

# **ACADÉMIE NATIONALE DE MÉDECINE**

16, RUE BONAPARTE – 75272 PARIS CEDEX 06

TÉL : 01 42 34 57 70 – FAX : 01 40 46 87 55

---

## **RAPPORT**

*au nom de la Commission I (Biologie – Immunologie – Génétique)*

### **Les banques de sang de cordon autologue**

*Autologous cord blood banks*

Michel BOUREL, Raymond ARDAILLOU

Par lettre du 23 avril 2002, la Direction Générale de la Santé (DGS) sous la signature de Mr. Pascal Penaud, adjoint au directeur général, a interrogé l'Académie Nationale de Médecine sur la constitution de banques de sang de cordon autologue « dans le cadre d'applications thérapeutiques courantes et reconnues ou dans celui de recherches sur les cellules souches » qu'il contient. Notons d'abord que l'adjectif « autologue » s'applique à l'utilisation ultérieure du sang placentaire prélevé. Une banque de sang de cordon peut, en fait, fournir des greffons pour trois types possibles de greffes : allogéniques extra-familiales les plus fréquentes, allogéniques intra-familiales lorsqu'on recherche l'identité des groupes HLA et autologues. La question posée n'est donc pas celle de la création de banques qui existent déjà, mais plutôt celle de l'utilisation possible du sang qui y est stocké en vue d'une greffe chez le donneur à un terme qui peut être éloigné.

### **ANALYSE DE LA SITUATION PRÉSENTE**

La première greffe de sang de cordon fut réalisée avec succès en 1988 chez un enfant atteint d'anémie de Fanconi par le Pr. E. Gluckman et son équipe [1]. Il s'agissait d'une greffe allogénique intra-familiale, le donneur étant la sœur dont le groupe HLA était identique à celui du receveur et qui était indemne de la maladie. Ce travail pilote fut suivi d'une série d'études de faisabilité qui aboutirent à définir des critères d'exigence et à valider la méthode comme alternative aux greffes de moelle osseuse ou de sang périphérique après mobilisation des cellules souches par des facteurs de croissance. La démonstration qu'une unité de sang placentaire collectée à la naissance était capable de repeupler à court et à long terme la moelle osseuse d'un patient conduisit à créer en 1999 le réseau français du sang placentaire sous la triple égide de l'Etablissement Français du Sang (EFS), de l'Etablissement Français des Greffes (EFG) et de la Caisse Nationale d'Assurance Maladie (CNAM) avec l'objectif de constituer une banque de 5 000 unités de sang placentaire. Il existe actuellement quatre sites en France (Paris St-Louis, Besançon, Bordeaux et Marseille) assurant les activités de prélèvement, de contrôle de qualité

et de cryoconservation initiale, et un site de conservation à long terme et de distribution des greffons validés situé à Annemasse. Le réseau français est en relation avec un réseau européen (Eurocord) qui tient le registre des greffes et définit leurs modalités, et avec un réseau mondial (Netcord) qui facilite la recherche de donneurs en fonction de leurs groupes HLA et met en place un système d'accréditation.

### **Principes de fonctionnement du système français**

Le système français s'est bâti sur une série de principes fondamentaux qu'il convient de rappeler :

#### ***L'anonymat, la gratuité et le bénévolat du don***

La parturiente est en relation uniquement avec l'équipe obstétricale. Elle reçoit une information claire et adaptée, et donne son consentement par écrit. Elle ne reçoit aucune rémunération.

#### ***L'absence totale de risque pour la mère et le nouveau né***

Seuls les accouchements à terme et sans complications peuvent être l'occasion d'un prélèvement de sang placentaire.

#### ***Le souci d'obtenir des greffons à efficacité maximale***

Dans ce but, ne sont retenues que les unités de volume égal ou supérieur à 80 ml et contenant au moins 2 millions de cellules positives pour l'antigène CD34 (antigène marqueur des progéniteurs de l'hématopoïèse). Cette exigence a pour objet d'élargir les indications de la greffe, en plus des enfants en bas âge, à des sujets de faible corpulence et, également, d'accélérer la prise de la greffe chez le receveur et, ainsi, de diminuer l'incidence des complications infectieuses. Le groupage sanguin, le typage HLA et le contrôle de stérilité sont systématiquement réalisés.

#### ***La sécurisation du greffon en matière de risque bactérien et viral***

Pour cela, un double contrôle des maladies transmissibles est effectué chez la mère au jour du prélèvement et deux mois plus tard. L'unité de sang placentaire ne peut être utilisée qu'après cette période de quarantaine. Les résultats sont transmis à l'équipe obstétricale qui pourra ainsi intervenir, le cas échéant, auprès de l'accouchée.

#### ***La conservation dans des conditions techniques assurant le long terme***

Le stockage des unités se fait uniquement dans l'azote liquide, ce qui permet d'obtenir une température optimale de  $-150/-196^{\circ}$  C indispensable au maintien de la fonctionnalité des cellules souches et assure une très grande sécurité des échantillons. Les locaux de stockage sont équipés de systèmes de contrôle et de sécurité. Le personnel en charge a reçu une formation appropriée ; il est régulièrement évalué.

#### ***La cession sur ordonnance médicale nominative avec traçabilité du greffon et suivi de la greffe***

Le transport vers le site d'utilisation doit se faire sans rupture de la chaîne du froid.

### **Applications de la greffe de sang de cordon**

### ***Les greffes allogéniques extra-familiales***

Si ces greffes sont encore peu nombreuses par rapport au total des greffes de cellules souches hématopoïétiques en provenance de la moelle ou du sang périphérique, ce nombre devrait croître du fait des avantages du sang placentaire : • il entraîne moins de réactions du greffon contre l'hôte que les greffons d'origine médullaire, du fait de l'immaturité du système immunitaire à la naissance et permet d'envisager des greffes à partir de donneurs avec une ou même deux incompatibilités HLA ;

- il fait preuve d'une grande capacité de prolifération favorisant la prise de la greffe ;
- il est indemne d'agents infectieux ;
- les donneurs potentiels sont abondants et rapidement identifiables, et une collecte diversifiée permet d'obtenir des échantillons en provenance des minorités ethniques ;
- le recueil est rapide, facile et sans danger. Le principal inconvénient est que pour assurer le succès de la greffe, le greffon doit contenir un nombre suffisant de cellules nucléées, ce qui limite le champ des receveurs aux enfants et aux sujets dont le poids est inférieur à 30 kg sauf exception (groupe HLA rare disponible uniquement en sang de cordon). Sur 3 493 greffons reçus au Centre de longue conservation d'Annemasse depuis sa création jusqu'en septembre 2002, 165 ont été détruits parce que ne réunissant pas les critères de qualité requis et 57 cédés en vue de greffes. Ce nombre devrait croître rapidement, la preuve de l'intérêt de la méthode ayant été apportée par l'analyse des registres respectifs de greffes de moelle osseuse et de sang placentaire [2].

### ***Les greffes allogéniques intra-familiales***

L'utilisation de sang de cordon pour des greffes allogéniques intra-familiales a quelques particularités. La première est qu'il s'agit d'un don dirigé. Lorsqu'il n'y a pas dans la famille de donneur de groupe HLA identique, une grossesse peut être programmée avec le risque d'instrumentalisation de l'enfant à naître, si les parents demandent le diagnostic pré-implantatoire et la sélection des embryons sur des critères de compatibilité tissulaire. Les conditions de recueil et d'utilisation du greffon sont également différentes de celles des greffons destinés à une utilisation extra-familiale. Un volume maximal est prélevé sans qu'il soit question d'imposer des critères de qualité. Même l'innocuité infectieuse du greffon peut être susceptible de dérogation. Il existe cependant, en cas de difficulté, une alternative qui est celle d'une autre modalité de prélèvement du donneur (moelle osseuse ou sang périphérique) si les circonstances le permettent. Le délai d'utilisation du sang de cordon est restreint. Le nombre de ces greffes est réduit, d'une part parce que la probabilité d'avoir un donneur HLA-identique dans la fratrie est limitée et d'autre part parce que, dans le cas des maladies malignes, l'utilisation d'un greffon de donneur non apparenté HLA-compatible permet un effet d'immunothérapie. Reste l'indication des maladies héréditaires comme la drépanocytose où la greffe familiale est quasiment toujours efficace.

### ***Les greffes autologues***

L'utilisation de sang de cordon pour des greffes autologues est essentiellement au stade de la réflexion. Les deux indications théoriques principales à discuter sont à court ou moyen terme, les leucémies de l'enfant et, à plus long terme, les maladies dégénératives de l'adulte.

Dans le cas des leucémies de l'enfant, la démonstration récente de la présence de cellules malignes dans le sang de cordon d'enfants ultérieurement atteints de leucémie, jette un doute sur le bien-fondé de la méthode [3]. En outre, l'effet

immunothérapeutique de la greffe allogénique est absent. Il en serait de même dans le cas du traitement d'une tumeur solide. Plus exceptionnellement, une greffe autologue pourrait s'envisager chez l'enfant atteint d'une anémie aplasique idiopathique acquise sans qu'on soit certain de sa supériorité par rapport à une greffe allogénique. Il est évident qu'aucune maladie héréditaire ne peut être traitée par greffe autologue si elle n'est pas associée à un transfert de gène.

Dans le cas des maladies dégénératives de l'adulte, le sang de cordon serait considéré comme une réserve de cellules souches autologues disponibles pour une différenciation ultérieure en cellules matures de diverses lignées et permettant ainsi d'envisager une thérapie cellulaire régénératrice. Il est évident que, pour faire profiter la population de cette perspective, les sites de recueil et de conservation devraient être multipliés et le temps de stockage allongé au-delà de deux décennies, c'est-à-dire à un terme où la fonctionnalité du greffon reste encore inconnue. Le coût de telles mesures serait considérable.

Il n'y a donc pas actuellement d'indication privilégiée de la greffe autologue. Il paraît préférable de considérer le sang de cordon comme d'usage public dans les limites du poids du receveur et de la compatibilité HLA et non comme une réserve patrimoniale privée d'utilisation très problématique.

## **Domaine de la recherche**

Dans de nombreux cas, les travaux de recherche pourraient s'effectuer en utilisant les unités de sang de cordons non qualifiées pour la greffe du fait d'un volume insuffisant ou d'un nombre trop faible de cellules nucléées.

Les pistes sont nombreuses dont quelques unes apparaissent envisageables :

### ***Au plan fondamental***

- une meilleure connaissance des mécanismes de l'expansion cellulaire par l'expérimentation de diverses cytokines et facteurs de croissance en vue de mettre au point des techniques d'expansion dirigée des cellules souches autologues comme source de cellules sanguines différenciées, par exemple des globules rouges compatibles en cas de besoins transfusionnels, prévisibles ou non dans l'enfance ;
- l'étude des paramètres de fonctionnalité des cellules souches du sang de cordon, c'est-à-dire de leur longévité fonctionnelle, en fonction de leur durée de conservation ;

### ***Au plan appliqué***

- dans le cas des maladies héréditaires susceptibles d'être traitées par thérapie génique, la collecte de sang de cordon fournirait des cellules souches pouvant être transduites *in vitro* avec le gène manquant, puis réinjectées au patient, évitant ainsi les prélèvements médullaires ;
- l'utilisation chez l'adulte pour une médecine régénératrice ou réparatrice, de cellules autologues spécifiquement différenciées en comparaison avec des cellules souches obtenues à l'âge adulte ou des cellules embryonnaires, ce qui nécessite la conservation de sang de cordon, à titre expérimental, dans une population ciblée par des tests de médecine prédictive (présence de gènes de prédisposition) ; une telle mesure aurait un caractère conservatoire puisqu'il est impossible de prévoir, sur une longue période, l'évolution des connaissances et des techniques.

## **CONCLUSIONS ET RÉPONSES**

Les réponses aux questions posées par la DGS relatives à la constitution de banques de sang de cordon autologue « dans le cadre d'applications courantes et reconnues ou dans le cadre de recherches sur les cellules souches » sont les suivantes :

### **Cadre d'applications thérapeutiques courantes et reconnues**

- Dans l'état actuel des connaissances : *aucune indication thérapeutique.*
- Dans l'avenir, il n'est pas impossible que des indications puissent se faire jour ; par exemple dans des familles atteintes de certaines hémopathies ou lorsque le diagnostic prénatal fournit une orientation de maladie génique.
- Il n'est pas démontré aujourd'hui que les cellules souches cryoconservées plusieurs décennies gardent leur longévité fonctionnelle.
- Par ailleurs, le coût de la constitution de telles banques serait exorbitant.
- Néanmoins, pour ne pas être privé d'un matériel éventuellement intéressant, une solution serait de réserver la cryoconservation de sang de cordon dans un but de greffe autologue à des populations ciblées (par l'existence d'affections endémiques héréditaires ou par la mise en évidence de traits génétiques prédictifs).

### **Cadre de la recherche sur les cellules souches**

#### ***Domaine juridique et réglementaire***

- *Faciliter* pour la recherche la *requalification* du sang placentaire ne réunissant pas les caractéristiques nécessaires à son utilisation pour la greffe sans qu'il soit besoin de solliciter à nouveau l'autorisation de la mère.
- Elaborer et clarifier le *statut juridique* des cellules souches du sang placentaire (organe ou tissu plutôt que déchet opératoire ou médicament).
- *Interdire l'implantation de banques commerciales privées* ayant pour objet le prélèvement et le stockage de sang de cordon pour un usage strictement autologue et interdire, en conséquence, toute démarche publicitaire dans les maternités proposant, contre paiement, le recueil et la conservation du sang placentaire pour les besoins éventuels futurs de l'enfant.

#### ***Domaine physiopathologique***

- Etudier la longévité fonctionnelle (capacité de prolifération) par comparaison des cellules du sang de cordon et des cellules souches du même sujet à l'âge adulte.
- Etudier les méthodes d'expansion cellulaire *in vitro* par l'expérimentation de batteries de cytokines et favoriser en France et/ou en Europe l'émergence d'unités de production de cytokines de grade thérapeutique (actuellement protégées par des brevets à l'étranger).

#### ***Domaine thérapeutique***

- Favoriser les recherches sur la potentialité hématopoïétique pour l'obtention, non seulement de globules rouges, mais aussi de toutes les lignées sanguines afin de suppléer à des déficits dans ces différentes lignées.
- Favoriser les recherches sur la pluripotentialité en vue d'une médecine régénératrice postulant l'étude comparative des performances des cellules de sang de cordon avec celles des cellules souches embryonnaires et des cellules souches adultes. Ce type de recherches s'inscrirait dans la logique d'une comparaison des potentialités des cellules souches aux différents âges de la vie telle que l'avaient recommandée dans un communiqué commun l'Académie nationale de médecine et l'Académie des sciences [5, 6].

\*  
\* \*

L'Académie, saisie dans sa séance du mardi **19 novembre 2002**, a adopté ce rapport à l'unanimité.

## Références

- [1] GLUCKMAN E., BROXMEYER H.A., AUERBACH A.D. et al.- Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical cord blood from an HLA-identical sibling. *New Engl. J. Med.*, 1989, 321, 1174-1178.
- [2] ROCHA V., CORNISH J., SIEVERS E.L. et al.- Comparison of outcomes of unrelated bone marrow and umbilical cord blood transplants in children with acute leukaemia. *Blood* 2001, 97, 2962-2971.
- [3] FORD A.M., BENNETT C.A., PRICE C.M. et al.- Fetal origin of the TEL-AML1 fusion gene in identical twins with leukaemia. *Proc. Natle Acad. Sci. (USA)*, 1998, 95, 4584-4588.
- [4] NEILDEZ-NGUYEN T.M.A., WAJCMAN H., MARDEN M.C. et al.- Large scale ex vivo production of immature human erythroid cells for transfusion. *Nat. Biotech.* 2002, 20: 467-472.
- [5] PELLERIN D.- Sur les cellules souches embryonnaires humaines en « médecine régénératrice ». *Bull. Acad. Natle Med.*, 2002, 186, 913-914.
- [6] Communiqué conjoint de l'Académie des sciences et de l'Académie nationale de médecine relatif à l'utilisation de cellules souches embryonnaires humaines, 10 juin 2002.

## Experts consultés

- Françoise BEAUJAN - Etablissement Français du Sang (Ile-de-France), Hôpital Henri-Mondor, 51 avenue du Maréchal de Lattre de Tassigny - 94000 Créteil.
- Marc BENBUNAN - Unité de thérapie cellulaire, Hôpital St-Louis, 1 avenue Claude-Vellefaux - 75010 Paris.
- Luc DOUAY - Service d'Hématobiologie, Hôpital Armand-Trousseau, 26 avenue du Dr. Arnold-Netter - 75012 Paris.
- Nicole COUDURIER - Etablissement Français du Sang (Rhône-Alpes), 1390 rue Centrale, Beynost - 01708 Miribel cedex.
- Eliane GLUCKMAN - Service des greffes de moelle osseuse, Hôpital St-Louis, 1 avenue Claude Vellefaux - 75010 Paris.
- Patrick HERVÉ - Etablissement Français du Sang, 100 avenue de Suffren - 75015 Paris.

Pour copie conforme,  
Le Secrétaire Perpétuel,

Professeur Louis AUQUIER