



Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID-19. The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect, the company's public news and information website.

Elsevier hereby grants permission to make all its COVID-19-related research that is available on the COVID-19 resource centre - including this research content - immediately available in PubMed Central and other publicly funded repositories, such as the WHO COVID database with rights for unrestricted research re-use and analyses in any form or by any means with acknowledgement of the original source. These permissions are granted for free by Elsevier for as long as the COVID-19 resource centre remains active.



Disponible en ligne sur

ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France

EM|consulte
www.em-consulte.com



REVUE GÉNÉRALE

Cellules humaines à usage thérapeutique : état de la question[☆]



Human cells for therapeutics purpose: State of the art

F. Guilhot

Inserm CIC 1402, CHU de Poitiers, 2, rue de la Milétrie, 86000 Poitiers, France

Reçu le 27 février 2020 ; accepté le 10 juillet 2020

MOTS CLÉS

Cellules souches ;
Thérapie génique ;
Cellules CAR-T ;
Médecine
personnalisée

KEYWORDS

Stem cells;
Gene therapy;
CAR-T cells;
Personalized
medicine

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

© 2020 l'Académie nationale de médecine. Publié par Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

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

© 2020 l'Académie nationale de médecine. Published by Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Introduction

Les cellules souches induites comme les cellules souches embryonnaires constituent des outils particulièrement utiles pour l'étude de certaines pathologies, tester des nouveaux médicaments voire même s'en servir en tant que

[☆] 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.

Adresse e-mail : fr.guilhot@wanadoo.fr

traitement et des progrès dans ce domaine ont été réalisés ces dernières années. Tout comme la thérapie génique qui, se servant des cellules souches hématopoïétiques, introduit dans l'organisme les gènes déficitaires : hémophilies, hémoglobinoopathies et déficit immunitaires sont les pathologies qui semblent bien en bénéficier de manière spectaculaire. Enfin, les greffes de cellules souches hématopoïétiques et les cellules CAR-T complètent un arsenal thérapeutique qui a fait émerger en quelques années le nouveau concept de cellule médicament.

Cellules souches induites IPS

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

Physiopathologie et lignées cellulaires

Les premiers vecteurs utilisés comportaient un risque de transformation tumorale de la cible, les gènes intégrés pouvant aussi être placés dans une région oncogénique. On utilise donc maintenant des vecteurs non intégratifs (épisomes) et la reprogrammation s'effectue selon des règles rigoureuses [2] et sans *c-Myc*, lequel comportait un risque oncogène avéré [3,4]. L'utilisation des iPS est théoriquement double : comprendre la pathologie et réparer les tissus. Ainsi, une étude française récente a permis de mieux comprendre la physiopathologie du syndrome d'ataxie et de tremblement lié à l'X fragile (FXTAS). Cette maladie neurodégénérative, incurable, comporte un déclin cognitif et des troubles de la motricité chez l'homme généralement de plus de 50 ans. On a découvert que la pathologie était liée à la répétition anormale de 3 nucléotides dans le gène *FMR1*. En utilisant des souris génétiquement modifiées et des cellules neuronales dérivées par technique iPS de fibroblastes de 3 patients, on a montré que la maladie résultait de l'expression des nucléotides en une protéine pathogène, la FMRpolyG, différente de celle normale codée par *FMR1* [5]. Il s'ouvre donc la possibilité d'utiliser cette protéine comme marqueur et de tester des molécules à visée thérapeutique. De nombreuses lignées de cellules iPS ont été constituées, particulièrement pour des maladies rares, mais aussi pour des maladies plus fréquentes (Tableau 1) [6–8]. Certaines de ces lignées sont, en France, mises à disposition pour la recherche par l'Infrastructure nationale d'ingénierie des cellules souches pluripotentes et cellules différenciées (INGESTEM).

Si l'utilisation de ces lignées est particulièrement intéressante pour étudier la physiopathologie des maladies et éventuellement tester des traitements, leur utilisation en clinique s'avère plus problématique. En effet, des risques

oncogéniques restent réels et les techniques pour transformer les cellules ont dû évoluer. Ainsi, l'utilisation d'ARNm synthétiques modifiés afin de les rendre moins immunogènes et possiblement moins dangereux sont proposés. Ces ARNm s'intègrent dans le cytosol par endocytose puis sont immédiatement traduits en protéines transformant le fibroblaste en iPS ; ils sont ensuite dégradés en 2 à 3 jours et donc par conséquent sans aucune intrusion dans le noyau. Les techniques intégratives utilisant des virus ont été comparées aux techniques non intégratives utilisant l'ARNm ou le virus Sandai. Par la technique d'hybridation génomique comparative sur micro-réseau d'ADN, il s'avère que les méthodes non intégratives entraînent significativement moins d'activation d'oncogènes [9,10] et donc moins de risques carcinologiques.

Réparation tissulaire

La réparation tissulaire a été initialement proposée dans des pathologies neurologiques utilisant des modèles animaux. Des neurones dopaminergiques dérivés de fibroblastes ont améliorés les symptômes de rats parkinsoniens [11]. Toujours dans un modèle animal de lésions de la moelle épinière, la greffe de cellules humaines différenciées a stimulé la régénération neuronale et amélioré la locomotion [12]. Mais, l'utilisation de cellules iPS pour traiter des patients avec atteinte médullaire traumatique nécessite encore de nombreuses expérimentations animales car les défis restent nombreux et les résultats dans les modèles animaux sont assez variables [13]. Les greffes nécessitent souvent une immunosuppression chez le receveur ; les cellules transplantées peuvent être un mélange de cellules neuronales mais parfois un seul type cellulaire a été transplanté (astrocytes). Dans de nombreuses situations, les cellules transplantées disparaissent après quelques semaines. Une première tentative de greffes d'iPS a été effectuée chez une femme japonaise atteinte d'une dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA). Les cellules d'épithélium pigmentaire de la rétine ont été obtenues à partir de fibroblastes de la patiente et ont persisté au moins 4 ans après la greffe [14,15]. Toujours au Japon, un patient de 50 ans, atteint d'une maladie de Parkinson, a été traité par l'injection de 2,4 millions de cellules neuronales dopaminergiques immatures dérivées de cellules iPS dans la moitié gauche du cerveau [16], début d'un essai qui devait inclure 6 autres patients. Les équipes japonaises ont dû interrompre la recherche du fait de la survenue de mutations de *p53* avec un risque de cancérisation des cellules transplantées. Des essais sont en cours pour la prévention de la réaction du greffon contre l'hôte au cours des greffes de cellules souches et dans les pathologies cardiaques (Tableau 2).

Cellules souches embryonnaires

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

Tableau 1 Lignées cellulaires induites.

Pathologie	Source d'iPSC	Commentaires
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 l'X fragile	Fibroblastes	
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	Réf [7]
Syndrome de Swachman-Bodian-Diamond	Fibroblastes	Réf [8]

INGESTEM : Infrastructure nationale d'ingénierie des cellules souches pluripotentes et cellules différenciées.

Lignées de CSEH

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

Essais cliniques impliquant des CSEH

Le **Tableau 2** décrit les essais cliniques en cours dans les traumatismes de la moelle épinière, des pathologies oculaires, la

maladie de Parkinson, des affections cardiovasculaires et le diabète de type I [22]. Les résultats de ces essais ne sont que partiellement publiés ; les informations complémentaires proviennent du congrès annuel de l'ISSCR (International Society for Stem Cell Research) et des industriels. Le premier essai de traitement des traumatismes de la moelle épinière date de 2010 ; il utilisait des oligodendrocytes, lesquels ont stimulé une néovascularisation, la sécrétion de facteur de croissance neurologique et ceci en l'absence d'effets secondaires. Plusieurs essais concernent des pathologies oculaires traitées par la transplantation d'épithélium pigmentaire rétinien avec, dans une série, l'amélioration de la vision de 17 des 18 patients inclus, là aussi sans effets secondaires [23]. Sur une autre série de patients il n'a pas été observé de phénomènes inflammatoires ou de signes de prolifération tumorale, l'amélioration de la vision étant minime [24]. En 2013, a été débuté le premier essai de phase I pour le traitement de l'insuffisance cardiaque utilisant un patch de fibrine supportant des progéniteurs cardiaques issus de CSEH [25]. Parmi les 6 patients, 2 sont décédés, une amélioration de la fonction cardiaque a été observée chez les 4 autres lesquels n'ont eu aucuns effets secondaires. Ces patients recevaient aussi de la cyclosporine en tant que traitement immunosuppresseur. Dans cette étude, l'activité des cellules transplantées aurait pu se faire par l'intermédiaire

Tableau 2 Essais thérapeutiques à partir de cellules souches embryonnaires ou induites.

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

Tableau 2 (Continued)

Pathologie	Origine des cellules	Cellules dérivées	Sponsor Pays	Phase	Nombre de patients	Statut du recrutement
Dystrophie maculaire	CSEH	Épithélium pigmentaire de la rétine	Astellas Inst USA	I/II	13	En cours
Dystrophie maculaire	CSEH	Épithélium pigmentaire de la rétine	Astellas Inst UK	I/II	11	En cours
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 dopaminergiques	Riken Centre Japon	I	1	Arrêté
Diabète type I	CSEH	Cellules β pancréas	Viacyte USA	I	15	Inclusions
Diabète type I	CSEH	Cellules β pancréas	Viacyte USA	I/II	55	Inclusions
Diabète type I	CSEH	Cellules β pancréas	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 mésenchymateuses	Cynata Therapeutics Australie	I	16	Inclusions
Rétinite pigmentaire	CSEH	Épithélium de cornée	Eye Institute Univ de Xiamen Chine	I//I	20	Inclusions

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

de vésicules extracellulaires. Ces vésicules extracellulaires des cellules progénitrices cardiaques n'entraînent pas de réactions immunitaires, diminuent l'inflammation et pourraient, elles-mêmes, devenir une thérapie acellulaire de l'insuffisance cardiaque [26]. En 2014, a été débuté un essai de phase I/II chez 65 diabétiques de type I qui utilisait une membrane semi-perméable encapsulant des cellules bêta du pancréas dérivant de CSEH (essai Viacyte). Il n'y a pas pour l'instant pas de données d'efficacité, mais les capsules implantées sous la peau n'ont pas entraîné d'effets secondaires et n'ont pas été rejetées. En 2017, une étude australienne (Cyto Therapeutics) a inclus 12 patients avec une maladie de Parkinson pour un traitement par progéniteurs neuronaux issus de CSEH. Après 6 mois, il y a eu une amélioration de la motricité et des fonctions cognitives. Des équipes japonaises utilisent actuellement des cellules induites d'épithélium pigmentaire rétinien allogéniques (iPS allo) provenant d'une banque de cellules sanguines ; elle permet la sélection des caractéristiques HLA correspondant aux haplotypes les plus fréquents de la population japonaise (études RIKEN). Les cellules souches mésenchymateuses (iPS allogéniques) sont utilisées pour le traitement de la maladie du greffon contre l'hôte après greffe de cellules souches hématopoïétiques avec, selon Cynata Therapeutics, une amélioration nette chez les 8 premiers patients traités. Outre cette recherche thérapeutique cellulaire, les CSEH peuvent être utilisées pour tester des médicaments. C'est ce qui a été fait pour la maladie de Steinert avec la metformine, médicament antidiabétique qui a corrigé la dérégulation de l'épissage des ARN de cette maladie [27]. Cependant, la metformine n'a pas montré d'effet réellement significatif lorsqu'elle a été testée dans un essai thérapeutique, selon l'analyse en intention de traiter [28].

Thérapie génique

Les différentes possibilités de thérapie génique

Le principe général est d'introduire dans l'organisme un acide nucléique et donc un médicament biologique en vue de réguler, remplacer, ajouter ou supprimer une séquence génétique. Cette séquence d'acide nucléique aura l'effet thérapeutique lié à l'expression génétique de ladite séquence. Les difficultés à surmonter pour une action thérapeutique sans ambiguïtés, sans effets secondaires et durables, sont nombreuses. Il faut bien sûr avoir identifié le gène responsable de la pathologie et avoir mis au point les techniques de réparation ou supplémentation génique. Les stratégies de thérapie génique sont variables selon que l'on souhaite ajouter ou remplacer un gène déficient, moduler une fonction existante (réponse immune par exemple) ou apporter une fonction nouvelle (gène suicide ou gène de résistance). L'introduction d'un gène dans l'organisme peut se faire de deux manières : — directement, in vivo : le gène thérapeutique est transféré dans un vecteur viral lequel est directement injecté dans l'organe cible ; — ou ex vivo (technique plus souvent utilisée) : des cellules souches hématopoïétiques sont prélevées chez le patient, le vecteur rétroviral contenant le gène d'intérêt est ensuite introduit dans ces cellules souches qui sont réinjectées au patient (Fig. 1).

De nombreux vecteurs ont été expérimentés. Les premières générations comme les gammaretroviraux ont été abandonnés du fait d'effets secondaires et remplacés par des vecteurs mieux tolérés. Ainsi, les lentivirus, vecteurs intégratifs insèrent leur ADN contenant le gène thérapeutique dans le génome de l'hôte. Les vecteurs non intégratifs, comme les adénoassociés (AAV), eux, font pénétrer le transgène dans la cellule lequel ne s'intègre pas dans le génome. On décrira ici uniquement les thérapies géniques utilisant le support de la cellule souche hématopoïétique.

Les succès de la thérapie génique dans les maladies monogéniques

Hémophilies, bêta-thalassémies, drépanocytose

Les pathologies qui se prêtent bien à la thérapie génique sont celles chez lesquelles le gène déficitaire est bien identifié ainsi que la substance biologique issue de son fonctionnement. Ainsi, l'hémophilie est une maladie héréditaire au cours de laquelle les manifestations hémorragiques dues au déficit en facteur VIII de la coagulation (FVIII) pour l'hémophilie A ou en facteur IX (FIX) pour l'hémophilie B, sont directement en lien avec l'absence des gènes correspondants. On connaît leur localisation sur l'extrémité du bras long du chromosome X, ainsi que leur structure. Le traitement de l'hémophile passe par la substitution des facteurs antihémophiliques FVIII et FIX recombinants ; ce traitement est cependant contraignant et coûteux, donc possible dans les pays avec un système de santé solidaire ou disposant de compagnies d'assurance efficaces. Apporter le gène déficitaire devient une stratégie assez séduisante. Mais, les difficultés existent avec le risque de ne pas avoir un gène suffisamment fonctionnel, une extinction progressive du transgène au cours du temps, une réaction immunitaire inappropriée contre le vecteur viral ou l'apparition d'anticorps dirigés contre le facteur antihémophilique [29]. Cependant, la thérapie génique reste prometteuse car l'expression du transgène même modeste avec une concentration de facteur antihémophilique de 5 à 10 % du niveau normal suffit à protéger du risque hémorragique. À partir d'un niveau de 30 % de la normale, les symptômes de l'hémophilie ont totalement disparu. Après l'injection, on peut suivre l'activité du transgène par le dosage en routine du facteur antihémophilique. Le transport du gène par le vecteur est aussi fonction de sa taille, celui du FIX avec ses 1400 nucléotides est plus facilement transportable que celui du FVIII avec ses 8000 nucléotides. Plusieurs vecteurs ont d'abord été utilisés comme les rétrovirus, les adénovirus et les virus adénoassociés, ceux-ci étant directement injectés dans un muscle, ou en ciblant le foie par injection dans la veine portale. Récemment, des résultats d'essais cliniques convaincants ont montré une correction remarquable des symptômes de l'hémophilie.

Un premier essai de phase I a été réalisé chez 6 patients recevant une injection intraveineuse unique d'un vecteur (AAV8) exprimant le transgène du facteur IX [30]. L'étude étendue à 10 patients, à des doses plus importantes, a permis de réduire de 90 % les accidents hémorragiques sur une période de 3 ans avec un taux d'expression du facteur d'au moins 5 % [31]. Plus intéressante est l'étude menée par un consortium de laboratoires nord-américains et australiens

Essais cliniques par thérapie génique

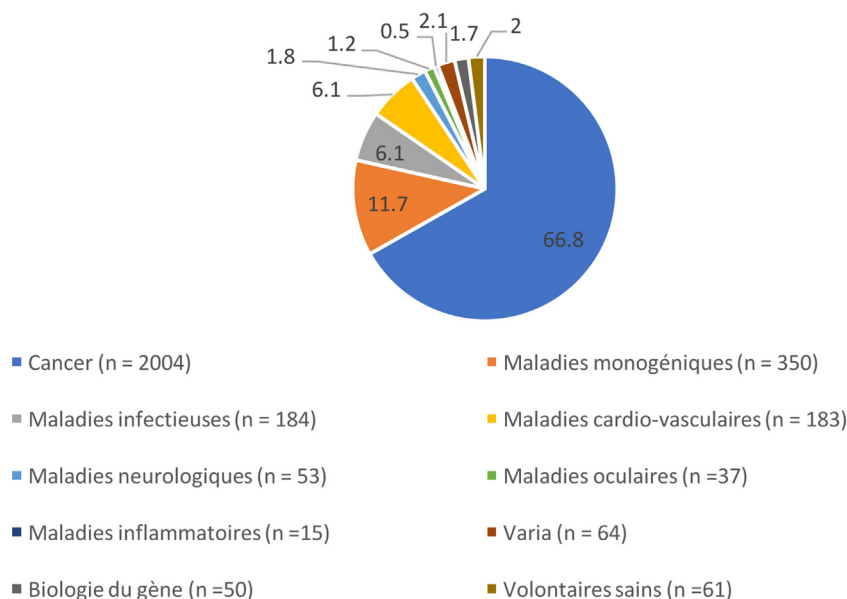


Figure 1 Essais de thérapie génique dans le monde. Diagramme de répartition des essais par thérapie génique dans le monde et par indication (février 2020 ; Gene Therapy Clinical Trials World Wide ; <http://www.abedia.com/wiley/indications.php>).

associés à Spark Therapeutics, chez 10 patients ayant reçu un virus AAV contenant un ADnc variant naturel (variant Padua) avec une forte activité spécifique [32]. Après la perfusion de 5×10^{11} génomes par kg de poids, les niveaux plasmatiques de FIX entre 20 et 45 % du niveau normal ont permis de réduire totalement les épisodes de saignement et ceci sur une période d'observation de 12 mois. Des résultats remarquables ont aussi été obtenus dans l'hémophilie A avec un vecteur AAV5 (AAV sérotype 5) chez 9 puis 15 patients à des doses croissantes de génomes viraux contenant un ADnc de facteur VIII raccourci et dont les codons optimisés ont été placés sous la direction d'un promoteur spécifique du foie [33,34]. Après 3 ans de surveillance, les taux de facteurs VIII sont restés élevés, il n'y a plus eu de saignements, ni de besoins transfusionnels, et aucuns effets secondaires n'ont été observés.

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

La thérapie génique, par addition d'un gène de globine thérapeutique, des hémoglobinopathies sévères telles que les bêta-thalassémies et la drépanocytose s'est fortement développée avec de récents succès. Une autogreffe de cellules souches génétiquement modifiée ex vivo par un vecteur LentiGlobin a été effectuée chez un jeune patient atteint d'une bêta-thalassémie majeure avec une excellente et rapide récupération hématopoïétique et surtout une remontée du taux de l'hémoglobine lui permettant de ne pas être transfusé pendant 11 ans [35]. Un groupe plus important de

22 patients âgés de 12 à 35 ans, régulièrement transfusés, a reçu une autogreffe de cellules souches hématopoïétiques transduites par un nouveau vecteur LentiGlobin (BB305) [36]. Après un suivi médian de 26 mois (15 à 42 mois), 12 des 13 patients traités pour une β^E/β^0 -thalassémie n'ont plus reçu de transfusions et ont un taux d'hémoglobine stable entre 8,2 et 13,7 g/dL. Les résultats sont moins bons pour les patients avec une β^0/β^0 -thalassémie, 3 seulement des 9 patients n'étant plus transfusés. Cette thérapeutique pourra être offerte aux patients ne pouvant pas bénéficier de greffes de cellules souches hématopoïétiques, traitement qui permet d'obtenir une longue survie sans événement de l'ordre de 78 à 81 % [37].

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

Autres pathologies traitées par autogreffes de cellules souches et thérapie génique

Outre les pathologies de l'hémoglobine, l'autogreffe de cellules souches manipulées génétiquement se développe

Tableau 3 Autogreffes de cellules souches transduites.

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 (<i>self-inactivating</i> vecteur) IL2RG/Lentiviral	[40] 6 leucémies chez les 20 premiers patients [41] 9 patients inclus ; 8 bonnes réponses avec arrêt des antibiotiques [42] 8 enfants réponse complète sans effets secondaires
Déficit immunitaire combiné sévère par déficit en adénosine désaminase Syndrome de Wiskott-Aldrich	ADA/vecteur « Strimvelis » (SIN) WAS/vecteur 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) [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 Anémie de Fanconi	CYBB/Lentiviral FANCA/Lentiviral	[47] 9 patients, 2 décès 3 mois post-greffe ; 6 patients avec réponse sur les neutrophiles ; arrêt des antibiotiques à 12 mois [48] 4 patients : acquisition de la résistance aux agents ADN cassants ; correction de l'aplasie
Leucodystrophie métachromatique	ARSA (arylsulfatase A)/ Lentiviral	[49] 0 enfant ; suivi médian 36 mois (18–54) ; rétablissement de l'activité ADA dans cellules du sang et LCR ; amélioration de la fonction motrice et remyélinisation
Adrénoleucodystrophie liée à l'X	ABCD1 (xq28)/ LentiD (elivaldogene tavaletirec)	[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

particulièrement pour des maladies héréditaires rares en pédiatrie (Tableau 3). Les travaux pionniers français ont porté sur les déficits immunitaires combinés sévères liés à l'X [40], avec des résultats initiaux prometteurs. Mais 6 des 20 premiers cas traités ont ensuite développé une leucémie aiguë lymphoblastique, complication liée au rétrovirus utilisé initialement. Les nouveaux vecteurs sélectionnés ultérieurement se sont avérés efficaces et dénués d'effets secondaires [41,42]. Le déficit immunitaire combiné sévère par déficit en adénosine désaminase (DICS ADA) a été traité avec succès par greffes de cellules transfectées ; il s'agissait d'abord d'un gamma retro virus contenant le gène ADA, puis ensuite par un vecteur SIN (*self-inactivating* dans lequel les séquences « *enhancers* » du L TR 3' sont délétées), lequel a été approuvé par l'EMA (Strimvelis) [43,44]. Cette seconde génération de vecteurs sécurisés a aussi bénéficié à des maladies comme le syndrome de Wiskott-Aldrich, la granulomatose septique chronique liée à l'X (X-CGD) ou la maladie de Fanconi [45–48].

Des essais sont en cours pour l'immunodéficience sévère combinée radiosensible liée au déficit d'Artémis (RS-SCID), la myopathie myotubulaire, la maladie de Crigler-Najjar et la neuropathie optique héréditaire de Leber. Ces techniques de greffes de cellules souches transduites avec le gène d'intérêt sont aussi programmées dans la dystrophie musculaire de Duchenne, l'amyotrophie spinale infantile, la myopathie des ceintures avec déficit en FKRP (Fukutin-Related Protein) et la glycogénose de type II ou déficit en α -glucosidase acide. Si l'allogreffe de cellules souches est indiquée dans certaines maladies métaboliques,

les approches par thérapie génique se développent avec succès. Ainsi, la leucodystrophie métachromatique et l'adrénoleucodystrophie liée à l'X ont fait l'objet de tentative de traitement par thérapie génique [49,50] avec des résultats encourageants.

Cellules souches hématopoïétiques et cellules CAR-T

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

L'historique de l'autogreffe de CSH et sa place dans l'arsenal thérapeutique des hémopathies malignes a été largement décrit par N.C. Gorin dans une séance récente de l'Académie [51]. Cette technique reste indiquée dans le protocole de traitement de sujets de moins de 70 ans atteints de myélome ou de lymphome du manteau. Elle est aussi indiquée en cas de rechutes de lymphome hodgkinien et non hodgkinien. Dans le traitement des leucémies aiguës myéloblastique, elle est indiquée chez les patients en première rémission, pour les leucémies à bas risque et avec une maladie résiduelle indétectable [52]. L'allogreffe reste le traitement de référence pour les leucémies aiguës

myéloblastiques de l'adulte en première rémission chez ceux qui ont un risque de récurrence de 35 à 40 %, en cas d'anomalies cytogénétiques péjoratives ou de myélodysplasie préexistante [53,54]. Elle est aussi indiquée dans les leucémies aiguës lymphoblastiques de l'adulte avec anomalies cytogénétiques défavorables, en cas de phénotype pré-B et chez les patients avec un taux de leucocytes élevés au diagnostic. Les cellules utilisées peuvent être d'origine familiale ou extrafamiliale, à partir de fichier nationaux ou internationaux ; les cellules de sang de cordon peuvent aussi être utilisées [55]. Les CSH sont aussi testés dans des essais thérapeutiques pour des pathologies non tumorales, inflammatoires ou dysimmunitaires [56]. Les cellules CAR-T sont des lymphocytes T exprimant des récepteurs antigéniques chimériques (ou CARs), des récepteurs artificiels conçus pour reconnaître un antigène présent à la surface des cellules tumorales. Les cellules CAR-T utilisent le système immunitaire pour détecter et éradiquer les cellules cancéreuses. Les CAR-T peuvent être autologues ou allogéniques. La description de ces cellules et les résultats obtenus ont été présentés au cours d'une séance dédiée de l'Académie nationale de médecine [57–59]. D'exceptionnels taux de réponse ont été obtenus dans les rechutes de leucémies aiguës lymphoblastiques de l'enfant, et plus récemment aussi dans le myélome et les lymphomes [60–62]. Les CSH peuvent également être utilisées pour la production d'hématies in vitro [63]. Comme ces cellules sont spécifiques du donneur, elles ouvrent la voie à une médecine personnalisée permettant de transfuser des patients allo-immunisés ou porteurs de phénotypes rares. D'une manière générale, la production in vitro d'hématies pourrait pallier le manque chronique de donneurs de sang. Les hématies proviennent de cellules souches « mobilisées » à partir de la moelle, puis recueillies dans le sang périphérique après avoir été identifiées par l'antigène CD34 et, enfin, cultivées dans des milieux de culture appropriés jusqu'à leur transformation en réticulocytes. Ces réticulocytes, après purification sont transfusés et se transforment rapidement in vivo en hématies matures. La qualité des hématies ainsi produites est confirmée par une durée de vie et une capacité de fixation de l'oxygène sur l'hémoglobine qu'elles contiennent, équivalentes à celles des cellules natives.

Conclusion

Les cellules souches, induites, embryonnaires, CD34 sélectionnées, hématopoïétiques autologues et allogéniques, celles de sang de cordon et les cellules CAR-T constituent un exceptionnel ensemble de cellules médicaments aux potentialités thérapeutiques de grand intérêt. Déjà, dans certaines indications, elles ont transformé le pronostic de maladies du sang gravissimes. Quand il s'agit de thérapie génique et que les risques oncogéniques, malgré les progrès dans la vectorisation, peuvent persister, il convient d'assurer un suivi, peut-être à vie de ces patients. De plus, la persistance d'un transgène fonctionnel sur le long terme doit être évaluée, particulièrement chez les enfants quand ils arrivent à l'âge adulte. Les résultats initiaux des cellules CAR-T doivent être confirmés par de grands essais de phase III et là aussi le suivi des patients est indispensable afin de détecter d'éventuels effets secondaires (tumeurs). L'aspect

économique et sociétal ne doit être oublié : nombre de ces traitements sont particulièrement onéreux, et disponibles uniquement dans des pays au niveau de vie élevé. Mais, par exemple pour les hémoglobinopathies, ces traitements (thérapie génique) sont clairement intéressants pour nombre de pays en voie de développement.

Déclaration de liens d'intérêts

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

Références

- [1] Yamanaka S. Strategies and new developments in the generation of patient-specific pluripotent stem cells. *Cell Stem Cells* 2007;1:39–49.
- [2] Daley GQ, Insoo Hyun I, Apperley JF, Barker RA, Benvenisty N, Bredenoord AL, et al. Setting global standards for stem cell research and clinical translation: the 2016 ISSCR guidelines. *Stem Cell Rep* 2016;6:787–97.
- [3] Wu SM, Hochedlinger K. Harnessing the potential of induced pluripotent stem cells for regenerative medicine. *Nat Cell Biol* 2011;13:497–505.
- [4] Trounson A, DeWitt ND. Pluripotent stem cells progressing to the clinic. *Nat Rev Mol Biol* 2016;17:194–200.
- [5] Sellier C, Buijsen RAM, He F, Natla S, Jung L, Tropel P, et al. Translation of expanded CGG repeats into FMRpolyG is pathogenic and may contribute to fragile X tremor ataxia syndrome. *Neuron* 2017;93:331–47.
- [6] Argentati C, Tortorella I, Bazzucchi M, Morena F, Martino S. Harnessing the potential of stem cells for disease modelling: progress and promises. *J Pers Med* 2020;10:1–22.
- [7] Parka H, Hanb J, Leea Y, Kwaka S, Kyung S, Kooa K. Generation of a human induced pluripotent stem cell line from a patient with Leber congenital amaurosis. *Stem Cell Res* 2020;43:1–4.
- [8] Park I, Arora N, Huo H, Maherali N, Ahfeldt T, Shimamura A, et al. Disease-specific induced pluripotent stem cells. *Cell* 2008;134:877–86.
- [9] Schlaeger TM, Daheron L, Brickler TR, Entwisle S, Chan K, Cianci A, et al. A comparison of non-integrating reprogramming methods. *Nat Biotechnol* 2015;33:58–63.
- [10] Griscelli F, Desterke C, Feraud O, Divers D, Oudrhiri N, Tosca L, et al. Genomic landscape analyses of reprogrammed cells using integrative and non-integrative methods reveal variable cancer-associated alterations. *Oncotarget* 2019;10:2693–708.
- [11] Wernig M, et al. Neurons derived from reprogrammed fibroblasts functionally integrate into the fetal brain and improve symptoms of rats with Parkinson's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:5856–61.
- [12] Nori S, et al. Grafted human-induced pluripotent stem-cell-derived neurospheres promote motor functional recovery after spinal cord injury in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011;108:16825–30.
- [13] Goulão M, Lepore AC. iPS cell transplantation for traumatic spinal cord injury. *Curr Stem Cell Res Ther* 2016;11:321–8.
- [14] Araki H, Miura F, Watanabe A, Morinaga C, Kitaoka F, Kitano Y, et al. Base-resolution methylome of retinal pigment epithelial cells used in the first trial of human induced pluripotent stem cell-based autologous transplantation. *Stem Cell Rep* 2019;761–74, <http://dx.doi.org/10.1016/j.stemcr.2019.08.014>.
- [15] Mandai M, Watanabe A, Kurimoto Y, Hirami Y, Morinaga C, Daimon T, et al. Autologous induced stem-cell-derived retinal cells for macular degeneration. *New Engl J Med* 2017;376:1038–46.

- [16] Cyaranoski D. Reprogrammed' stem cells implanted into patient with Parkinson's disease. *Nature* 2018;555:428–30, <http://dx.doi.org/10.1038/d41586-018-07407-9>.
- [17] Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998;282:1145–7.
- [18] Reubinoff BE, Itsykson P, Turetsky T, Pera MF, Reinhartz E, Itzik A, et al. Neural progenitors from human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol* 2001;19:1134–40.
- [19] Kehat I, Kenyagin-Karsenti D, Snir M, Segev H, Amit M, Gepstein A, et al. Human embryonic stem cells can differentiate into myocytes with structural and functional properties of cardiomyocytes. *J Clin Invest* 2001;108:407–14.
- [20] Assady S, Maor G, Amit M, Itskovitz-Eldor J, Skorecki KL, Tzokerman M. Insulin production by human embryonic stem cells. *Diabetes* 2001;50:1691–7.
- [21] Chen G, Gulbranson DR, Hou Z, Bolin JM, Ruotti V, Probasco MD, et al. Chemically defined conditions for human iPSC derivation and culture. *Nat Methods* 2011;8:424–9.
- [22] Eguizabal C, Aran B, Chuva de Sousa Lopes SM, Geens M, Heindryckx B, Panula S, et al. Two decades of embryonic stem cells: a historical overview. *Human Reprod Open* 2019, <http://dx.doi.org/10.1093/hropen/hoy024>.
- [23] Schwartz SD, Regillo CD, Lam BL, Eliott D, Rosenfeld PJ, Gregori NZ, et al. Human embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelium in patients with age-related macular degeneration and Stargardt's macular dystrophy: follow-up of two open-label phase 1/2 studies. *Lancet* 2015;385:509–16.
- [24] Mehat MS, Sundaram V, Ripamonti C, Robson AG, Smith AJ, Borooah S, et al. Transplantation of human embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelial cells in macular degeneration. *Ophthalmology* 2018;125:1765–75.
- [25] Menasché P, Vanneaux V, Hagège A, Bel A, Cholley B, Parouchev A, et al. Transplantation of human embryonic stem cell–derived cardiovascular progenitors for severe ischemic left ventricular dysfunction. *J Am College Cardiol* 2018;71:429–38.
- [26] El Harane N, Correa BL, Gomez I, Hocine R, Vilar J, Desgres M, et al. Extracellular vesicles from human cardiovascular progenitors trigger a reparative immune response in infarcted hearts. *Cardiovasc Res* 2019, <http://dx.doi.org/10.1093/cvr/cvaa028>.
- [27] Laustriat D, Gide J, Barrault L, Chautard E, Benoit C, Auboeuf D, et al. In vitro and in vivo modulation of alternative splicing by the biguanide metformin. *Mol Ther Nucleic Acids* 2015;4:262, <http://dx.doi.org/10.1038/mtna.2015.35>.
- [28] Bassez G, Audureau E, Hogrel JY, Arrouasse R, Baghdoyan S, Bhugaloo H, et al. Improved mobility with metformin in patients with myotonic dystrophy type 1: a randomized controlled trial. *Brain* 2018;141:2855–65.
- [29] Murphy SL, High KA. Gene therapy for haemophilia. *Br J Haematol* 2008;140:479–87.
- [30] Nathwani AC, Tuddenham EG, Rangarajan S, Rosales C, McIntosh J, David C, et al. Adenovirus-associated virus vector–mediated gene transfer in haemophilia B. *N Engl J Med* 2011;365:2357–65.
- [31] Nathwani AC, Reiss UM, Tuddenham EGD, Rosales C, Chowdary P, McIntosh J, et al. Long-term safety and efficacy of factor IX gene therapy in hemophilia B. *N Engl J Med* 2014;371:1994–2004.
- [32] George LA, Sullivan SK, Giermasz A, Rasko JEJ, Samelson-Jones BJ, Ducore J, et al. Hemophilia B gene therapy with a high-specific-activity factor IX variant. *N Engl J Med* 2017;377:2215–27.
- [33] Rangarajan S, Walsh L, Lester W, Perry D, Madan B, Laffan M, et al. AAV5–Factor VIII gene transfer in severe hemophilia A. *N Engl J Med* 2017;377:2519–30.
- [34] Pasi KJ, Rangarajan S, Mitchell N, Lester W, Symington E, Madan B, et al. Multiyear follow-up of AAV5-hFVIII-SQ gene therapy for hemophilia A. *N Engl J Med* 2020;382:29–40.
- [35] Cavazzana-Calvo M, Payen E, Negre O, Wang G, Hehir K, Fusil F, et al. Transfusion independence and HMGA2 activation after gene therapy of human β -thalassaemia. *Nature* 2010;467:318–23.
- [36] Thompson AA, Walters MC, Kwiatkowski J, Rasko JEJ, Ribeil JA, Hongeng S, et al. Gene therapy in patients with transfusion-dependent β -thalassemia. *N Engl J Med* 2018;378:1479–93.
- [37] Baronciani D, Angelucci E, Potschger U, Gaziev J, Yesilipek A, Zecca M, et al. Hemopoietic stem cell transplantation in thalassaemia: a report from the European Society for Blood and Bone Marrow Transplantation Hemoglobinopathy Registry, 2000–2010. *Bone Marrow Transplant* 2016;51:536–41.
- [38] Eapen M, Brazauskas R, Walters MC, Bernaudin F, Bo-Subait K, Fitzhugh CD, et al. Effect of donor type and conditioning regimen intensity on allogeneic transplantation outcomes in patients with sickle cell disease: a retrospective multicentre, cohort study. *Lancet Haematol* 2019;6:586–96.
- [39] Ribeil JA, Hacein-Bey-Abina S, Payen E, Magnani A, Semeraro M, Magrin E, et al. Gene therapy in a patient with sickle cell disease. *N Engl J Med* 2017;376:848–55.
- [40] Cavazzana-Calvo M, Hacein-Bey S, de Saint Basile G, Gross F, Yvon E, Nusbaum P, et al. Gene therapy of human severe combined immunodeficiency (SCID)-X1 disease. *Sciences* 2000;288:669–72.
- [41] Hacein-Bey-Abina S, Pai S-Y, Gaspar HB, Armant M, Berry CC, Blanche S, et al. A modified γ -retrovirus vector for X-linked severe combined immunodeficiency. *N Engl J Med* 2014;371:1407–17.
- [42] Mamcarz E, Zhou S, Lockey T, Abdelsamed H, Cross SJ, Kang G, et al. Lentiviral gene therapy combined with low-dose busulfan in infants with SCID-X1. *N Engl J Med* 2019;380:1525–34.
- [43] Cicalese MP, Ferrua F, Castagnaro L, Pajno R, Barzaghi F, Giannelli S, et al. Update on the safety and efficacy of retroviral gene therapy for immunodeficiency due to adenosine deaminase deficiency. *Blood* 2016;128:45–54.
- [44] Aiuti A, Roncarolo MG, Naldini L. Gene therapy for ADA-SCID, the first marketing approval of an ex vivo gene therapy in Europe: paving the road for the next generation of advanced therapy medicinal products. *EMBO Mol Med* 2017;9:737–40.
- [45] Hacein-Bey Abina S, Gaspar HB, Blondeau J, Caccavelli L, Charrier S, Buckland K, et al. Outcomes following gene therapy in patients with severe Wiskott-Aldrich syndrome. *JAMA* 2015;313:1550–63.
- [46] Ferrua F, Cicalese MP, Galimberti S, Giannelli S, Dionisio F, Barzaghi F, et al. Lentiviral haemopoietic stem/progenitor cell gene therapy for treatment of Wiskott-Aldrich syndrome: interim results of a non-randomised, open-label, phase 1/2 clinical study. *Lancet Haematol* 2019;6:239–53.
- [47] Kohn DB, Booth C, Kang EM, Pai SY, Shaw KL, Santilli G, et al. Lentiviral gene therapy for X-linked chronic granulomatous disease. *Nat Med* 2020;26:200–6.
- [48] Río P, Navarro S, Wang W, Sánchez-Domínguez R, Pujol RM, Segovia JC, et al. Successful engraftment of gene-corrected hematopoietic stem cells in non-conditioned patients with Fanconi anemia. *Nat Med* 2019;25:1396–401.
- [49] Sessa M, Lorioli L, Fumagalli F, Acquati S, Redaelli D, Baldoli C, et al. Lentiviral haemopoietic stem-cell gene therapy in early-onset metachromatic leukodystrophy: an ad-hoc analysis of a non-randomised, open-label, phase 1/2 trial. *Lancet* 2016;388:476–87.
- [50] Eichler F, Duncan C, Musolino PL, Orchard PJ, De Oliveira S, Thrasher AJ, et al. Hematopoietic stem-cell gene therapy for cerebral adrenoleukodystrophy. *N Engl J Med* 2017;377:1630–8.

- [51] Gorin NC. Hématologie et thérapie cellulaire. Historique de l'autogreffe de cellules souches hématopoïétiques : rôle actuel en hématologie. Nouveautés pour le traitement des leucémies aiguës myéloblastiques de l'adulte. *Bull Acad Natl Med* 2019;203:462–70.
- [52] Ferrara F, Picardi A. Is there still a role for autologous stem cell transplantation for the treatment of acute myeloid leukemia? *Cancers* 2020;12:1–13.
- [53] Bair SM, Brandstadter JD, Ayers EC, Stadtmauer EA. Hematopoietic stem cell transplantation for blood cancers in the era of precision medicine and immunotherapy. *Cancer* 2020;126:1837–55, <http://dx.doi.org/10.1002/cncr.32659>.
- [54] Loke J, Malladi R, Moss P, Craddock C. The role of allogeneic stem cell transplantation in the management of acute myeloid leukaemia: a triumph of hope and experience. *BJH* 2020;188:129–46.
- [55] Mayani H, Wagner JE, Broxmeyer HE. Cord blood research, banking, and transplantation: achievements, challenges, and perspectives. *Bone Marrow Transplant* 2020;55:48–61.
- [56] Sharrack B, Saccardi R, Alexander T, Badoglio M, Burman J, Farge D, et al. Autologous haematopoietic stem cell transplantation and other cellular therapy in multiple sclerosis and immune-mediated neurological diseases: updated guidelines and recommendations from the EBMT Autoimmune Diseases Working Party (ADWP) and the Joint Accreditation Committee of EBMT and ISCT (JACIE). *Bone Marrow Transplant* 2020;55:283–306.
- [57] Galetto R. Cellules CAR-T allogéniques (UCART). *Bull Acad Natl Med* 2018;202:1421–30.
- [58] Baruchel A. CAR-T cells et leucémies aiguës lymphoblastiques de l'enfant et de l'adulte. *Bull Acad Natl Med* 2018;202:1441–51.
- [59] Chabannon C, Larghero J. Prise en charge des cellules CAR-T au sein des établissements de santé français : fabrication, distribution, et aspects réglementaires. *Bull Acad Natl Med* 2018;202:1431–40.
- [60] June CH, Sadelain M. Chimeric antigen receptor therapy. *N Engl J Med* 2018;379:64–73.
- [61] Raje N, Berdeja J, Lin Y, Siegel D, Jagannath S, Madduri D, et al. Anti-BCMA CAR T-cell therapy bb2121 in relapsed or refractory multiple myeloma. *N Engl J Med* 2019;380:1726–37.
- [62] Liu E, Marin D, Banerjee P, Macapinlac HA, Thompson P, Basar R, et al. Use of CAR-transduced natural killer cells in CD19-positive lymphoid tumors. *N Engl J Med* 2020;382:545–53.
- [63] Giarratana MC, Rouard H, Dumont A, Kiger L, Safeukui I, Le Pennec PY. Proof of principle for transfusion of in vitro-generated red blood cells. *Blood* 2011;118:5071–9 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21885599BLOOD>.