches qui sont réinjectées au patient.

215 De nombreux vecteurs ont été expérimentés. Les premières générations comme les  
216 gammaretroviraux ont été abandonnés du fait d'effets secondaires et remplacés par  
217 des vecteurs mieux tolérés. Ainsi les lentivirus , vecteurs intégratifs insèrent leur ADN  
218 contenant le gène thérapeutique dans le génome de l'hôte. Les vecteurs non  
219 intégratifs, comme les adénoassociés (AAV), eux, font pénétrer le transgène dans la

220 cellule lequel ne s'intègre pas dans le génome. On décrira ici uniquement les  
221 thérapies géniques utilisant le support de la cellule souche hématopoïétique.

222

223

## 224 3.2 Les succès de la thérapie génique dans les maladies monogéniques

### 225 3.2.1 Hémophilies, bêta thalassémies, drépanocytose

226 Les pathologies qui se prêtent bien à la thérapie génique sont celles chez lesquelles  
227 le gène déficitaire est bien identifié ainsi que la substance biologique issue de son  
228 fonctionnement. Ainsi l'hémophilie est une maladie héréditaire au cours de laquelle  
229 les manifestations hémorragiques dues au déficit en Facteur VIII de la coagulation  
230 (FVIII) pour l'hémophilie A ou en Facteur IX (FIX) pour l'hémophilie B, sont  
231 directement en lien avec l'absence des gènes correspondants. On connaît leur  
232 localisation sur l'extrémité du bras long du chromosome X, ainsi que leur structure.  
233 Le traitement de l'hémophile passe par la substitution des facteurs anti  
234 hémophiliques FVIII et FIX recombinants ; ce traitement est cependant contraignant  
235 et couteux, donc possible dans les pays avec un système de santé solidaire ou  
236 disposant de compagnies d'assurance efficaces. Apporter le gène déficitaire devient  
237 une stratégie assez séduisante. Mais les difficultés existent avec le risque de ne pas  
238 avoir un gène suffisamment fonctionnel, une extinction progressive du transgène au  
239 cours du temps, une réaction immunitaire inappropriée contre le vecteur viral ou  
240 l'apparition d'anticorps dirigés contre le facteur anti hémophilique [29]. Cependant la  
241 thérapie génique reste prometteuse car l'expression du transgène même modeste  
242 avec une concentration de facteur anti hémophilique de 5 à 10% du niveau normal,  
243 suffit à protéger du risque hémorragique. A partir d'un niveau de 30% de la normale,

244 les symptômes de l'hémophilie ont totalement disparu. Après l'injection, on peut  
245 suivre l'activité du transgène par le dosage en routine du facteur anti hémophilique.  
246 Le transport du gène par le vecteur est aussi fonction de sa taille, celui du FIX avec  
247 ses 1400 nucléotides est plus facilement transportable que celui du FVIII avec ses  
248 8000 nucléotides. Plusieurs vecteurs ont d'abord été utilisés comme les rétrovirus,  
249 les adénovirus et les virus adénoassociés, ceux-ci étant directement injectés dans un  
250 muscle, ou en ciblant le foie par injection dans la veine portale. Récemment des  
251 résultats d'essais cliniques convaincants ont montré une correction remarquable des  
252 symptômes de l'hémophilie.

253 Un premier essai de phase I a été réalisé chez 6 patients recevant une injection  
254 intraveineuse unique d'un vecteur (AAV8) exprimant le transgène du facteur IX [30].  
255 L'étude étendue à 10 patients, à des doses plus importantes, a permis de réduire de  
256 90% les accidents hémorragiques sur une période de 3 ans avec un taux  
257 d'expression du facteur d'au moins 5% [31]. Plus intéressante est l'étude menée par  
258 un consortium de laboratoires Nord-Américains et Australiens associés à Spark  
259 Therapeutics, chez 10 patients ayant reçu un virus AAV contenant un ADNc variant  
260 naturel (variant Padua) avec une forte activité spécifique [32]. Après la perfusion de  
261  $5 \times 10^{11}$  génomes par Kg de poids, les niveaux plasmatiques de FIX entre 20 et 45 %  
262 du niveau normal ont permis de réduire totalement les épisodes de saignement et  
263 ceci sur une période d'observation de 12 mois. Des résultats remarquables ont aussi  
264 été obtenus dans l'hémophilie A avec un vecteur AAV5 (AAV sérotype 5) chez 9 puis  
265 15 patients à des doses croissantes de génomes viraux contenant un ADNc de  
266 facteur VIII raccourci et dont les codons optimisés ont été placés sous la direction  
267 d'un promoteur spécifique du foie [33,34]. Après 3 ans de surveillance, les taux de

268 facteurs VIII sont restés élevés, il n'y a plus eu de saignements, ni de besoins  
269 transfusionnels, et aucuns effets secondaires n'ont été observés.

270 L'utilisation d'adénovirus est généralement considérée comme sans danger car ne  
271 devant pas s'insérer dans le génome de l'hôte. Mais récemment (ASH 2019), on a  
272 observé chez 6 chiens l'insertion du matériel génétique de l'adénovirus porteur du  
273 gène de l'hémophilie B au contact de gènes jouant un rôle important dans la  
274 croissance cellulaire. Dès lors le risque de développer une tumeur est réel et  
275 renforce la nécessaire surveillance sur le long terme des patients traités.

276 La thérapie génique, par addition d'un gène de globine thérapeutique, des  
277 hémoglobinopathies sévères telles que les bêta-thalassémies et la drépanocytose  
278 s'est fortement développée avec de récents succès. Une autogreffe de cellules  
279 souches génétiquement modifiée ex vivo par un vecteur LentiGlobin, a été effectuée  
280 chez un jeune patient atteint d'une bêta thalassémie majeure avec une excellente et  
281 rapide récupération hématopoïétique et surtout une remontée du taux de  
282 l'hémoglobine lui permettant de ne pas être transfusé pendant 11 ans [35]. Un  
283 groupe plus important de 22 patients âgés de 12 à 35 ans, régulièrement transfusés,  
284 a reçu une autogreffe de cellules souches hématopoïétiques transduites par un  
285 nouveau vecteur LentiGlobin (BB305) [36]. Après un suivi médian de 26 mois (15 à  
286 42 mois), 12 des 13 patients traités pour une  $\beta^E/\beta^0$  thalassémie n'ont plus reçu de  
287 transfusions et ont un taux d'hémoglobine stable entre 8,2 et 13,7 g/dl. Les résultats  
288 sont moins bons pour les patients avec une  $\beta^0/\beta^0$  thalassémie, 3 seulement des 9  
289 patients n'étant plus transfusés. Cette thérapeutique pourra être offerte aux patients  
290 ne pouvant pas bénéficier de greffes de cellules souches hématopoïétiques,  
291 traitement qui permet d'obtenir une longue survie sans évènement de l'ordre de 78%  
292 à 81% [37].

293 La drépanocytose est aussi une indication de la greffe allogénique de cellules  
294 souches hématopoïétiques [38] avec d'excellents résultats chez les patients de  
295 moins de 13 ans et greffés avec un donneur familial HLA identique (survie de 95% à  
296 3 ans). Mais la greffe n'est possible que chez une fraction de patients (18%). Dès  
297 lors la thérapie génique devient une alternative intéressante. Un patient  
298 drépanocytaire de 13 ans a ainsi reçu une greffe de cellules souches CD34+  
299 transduites par le vecteur Lentiglobin BB305 [39]. Ce vecteur contient le gène  
300 thérapeutique de globine bêta ayant eu, par mutagénèse dirigée, son codon de  
301 l'acide aminé en position 87 de la chaîne beta modifié ( $\beta T87Q$ ). Les transfusions ont  
302 été arrêtées 3 mois après la greffe, son taux d'hémoglobine est resté stable entre 10  
303 et 12 g/dl, et son activité est normale sans traitement. Des essais cliniques sont en  
304 cours avec l'inclusion de plus de patients pour espérer confirmer cet excellent  
305 résultat initial.

### 306 3.2.2 Autres pathologies traitées par autogreffes de cellules souches et 307 thérapie génique.

308 Outre les pathologies de l'hémoglobine, l'autogreffe de cellules souches manipulées  
309 génétiquement se développe particulièrement pour des maladies héréditaires rares  
310 en pédiatrie (tableau 4). Les travaux pionniers français ont porté sur les déficits  
311 immunitaires combinés sévères liés à l'X [40], avec des résultats initiaux  
312 prometteurs. Mais 6 des 20 premiers cas traités ont ensuite développé une leucémie  
313 aigüe lymphoblastique, complication liée au rétrovirus utilisé initialement. Les  
314 nouveaux vecteurs sélectionnés ultérieurement se sont avérés efficaces et dénués  
315 d'effets secondaires [41,42]. Le déficit immunitaire combiné sévère par déficit en  
316 adénosine désaminase (DICS ADA) a été traité avec succès par greffes de cellules  
317 transfectées ; il s'agissait d'abord d'un gamma retro virus contenant le gène ADA,

318 puis ensuite par un vecteur SIN (self inactivating dans lequel les séquences  
319 « enhancers » du L TR 3' sont délétées), lequel a été approuvé par l'EMA  
320 (Strimvelis) [43,44]. Cette seconde génération de vecteurs sécurisés a aussi  
321 bénéficié à des maladies comme le syndrome de Wiskott-Aldrich, la Granulomatose  
322 Septique Chronique liée à l'X (X-CGD) ou la maladie de Fanconi [45-48].

323 Des essais sont en cours pour l'Immunodéficiência Sévère Combinée Radiosensible  
324 liée au déficit d'Artémis (RS-SCID), la myopathie myotubulaire, la maladie de Crigler-  
325 Najjar et la neuropathie optique héréditaire de Leber. Ces techniques de greffes de  
326 cellules souches transduites avec le gène d'intérêt sont aussi programmées dans la  
327 Dystrophie musculaire de Duchenne, l'amyotrophie spinale infantile, la myopathie  
328 des ceintures avec déficit en FKRP (Fukutin-Related Protein) et la glycogénose de  
329 type II ou déficit en  $\alpha$ -glucosidase acide. Si l'allogreffe de cellules souches est  
330 indiquée dans certaines maladies métaboliques, les approches par thérapie génique  
331 se développent avec succès. Ainsi la leucodystrophie métachromatique et  
332 l'adrenoleucodystrophie liée à l'X ont fait l'objet de tentative de traitement par  
333 thérapie génique [49,50] avec des résultats encourageants.

334

#### 335 4. Cellules souches hématopoïétiques et cellules CAR-T

336 Les cellules souches hématopoïétiques humaines (CSH) représentent un type de  
337 cellule médicament avec un très large panel d'utilisation. Lorsqu'on sélectionne les  
338 cellules CD34, donc des progéniteurs, elles sont un élément majeur des techniques  
339 de thérapie génique telles que décrites précédemment. Les CSH sont aussi utilisés  
340 pour le traitement des hémoglobinopathies et bien sûr pour les hémopathies, qu'il  
341 s'agisse de greffes autologues ou allogéniques.

342 L'historique de l'autogreffe de CSH et sa place dans l'arsenal thérapeutique des  
343 hémopathies malignes a été largement décrit par N.C. Gorin dans une séance  
344 récente de l'Académie [51]. Cette technique reste indiquée dans le protocole de  
345 traitement de sujets de moins de 70 ans atteints de myélome ou de lymphome du  
346 manteau. Elle est aussi indiquée en cas de rechutes de lymphome hodgkinien et non  
347 hodgkinien. Dans le traitement des leucémies aiguës myéloblastique, elle est  
348 indiquée chez les patients en première rémission, pour les leucémies à bas risque et  
349 avec une maladie résiduelle indétectable [52]. L'allogreffe reste le traitement de  
350 référence pour les leucémies aiguës myéloblastiques de l'adulte en première  
351 rémission chez ceux qui ont un risque de récurrence de 35 à 40%, en cas d'anomalies  
352 cytogénétiques péjoratives ou de myélodysplasie préexistante [53,54]. Elle est aussi  
353 indiquée dans les leucémies aiguës lymphoblastiques de l'adulte avec anomalies  
354 cytogénétiques défavorables, en cas de phénotype pré-B et chez les patients avec  
355 un taux de leucocytes élevés au diagnostic. Les cellules utilisées peuvent être  
356 d'origine familiale ou extrafamiliale, à partir de fichiers nationaux ou internationaux ;  
357 les cellules de sang de cordon peuvent aussi être utilisées [55]. Les CSH sont aussi  
358 testés dans des essais thérapeutiques pour des pathologies non tumorales,  
359 inflammatoires ou dysimmunitaires [56]. Les cellules CAR-T sont des lymphocytes T  
360 exprimant des Récepteurs Antigéniques Chimériques (ou CARs), des récepteurs  
361 artificiels conçus pour reconnaître un antigène présent à la surface des cellules  
362 tumorales. Les cellules CAR-T utilisent le système immunitaire pour détecter et  
363 éradiquer les cellules cancéreuses. Les CAR T peuvent être autologues ou  
364 allogéniques. La description de ces cellules et les résultats obtenus ont été  
365 présentés au cours d'une séance dédiée de l'Académie Nationale de Médecine [57-  
366 59]. D'exceptionnels taux de réponse ont été obtenus dans les rechutes de



367 leucémies aigües lymphoblastiques de l'enfant, et plus récemment aussi dans le  
368 myélome et les lymphomes [60-62]. Les CSH peuvent également être utilisées pour  
369 la production d'hématies *in vitro* [63]. Comme ces cellules sont spécifiques du  
370 donneur, elles ouvrent la voie à une médecine personnalisée permettant de  
371 transfuser des patients alloimmunisés ou porteurs de phénotypes rares. D'une  
372 manière générale, la production *in vitro* d'hématies pourrait pallier le manque  
373 chronique de donneurs de sang. Les hématies proviennent de cellules souches  
374 « mobilisées » à partir de la moelle, puis recueillies dans le sang périphérique après  
375 avoir été identifiées par l'antigène CD34 et, enfin, cultivées dans des milieux de  
376 culture appropriés jusqu'à leur transformation en réticulocytes. Ces réticulocytes,  
377 après purification sont transfusés et se transforment rapidement *in vivo* en hématies  
378 matures. La qualité des hématies ainsi produites est confirmée par une durée de vie  
379 et une capacité de fixation de l'oxygène sur l'hémoglobine qu'elles contiennent,  
380 équivalentes à celles des cellules natives.

381

## 382 Conclusion

383 Les cellules souches, induites, embryonnaires, CD34 sélectionnées,  
384 hématopoïétiques autologues et allogéniques, celles de sang de cordon et les  
385 cellules CAR T constituent un exceptionnel ensemble de cellules médicaments aux  
386 potentialités thérapeutiques de grand intérêt. Déjà, dans certaines indications, elles  
387 ont transformé le pronostic de maladies du sang gravissimes. Quand il s'agit de  
388 thérapie génique et que les risques oncogéniques, malgré les progrès dans la  
389 vectorisation, peuvent persister, il convient d'assurer un suivi, peut-être à vie de ces  
390 patients. De plus, la persistance d'un transgène fonctionnel sur le long terme doit être  
391 évalué, particulièrement chez les enfants quand ils arrivent à l'âge adulte. Les

392 résultats initiaux des cellules CAR T doivent être confirmés par de grands essais de  
 393 phase III et là aussi le suivi des patients est indispensable afin de détecter  
 394 d'éventuels effets secondaires (tumeurs). L'aspect économique et sociétal ne doit  
 395 être oublié : nombre de ces traitements sont particulièrement onéreux, et disponibles  
 396 uniquement dans des pays au niveau de vie élevé. Mais, par exemple pour les  
 397 hémoglobinopathies, ces traitements (thérapie génique) sont clairement intéressants  
 398 pour nombre de pays en voie de développement.

399

400

401 Tableau 1 : Lignées cellulaires induites

<b>Pathologie</b>	<b>Source d'iPSC</b>	<b>Commentaires</b>
Adrenoleucodystrophie	Fibroblaste	Traitement par thérapie génique
Maladie d'Alzheimer	Fibroblastes	
Sclérose latérale amyotrophique	Cellules sanguines mononucléées	Ingestem
Dystrophie musculaire de Becker	Fibroblastes	Ingestem
Pathologies cardiovasculaires	Fibroblaste	Syndrome QT long Arythmie ventriculaire
Syndrome de Cockayne	Fibroblastes	
Trisomie 21	Fibroblastes	Ingestem
Dystrophie musculaire de Duchenne	Fibroblastes	Ingestem
Dysautonomie familiale	Fibroblastes	
Syndrome d'ataxie et de tremblement lié à	Fibroblastes	

l'X fragile		
Maladie de Gaucher de type III	Fibroblastes	Ingestem
Maladie de Huntington	Fibroblastes	Ingestem
Diabète juvénile	Fibroblastes	Ingestem
Syndrome Leopard	Fibroblastes	
Maladie de Machado-joseph (ataxie spinocérébelleuse type 3)	Fibroblastes	
Syndrome de Lesch-Nyhan	Fibroblastes	Ingestem
Maladie de Parkinson	Fibroblastes	
Maladie de Pompe (glycogénose de type 2)	Fibroblastes	
Syndrome de Rett	Fibroblastes	
Syndrome de Prader-Willi	Fibroblastes	
Schizophrénie	Fibroblastes	
Atrophie musculaire spinale	Fibroblastes	
Syndrome de Timothy	Fibroblastes	
Amaurose congénitale de Leber	Cellules sanguines mononucléées	Ref 7
Syndrome de Swachman-Bodian-Diamond	Fibroblastes	Ref 8

402

403 \*INGESTEM : Infrastructure nationale d'ingénierie des cellules souches pluripotentes et cellules différenciées

404

405 **TABLEAU 2 : Essais thérapeutiques à partir de cellules souches embryonnaires ou induites**

Pathologie	Origine des cellules	Cellules dérivées	Sponsor Pays	Phase	Nombre de patients	Status du recrutement
DMLA	CSEH	Epithelium pigmentaire de la rétine	Astellas Inst USA	I/II	13	Terminé
DMLA	CSEH	Epithelium pigmentaire de la rétine	CHABiotech Corée	I/IIa	12	Inconnu
DMLA	CSEH	Epithelium pigmentaire de la rétine	Pfizer UK	I	10	En cours
DMLA	CSEH	Epithelium pigmentaire de la rétine	Cell Cure Neurosciences Israel	I/II	15	Inclusions
DMLA	CSEH	Epithelium pigmentaire de la rétine	Astellas Inst USA	I/II	11	En cours
DMLA	hiPS auto	Epithelium pigmentaire de la rétine	Moorfields Eye Hosp , NHS UK	I	10	Inconnu
DMLA	CSEH	Epithelium pigmentaire de la rétine	Regenerative Patch Tech USA	I/II	20	Inclusions
DMLA	CSEH	Epithelium pigmentaire de la rétine	Southwest Hospital Chine	I	15	Inclusions
DMLA	CSEH	Epithelium pigmentaire de la rétine	Chinese Academy Sciences Chine	I	10	Inclusions
DMLA	CSEH	Epithelium pigmentaire de la rétine	Université Fédérale de Sao Paulo Bresil	I/II	18	Inclusions
DMLA	CSEH	Epithelium pigmentaire de la rétine	Chinese Academy Sciences Chine	I	10	Inclusions
DMLA	CSEH	Epithelium pigmentaire de la rétine	Chinese Academy Sciences Chine	I	10	Inclusions
DMLA	hiPSC allo	Epithelium pigmentaire de la rétine	Chinese Academy Sciences Chine	I	10	Inclusions
DMLA	hiPS auto	Epithelium pigmentaire de la rétine	Riken Centre Japon	I	5	Inclusions
Dystrophie maculaire	CSEH	Epithelium pigmentaire de la rétine	Astellas Inst USA	I/II	13	Terminé
Dystrophie maculaire	CSEH	Epithelium pigmentaire de la rétine	Astellas Inst UK	I/II	12	Terminé
Dystrophie maculaire	CSEH	Epithelium pigmentaire de la rétine	CHABiotech Corée	I	3	Inconnu
Dystrophie maculaire	CSEH	Epithelium pigmentaire de la rétine	Astellas Inst USA	I/II	13	En cours
Dystrophie maculaire	CSEH	Epithelium pigmentaire de la rétine	Astellas Inst UK	I/II	11	En cours

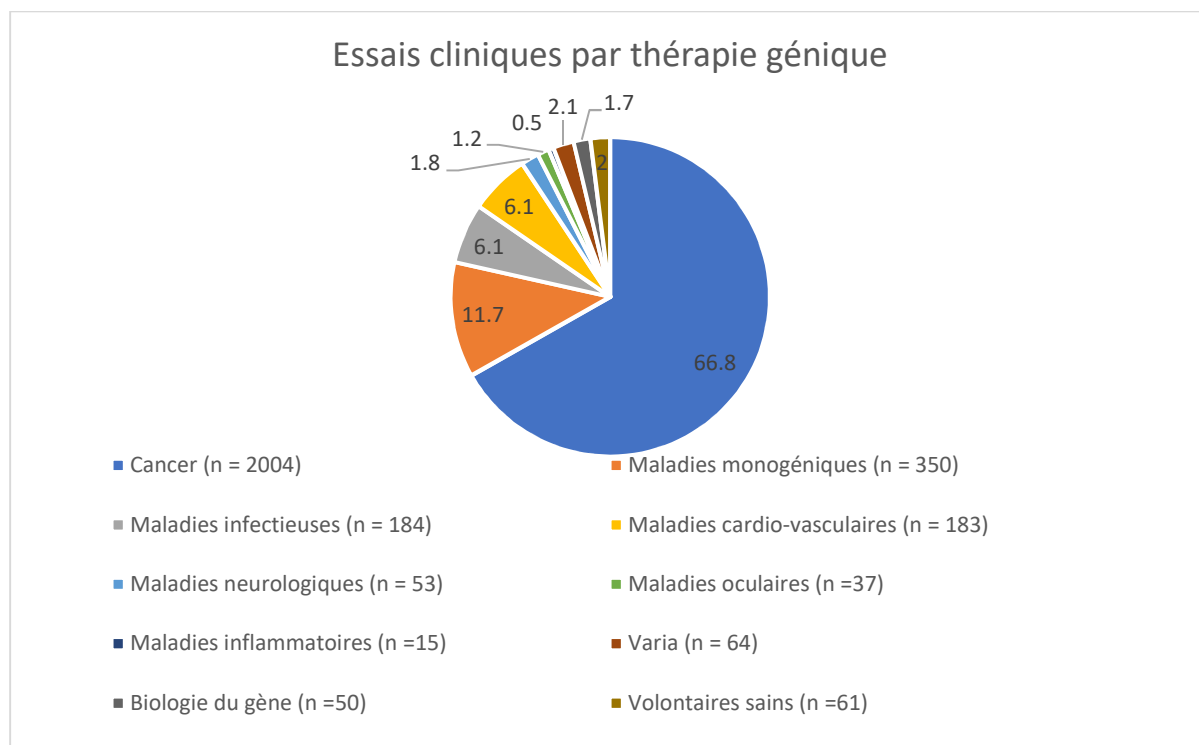
		rétine				
Parkinson	CSEH	Cellules neurales	Cytotherapeutics Australie	I	12	Inclusions
Parkinson	CSEH	Cellules neurales	Chinese Academy Sciences Chine	I/II	50	Inclusions
Parkinson	hiPSC allo	Cellules domaminergiques	Riken Centre Japon	I	1	Arrêté
Diabète type I	CSEH	Cellules $\beta$ pancreas	Viacyte USA	I	15	Inclusions
Diabète type I	CSEH	Cellules $\beta$ pancreas	Viacyte USA	I/II	55	Inclusions
Diabète type I	CSEH	Cellules $\beta$ pancreas	Viacyte USA	I/II	40	En cours
Trauma moelle	CSEH	oligodendrocytes	Asterias Bio USA	I	5	Terminé
Trauma moelle	CSEH	oligodendrocytes	Asterias Bio USA	I/II	35	Inclusions
Ischémie myocardique	CSEH	Cellules CD15+	APHP France	I	6	Inclusions
GVH	hiPSC allo	Cellules mesenchymateuses	Cynata Therapeutics Australie	I	16	Inclusions
Rétinite pigmentaire	CSEH	Epithelium de cornée	Eye Institute Univ de Xiamen Chine	I/II	20	Inclusions

406

407 DMLA : Dégénérescence liée à l'âge ; CSEH : cellules souches embryonnaires humaines ; hiPS :cellules induites  
408 pluripotentes humaines ; auto :autologues ; allo :allogéniques ; GVH : graft versus host disease

409

410 **Tableau 3 : Essais de thérapie génique dans le monde**



411  
 412 Diagramme de répartition des essais par thérapie génique dans le monde et par indication (Février 2020 ; Gene  
 413 Therapy Clinical Trials World Wide ; <http://www.abedia.com/wiley/indications.php>)

414

415

416 **TABLEAU 4 : autogreffes de cellules souches transduites**

417

Pathologies	Gène / Vecteur	Ref et commentaires
Déficit immunitaire sévère lié à l'X	-IL2RG (chaîne gamma du récepteur à l'IL2) / Rétrovirus -IL2RG / SIN vecteur (self inactivating vecteur)  -IL2RG / Lentiviral	[40] 6 leucémies chez les 20 premiers patients [41] 9 patients inclus ; 8 bonne réponse avec arrêt des antibiotiques [42] 8 enfants réponse complète sans effets secondaires
Déficit immunitaire combiné sévère par déficit en adénosine désaminase	-ADA / vecteur « Strimvelis » (SIN)	[43-44] Strimvelis : CD34+ autologues transduites par vecteur ADA+ : autorisé par EMA Vecteur codant pour ADNc de ADA 18 patients, 100% de survie ; suivi médian de 6,9 ans ( 2,3-13,4)
Syndrome de Wiskott-Aldrich	-WAS / vecteur SIN	[45] 7 patients âge 8,8 à 15 ans, 6/7 en vie ; plus d'eczéma et infections ; suivi médian 27 mois [45] 8 patients (âge 1,1-12 ans) suivi médian 3,6 ans ; 100% de réponse : moins d'infection et augmentation plaquettes
Granulomatose Septique Chronique liée à l'X	-CYBB / Lentiviral	[47] 9 patients, 2 décès 3 mois post-greffe ; 6 patients avec réponse sur les neutrophiles ; arrêt des antibiotiques à 12 mois
Anémie de Fanconi	-FANCA / Lentiviral	[48] 4 patients : acquisition de la résistance aux agents ADN cassants ; correction de l'aplasie
Leucodystrophie métachromatique	-ARSA (arylsulfatase A)/ Lentiviral	[49] 0 enfants ; suivi médian 36 mois(18-54) ; rétablissement de l'activité ADA dans cellules du sang et LCR ; amélioration de la fonction motrice et myélinisation
Adrénoleucodystrophie liée à l'X	-ABCD1 (xq28)/ LentiD (elivaldogene tavaleutirec)	[50] 17 garçons ; suivi médian 29,4 mois (21,6-42) ; production protéine ALD sur 100% des patients ; 88% de survie ; 71% stabilisation lésions neurologiques

418

419

420

421

422

423

424

425

426

427

428

429

430

431

432 L'auteur déclare ne pas avoir de liens d'intérêts.

433

434

#### 435 REFERENCES

436 [1] Yamanaka S. Strategies and new developments in the generation of patient-specific pluripotent stem cells.  
437 [Cell Stem Cells] 2007; 1:39-49

438 [2] Daley GQ, Insoo Hyun I, Apperley JF, Barker RA, Benvenisty N, Bredenoord AL, et al. Setting Global  
439 Standards for Stem Cell Research and Clinical Translation: The 2016 ISSCR Guidelines. [Stem Cell Reports]  
440 2016; 6: 787-97

441 [3] Wu SM, Hochedlinger K, Harnessing the potential of induced pluripotent stem cells for regenerative medicine.  
442 [Nat Cell Biol] 2011; 13: 497-505.

443 [34] Trounson A, DeWitt ND. Pluripotent stem cells progressing to the clinic. [Nat Rev Mol Biol] 2016; 17: 194-200.

444 [5] Sellier C, Buijsen RAM, He F, Natla S, Jung L, Tropel P et al. Translation of Expanded CGG Repeats into  
445 FMRpolyG Is Pathogenic and May Contribute to Fragile X Tremor Ataxia Syndrome. [Neuron] 2017; 93: 331-47.

446 [6] Argentati C, Tortorella I, Bazzucchi M, Morena F, Martino S. Harnessing the potential of stem cells for disease  
447 modelling: progress and promises. [J Pers Med] 2020; 10: 1-22.

448 [7] Parka H, Hanb J, Leea Y, Kwaka S, Kyung S, Kooa K. Generation of a human induced pluripotent stem cell  
449 line from a patient with Leber congenital amaurosis. [Stem Cell Research] 2020; 43: 1-4

450 [8] Park I, Arora N, Huo H, Maherali N, Ahfeldt T, Shimamura A, et al. Disease-Specific Induced Pluripotent Stem  
451 Cells. [cell] 2008; 134: 877-86

452 [9] Schlaeger TM, Daheron L, Brickler TR, Entwisle S, Chan K, Cianci A, et al. A comparison of non-integrating  
453 reprogramming methods. [Nat Biotechnol] 2015; 33:58–63.

454 [10] Griscelli F, Desterke C, Feraud O, Divers D, Oudrhiri N, Tosca L et al. Genomic landscape analyses of  
455 reprogrammed cells using integrative and non-integrative methods reveal variable cancer-associated alterations.  
456 [Oncotarget] 2019; 10: 2693-2708

457 [11] Wernig, M., et al., Neurons derived from reprogrammed fibroblasts functionally integrate into the fetal brain  
458 and improve symptoms of rats with Parkinson's disease. [Proceedings of the National Academy of Sciences of the  
459 United States of America], 2008; 105: 5856-61.

460 [12] Nori, S., et al., Grafted human-induced pluripotent stem-cell-derived neurospheres promote motor functional  
461 recovery after spinal cord injury in mice. [Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States  
462 of America] 2011; 108: 16825-30.

463 [13] Goulão M, and Lepore AC. iPS cell transplantation for traumatic spinal cord injury. [Curr Stem Cell Res Ther.]  
464 2016 ; 11: 321–28.

465 [14] Araki H, Miura F, Watanabe A, Morinaga C, Kitaoka F, Kitano Y et al. Base-Resolution Methylome of Retinal  
466 Pigment Epithelial Cells Used in the First Trial of Human Induced Pluripotent Stem Cell-Based Autologous  
467 Transplantation. [Stem Cell Reports] <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2019.08.014>

468 [15] Mandai M, Watanabe A, Kurimoto Y, Hirami Y, Morinaga C, Daimon T, et al. Autologous Induced Stem-Cell-  
469 Derived Retinal Cells for Macular Degeneration. [New Engl J Med] 2017; 376:1038-46.

470

471 [16] Cyranoski D. Reprogrammed' stem cells implanted into patient with Parkinson's disease. [Nature] [https://doi](https://doi.org/10.1038/d41586-018-07407-9)  
472 : 10.1038/d41586-018-07407-9

473 [17] Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, et al. Embryonic stem  
474 cell lines derived from human blastocysts. [Science] 1998 ;282 :1145–47.

475 [18] Reubinoff BE, Itsykson P, Turetsky T, Pera MF, Reinhartz E, Itzik A, et al. Neural progenitors from human  
476 embryonic stem cells. [Nat Biotechnol] 2001; 19:1134–40.

477 [19] Kehat I, Kenyagin-Karsenti D, Snir M, Segev H, Amit M, Gepstein A, et al. Human embryonic stem cells can  
478 differentiate into myocytes with structural and functional properties of cardiomyocytes. [J Clin Invest] 2001;  
479 108:407–14.



- 480 [20] Assady S, Maor G, Amit M, Itskovitz-Eldor J, Skorecki KL, Tzukerman M. Insulin production by human  
481 embryonic stem cells. [Diabetes] 2001;50: 1691–97.
- 482 [21] Chen G, Gulbranson DR, Hou Z, Bolin JM, Ruotti V, Probasco MD, et al. Chemically defined conditions for  
483 human iPSC derivation and culture. [Nat Methods] 2011; 8:424–29.
- 484 [22] Eguizabal C, Aran B, Chuva de Sousa Lopes SM, Geens M, Heindryckx B, Panula S et al. Two decades of  
485 embryonic stem cells: a historical overview. [Human Reproduction open] doi:10.1093/hropen/hoy024.
- 486 [23] Schwartz SD, Regillo CD, Lam BL, Elliott D, Rosenfeld PJ, Gregori NZ, et al. Human embryonic stem cell-  
487 derived retinal pigment epithelium in patients with age-related macular degeneration and Stargardt's macular  
488 dystrophy: follow-up of two open-label phase 1/2 studies. [Lancet] 2015; 385:509–16.
- 489 [24] Mehat MS, Sundaram V, Ripamonti C, Robson AG, Smith AJ, Boroah S, et al. Transplantation of human  
490 embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelial cells in macular degeneration. [Ophthalmology] 2018;  
491 125:1765–75.
- 492 [25] Menasché P, Vanneaux V, Hagège A, Bel A, Cholley B, Parouchev A et al. Transplantation of Human  
493 Embryonic Stem Cell–Derived Cardiovascular Progenitors for Severe Ischemic Left Ventricular Dysfunction.  
494 [Journal of the American College of Cardiology] 2018; 71: 429-38.
- 495 [26] El Harane N, Correa BL, Gomez I, Hocine R, Vilar J, Desgres M et al. Extracellular Vesicles from Human  
496 Cardiovascular Progenitors Trigger a Reparative Immune Response in Infarcted Hearts. [Cardiovascular  
497 Research] <https://doi-org.proxy.insermbiblio.inist.fr/10.1093/cvr/cvaa028>.
- 498 [27] Laustriat D, Gide J, Barrault L, Chautard E, Benoit C, Auboeuf D, et al. In Vitro and In Vivo modulation of  
499 alternative splicing by the biguanide metformin. Mol Ther Nucleic Acids. 2015; 4: 262. doi: 10.1038/mtna.2015.35.
- 500 [28] Bassez G, Audureau E, Hogrel JY, Arrouasse R, Baghdoyan S, Bhugaloo H et al. Improved mobility with  
501 metformin in patients with myotonic dystrophy type 1: a randomized controlled trial. [Brain] 2018; 141: 2855-65.
- 502 [29] Murphy SL, High KA. Gene therapy for haemophilia. [Br J Haematol] 2008; 140: 479-87
- 503 [30] Nathwani AC, Tuddenham EG, Rangarajan S, Rosales C, McIntosh J, David C. Lynch DC et al. Adenovirus-  
504 associated virus vector–mediated gene transfer in haemophilia B. [N Engl J Med] 2011;365:2357-65.
- 505 [31] Nathwani AC, Reiss UM, Tuddenham EGD, Rosales C, Chowdhary P, McIntosh J, et al. Long-Term Safety  
506 and Efficacy of Factor IX Gene Therapy in Hemophilia B. [N Engl J Med] 2014;371:1994-2004.
- 507 [32] George LA, Sullivan SK, Giermasz A, Rasko JEJ, Samelson-Jones BJ, J. Ducore J, et al. Hemophilia B gene  
508 therapy with a high-specific-activity factor IX variant. [N Engl J Med] 2017; 377: 2215-27.
- 509 [33] Rangarajan S, Walsh L, Lester W, Perry D, Madan B, Laffan M, et al. AAV5–Factor VIII Gene Transfer in  
510 Severe Hemophilia A. [N Engl J Med] 2017;377:2519-30
- 511 [34] Pasi KJ, Rangarajan S, Mitchell N, Lester W, Symington E, Madan B et al. Multiyear Follow-up of AAV5-  
512 hFVIII-SQ Gene Therapy for Hemophilia A. [N Engl J Med] 2020;382:29-40.
- 513 [35] Cavazzana-Calvo M, Payen E, Negre O, Wang G, Hehir K, Fusil F, et al. Transfusion independence and  
514 HMGA2 activation after gene therapy of human b-thalassaemia. [Nature] 2010; 467: 318-23.
- 515 [36] Thompson AA, Walters MC, Kwiatkowski J, Rasko JEJ, Ribeil JA, Hongeng S et al. Gene Therapy in Patients  
516 with Transfusion-Dependent  $\beta$ -Thalassemia. [N Engl J Med] 2018; 378:1479-93.
- 517 [37] Baronciani D, Angelucci E, Potschger U, Gaziev J, Yesilipek A, Zecca M et al. Hemopoietic stem cell  
518 transplantation in thalassemia: a report from the European Society for Blood and Bone Marrow Transplantation  
519 Hemoglobinopathy Registry, 2000-2010. [Bone Marrow Transplant] 2016; 51: 536-41
- 520 [38] Eapen M, Brazauskas R, Walters MC, Bernaudin F, Bo-Subait K, Fitzhugh CD et al. Effect of donor type and  
521 conditioning regimen intensity on allogeneic transplantation outcomes in patients with sickle cell disease: a  
522 retrospective multicentre, cohort study. [Lancet Hematology] 2019;6: 586-96.
- 523 [39] Ribeil JA, Hacein-Bey-Abina S, Payen E, Magnani A, Semeraro M, Magrin E, et al. Gene Therapy in a  
524 Patient with Sickle Cell Disease. [N Engl J Med] 2017; 376:848-55.
- 525 [40] Cavazzana-Calvo M, Hacein-Bey S, de Saint Basile G, Gross F, Yvon E, Nusbaum P et al. Gene Therapy of  
526 Human Severe Combined Immunodeficiency (SCID)-X1 Disease. [Sciences] 2000; 288: 669-72.
- 527 [41] Hacein-Bey-Abina S, Pai S-Y, Gaspar HB, Armant M, Berry CC, S. Blanche S et al. A modified  $\gamma$ -retrovirus  
528 vector for X-linked severe combined immunodeficiency. [N Engl J Med] 2014; 371: 1407-17.

- 529 [42] E. Mamcarz, S. Zhou, T. Lockey, H. Abdelsamed, S.J. Cross, G. Kang et al. Lentiviral Gene Therapy  
530 Combined with Low-Dose Busulfan in Infants with SCID-X1. [N Engl J Med] 2019; 380:1525-34.
- 531 [43] Cicalese MP, Ferrua F, Castagnaro L, Pajno R, Barzaghi F, Giannelli S, et al. Update on the safety and  
532 efficacy of retroviral gene therapy for immunodeficiency due to adenosine deaminase deficiency. [Blood] 2016;  
533 128:45–54.
- 534 [44] Aiuti A, Roncarolo MG, Naldini L. Gene therapy for ADA-SCID, the first marketing approval of an ex vivo  
535 gene therapy in Europe: paving the road for the next generation of advanced therapy medicinal products. [EMBO  
536 Mol Med] 2017; 9: 737-40.
- 537 [45] Hacein-Bey Abina S, Gaspar HB, Blondeau J, Caccavelli L, Charrier S, Buckland K, et al. Outcomes following  
538 gene therapy in patients with severe Wiskott-Aldrich syndrome. [JAMA] 2015 313:1550–63.
- 539 [46] Ferrua F, Cicalese MP, Galimberti S, Giannelli S, Dionisio F, Barzaghi F, et al. Lentiviral haemopoietic  
540 stem/progenitor cell gene therapy for treatment of Wiskott-Aldrich syndrome: interim results of a non-randomised,  
541 open-label, phase 1/2 clinical study. [Lancet Haematol] 2019; 6:239–53.
- 542 [47] Kohn DB, Booth C, Kang EM, Pai SY, Shaw KL, Santilli G, et al. Lentiviral gene therapy for X-linked chronic  
543 granulomatous disease. [Nature Medecine] 2020; 26:200-6.
- 544 [48] Río P, Navarro S, Wang W, Sánchez-Domínguez R, Pujol RM, Segovia JC et al. Successful engraftment of  
545 gene-corrected hematopoietic stem cells in non-conditioned patients with Fanconi anemia. [Nature Medecine]  
546 2019; 25: 1396-1401.
- 547 [49] Sessa M, Lorioli L, Fumagalli F, Acquati S, Redaelli D, Baldoli C, et al. Lentiviral haemopoietic stem-cell gene  
548 therapy in early-onset metachromatic leukodystrophy: an ad-hoc analysis of a non-randomised, open-label, phase  
549 1/2 trial. [Lancet] 2016; 388:476–87.
- 550 [50] Eichler F, Duncan C, Musolino PL, Orchard PJ, De Oliveira S, Thrasher AJ, et al. Hematopoietic stem-cell  
551 gene therapy for cerebral adrenoleukodystrophy. [N Engl J Med] 2017; 377:1630–8.
- 552 [51] Gorin NC. Hématologie et thérapie cellulaire. Historique de l'autogreffe de cellules souches  
553 hématopoïétiques : rôle actuel en hématologie. Nouveautés pour le traitement des leucémies aiguës  
554 myéloblastiques de l'adulte. [Bull Acad Ntle de Med] 2019; 203 :462-70.
- 555 [52] Ferrara F, Picardi A. Is There Still a Role for Autologous Stem Cell Transplantation for the Treatment of Acute  
556 Myeloid Leukemia? [cancers] 2020; 12:1-13.
- 557 [53] Bair SM, Brandstadter JD, Ayers EC, Stadtmauer EA. Hematopoietic stem cell transplantation for blood  
558 cancers in the era of precision medicine and immunotherapy. [Cancer] 2020 Feb 19. doi: 10.1002/cncr.32659.
- 559 [54] Loke J, Malladi R, Moss P, Craddock C. The role of allogeneic stem cell transplantation in the management  
560 of acute myeloid leukaemia: a triumph of hope and experience. [BJH] 2020; 188: 129–46
- 561 [55] Mayani H, Wagner JE, Broxmeyer HE. Cord blood research, banking, and transplantation: achievements,  
562 challenges, and perspectives. [Bone Marrow Transplantation] 2020; 55: 48–61.
- 563 [56] Sharrack B, Saccardi R, Alexander T, Badoglio M, Burman J, Farge D et al. Autologous haematopoietic stem  
564 cell transplantation and other cellular therapy in multiple sclerosis and immune-mediated neurological diseases:  
565 updated guidelines and recommendations from the EBMT Autoimmune Diseases Working Party (ADWP) and the  
566 Joint Accreditation Committee of EBMT and ISCT (JACIE). [Bone Marrow Transplantation] 2020; 55:283–306.
- 567 [57] Galetto R. Cellules CAR-T allogéniques (UCART). [Bull Acad Ntle Med] 2018 ; 202 : 1421-30
- 568 [58] Baruchel A. CAR-T cells et leucémies aiguës lymphoblastiques de l'enfant et de l'adulte [Bull Acad Ntle Med]  
569 2018 ; 202 : 1441-51
- 570 [59] Chabannon C Larghero J. Prise en charge des cellules CAR-T au sein des établissements de santé français :  
571 fabrication, distribution, et aspects réglementaires. [Bull Acad Ntle Med] 2018; 202: 1431-40.
- 572 [60] June CH, Sadelain M. Chimeric Antigen Receptor Therapy. [N Engl J Med] 2018; 379:64-73
- 573 [61] Raje N, Berdeja J, Lin Y, Siegel D, Jagannath S, Madduri D et al. Anti-BCMA CAR T-Cell Therapy bb2121 in  
574 Relapsed or Refractory Multiple Myeloma. [N Engl J Med] 2019; 380:1726-37
- 575 [62] Liu E, Marin D, Banerjee P, Macapinlac HA, Thompson P, Basar R, et al. Use of CAR-Transduced Natural  
576 Killer Cells in CD19-Positive Lymphoid Tumors.[ N Engl J Med] 2020; 382:545-53.
- 577 [63] Giarratana MC, Rouard H, Dumont A, Kiger L, Safeukui I, Le Pennec PY, Proof of principle for transfusion of  
578 in vitro-generated red blood cells. [BLOOD] 2011; 118: 5071-79.