

Saint-Denis, le 21 septembre 2023

Avis du Conseil d'orientation : les modèles embryonnaires

Composition du groupe de réflexion :

Chantal Bruno, Hélène Letur, Rachel Lévy, Christiane Therry ; Eric Bieth, Alain de Broca, Marc Delpech, Jean-François Guérin (rédacteur de l'avis)

Conseillers scientifiques : Samuel Arrabal et Nicolas Rivron

Contexte

En France, à ce jour, la recherche sur l'embryon humain est soumise à un régime d'autorisation, avec avis du Conseil d'orientation, qui doit apprécier plusieurs critères, en particulier : la pertinence scientifique, l'existence d'une finalité médicale, l'absence d'alternative à l'utilisation d'embryons humains, et le respect des principes éthiques fondamentaux. Depuis la loi de bioéthique du 2 août 2021, les protocoles de recherche sur les cellules souches embryonnaires humaines (CSEh) ou les cellules souches pluripotentes induites (iPS) s'inscrivant dans certaines finalités définies par la loi sont soumis à déclaration auprès de l'Agence de la biomédecine qui sollicite obligatoirement son Conseil d'orientation pour avis. Les protocoles de recherche sur les CSEh ou les iPS ayant pour finalité « l'obtention de modèles de développement embryonnaire *in vitro* », aussi appelés « embryoides » entrent dans cette disposition.

La mise au point de tels modèles de développement embryonnaire est récente, les premières publications dans ce domaine datent de 2014 (1); les progrès se sont accélérés au cours des dernières années, avec la publication de la constitution d'embryoides murins et humains (2–4). Depuis le début de l'année 2023, le Conseil d'orientation a déjà été saisi pour donner un avis sur des protocoles concernant les embryoides humains.

Il est ainsi apparu nécessaire de se poser certaines questions et de tenter d'y répondre. En voici une liste non exhaustive et dont les principaux éléments ont été mentionnés par un collectif de chercheurs il y a quelques années (5) :

- Les modèles d'embryons doivent-ils être considérés éthiquement et juridiquement comme des embryons humains, aujourd'hui ou à l'avenir, et selon quels critères ?
- Quelles sont les applications de la recherche impliquant des modèles d'embryons humains qui sont *a priori* inacceptables d'un point de vue éthique ?
- Faut-il fixer un stade de développement limite aux modèles d'embryons humains ?
- Les formulaires d'information aux couples désirant donner leurs embryons à la recherche doivent-ils être révisés pour tenir compte de ces nouveaux axes de recherche ?
- Faut-il un consentement spécifique de la part des personnes qui ont donné des cellules somatiques avec l'objectif de constituer des cellules iPS qui peuvent être utilisées pour générer des modèles d'embryon humain ?

Dans ce préambule, le Conseil d'orientation insiste sur le fait que les réflexions et avis que l'on peut donner aujourd'hui ne sont valables qu'en considérant l'état actuel des connaissances et ne le seront probablement plus demain. Les réflexions devront évoluer en fonction de l'évolution des techniques.

Les repères scientifiques

La terminologie : L'*International Society for Stem Cell Research* (ISSCR), a préféré le terme de « modèle embryonnaire » à celui d'« embryon synthétique » parfois utilisé (6, 7). Il a pour équivalence le mot « embryoïde », qui sera principalement utilisé dans ce texte.

Depuis les débuts de la fécondation *in vitro* et jusqu'à une époque récente, la durée de culture des embryons humains était limitée techniquement à 7 jours à partir de la fécondation ; cependant, elle a pu être prolongée en 2016 suite à la mise au point de dispositifs permettant de les cultiver au-delà de cette période d'une semaine, jusqu'aux jours 12-13 (8-10). Toutefois ces embryons se désorganisent progressivement et ne reflètent pas le stade développemental du jour 13 ; néanmoins les protocoles s'améliorent de façon constante, notamment grâce aux expérimentations sur des embryons de singe (11).

Les embryoïdes ou modèles embryonnaires sont obtenus à partir de l'auto-organisation tri-dimensionnelle de CSEH ou de cellules iPS complémentées ou non par des cellules souches reflétant les tissus extra-embryonnaires. On peut ainsi créer *in vitro* des modèles de développement embryonnaire avec différents degrés de complétude et reflétant différents stades du développement. Certains modèles miment le développement au stade de la gastrulation (consistant en la mise en place du mésoderme, le troisième feuillet du disque chez les vertébrés qui débute dans l'espèce humaine autour du 15^{ème} jour du développement embryonnaire). Ces modèles ont été développés chez la souris (12-14) et chez l'homme (15-17) : on parlera alors généralement de « gastruloïdes ». Ces structures sont incomplètes comparées aux embryons au même stade, car la partie antérieure du corps (celle qui formera *in fine* la tête et le cerveau) ainsi que les annexes extra-embryonnaires, en particulier le trophoblaste, lignée de cellules à l'origine du placenta, sont absentes (15). D'autres modèles murins sont constitués par l'agrégation de CSE en combinaison avec des cellules souches des tissus extra-embryonnaires normalement destinés à former le placenta et le sac vitellin (18). Ces modèles murins ont démontré la capacité de se développer jusqu'à un stade correspondant environ au tiers de la gestation (19, 20). D'autres modèles ont permis, en agrégeant des cellules souches précurseurs respectivement de l'embryon et de ses annexes, de reconstituer un modèle complet de l'embryon pré- ou post implantatoire murin (21-24) puis humain (25-30), appelé généralement « blastoïde » en référence au « blastocyste » qui caractérise le stade de l'embryon humain entre le 5^{ème} et le 6^{ème} jour de développement. Chez la souris, ces blastoïdes sont capables de s'implanter dans l'endomètre, avec une fréquence de 20% (31), mais ils subissent une désorganisation *in vivo* et aucun fœtus n'a été formé jusqu'à présent. Précisons, sur le plan de la terminologie, que ces modèles (blastoïdes, gastruloïdes, etc...) représentent différents embryoïdes, terme générique.

Les chercheurs distinguent ainsi deux types de modèles concernant les embryoïdes (32) :

- Modèles non intégrés : Il est admis, dans l'état actuel des connaissances, que, même après amélioration des protocoles, ces modèles ne pourront acquérir la capacité de former un embryon complet car il leur manque certains tissus embryonnaires et/ou extra-embryonnaires.
- Modèles intégrés : Ils forment toutes les parties embryonnaires et au moins une partie des différentes annexes extra-embryonnaires (lignée trophoblastique et lignée de l'endoderme primitif) suffisantes pour qu'il soit admis, en l'état actuel des connaissances, qu'après amélioration des protocoles ils pourraient acquérir la capacité de former un fœtus, voire un nouveau-né. Ces modèles intégrés, lorsqu'ils sont complets (blastoïdes) peuvent en effet s'implanter dans un utérus (chez la souris) ou dans des couches de cellules d'endomètre (chez l'humain) et ainsi initier un début de développement post implantatoire.

L'état de la législation au plan international

Au niveau européen, peu de pays souhaitent légiférer à ce jour, à l'exception des Pays Bas (*l'embryo Act* en cours de rédaction s'intéresse à la définition légale des embryons et embryoïdes, et veut préciser les durées de culture autorisées). La plupart des pays se réfèrent aux recommandations émises par l'ISSCR qui constituent une référence pour les chercheurs du monde entier, particulièrement dans les pays où les recherches sur l'embryon et les CSEh ne sont pas encadrées par la loi. La dernière édition des recommandations éthiques de l'ISSCR (6) mentionne que les modèles, dans l'état actuel de la science, ne doivent pas être considérés comme des embryons ni d'un point de vue biologique ni d'un point de vue légal. L'ISSCR distingue trois catégories de recherche : celles qui ne posent pas de problème éthique, celles qui nécessitent des points de vigilance, et celles qui doivent être interdites. La dernière édition des recommandations éthiques de l'ISSCR a inclus les deux catégories de modèles (intégrés et non-intégrés) afin de suggérer une gradation du poids éthique. Les recherches concernant les modèles intégrés doivent recevoir un aval des comités d'éthique alors que les recherches concernant les modèles non-intégrés doivent seulement être notifiées à ces mêmes comités. Ces recommandations éthiques ont aussi inclus dans le chapitre « recherche interdite » le transfert de modèles humains dans des utérus, qu'ils soient humains ou animaux, ou leur mise en combinaison avec des explants d'utérus. D'autre part, les modèles embryonnaires étant formés à partir de cellules souches et ne nécessitant pas la destruction récurrente d'embryons, ils sont souvent présentés comme une alternative éthique à l'usage des embryons pour la recherche.

La question de la durée de culture des embryons humains à ne pas dépasser n'est pas nouvelle, puisqu'au Royaume Uni, la *Human Fertilisation Embryology Authority* (HFEA) s'était positionnée dès 1984 en désignant l'embryon de moins de 14 jours par le terme de « pré-embryon » (terminologie abandonnée depuis), une position qui faisait suite aux conclusions du rapport du comité présidé par Mary Warnock (1984). Ainsi la législation britannique avait pu qualifier de criminel le fait de poursuivre des recherches sur un embryon au-delà du 14^{ème} jour, et ce faisant elle anticipait aussi l'avenir, car, à cette époque, aucune équipe ne pouvait cultiver les embryons humains au-delà de 7 jours, correspondant au stade de l'éclosion du blastocyste hors de sa zone pellucide. Récemment, la dernière édition des recommandations éthiques de l'ISSCR a levé l'interdiction de culture des embryons humains au-delà de 14 jours, et a renvoyé les équipes aux juridictions propres à leur pays. Néanmoins, il existe toujours un certain consensus pour maintenir la règle des 14 jours à ne pas dépasser, puisqu'une quinzaine de pays l'ont adopté dans leurs lois (dont la France dans la loi de bioéthique du 2 août 2021) ou dans leurs recommandations. On peut cependant noter qu'au Royaume-Uni et aux Pays Bas, les discussions sont avancées et favorables à une extension, et qu'aux Etats-Unis, l'autorisation est déjà donnée dans l'état de New York pour cultiver les embryons au-delà de cette limite. De même, en Asie (Chine, Japon) la perception de l'embryon diffère de celle de beaucoup de pays, notamment européens, et une extension de la culture embryonnaire au-delà de la période de 14 jours pourrait s'envisager d'un point de vue socio-culturel.

La fixation d'une limite revêt toujours un côté arbitraire, néanmoins cette règle des 14 jours s'est fondée sur deux événements embryologiques : (i) c'est à partir du 15^{ème} jour qu'apparaît la ligne primitive au sein de l'épiblaste (un des feuillets du disque embryonnaire didermique), qui va entraîner la gastrulation (mise en place du mésoderme, troisième feuillet du disque) et quelques jours plus tard l'apparition de la plaque neurale (précurseur du tissu nerveux). (ii) Cette date du 14^{ème} jour marque la limite au-delà de laquelle l'embryon ne plus se scinder pour donner des jumeaux monozygotes.

Comme mentionné plus haut, cette limite de 14 jours ne concerne pas les embryoïdes, au sujet desquels il n'existe aucune limitation en France, dans l'état actuel de la législation. Au niveau international, la plupart des pays considèrent que leur encadrement réglementaire doit être identique à celui des CSEh, ce qui exclut la définition *a priori* d'une durée limite de culture. Seule l'Australie assimile les recherches sur les modèles embryonnaires à celles sur les embryons, avec un encadrement plus strict.

Sur quelles considérations éthiques peut-on s'appuyer ?

Tout d'abord, la question de l'**intérêt scientifique des recherches** dans ce domaine doit être posée. On peut y répondre par l'affirmative, car ces embryoïdes ouvrent pour la première fois la possibilité de connaître et mieux comprendre le début du développement de l'embryon humain. On peut qualifier de « boîte noire » la période qui s'étend de la fin de la deuxième semaine au début du deuxième mois, période à partir de laquelle les recherches peuvent être menées à partir d'embryons issus d'interruption de grossesse. De nombreuses applications biomédicales peuvent être envisagées : meilleure efficience des techniques d'assistance médicale à la procréation ; essais pharmacologiques et toxicologiques ; meilleure compréhension des anomalies du développement et des avortements précoces, avec possibilité d'un traitement préventif; mise au point de thérapies cellulaires, etc (33). De plus, comme mentionné plus haut, ces embryoïdes représentent sur le plan éthique une alternative intéressante, car en tant que modèles, et tant qu'ils ne sont pas considérés comme des embryons, ils évitent aux chercheurs d'avoir à expérimenter sur des embryons humains destinés à être détruits au terme de l'expérimentation.

Le « statut » des embryoïdes peut être considéré de différentes manières :

- 1. Position restrictive : Les embryoïdes ne sont pas des embryons, mais les techniques vont s'améliorer et l'objectif est de parvenir à une équivalence. Par conséquent, les recherches sur les embryoïdes doivent d'ores et déjà être encadrées de la même manière que les recherches sur l'embryon.
- 2. Position permissive : Les embryoïdes ne sont pas des embryons, ce sont des amas cellulaires. Aucun encadrement spécifique ne devrait être envisagé, les règles étant les mêmes que celles encadrant toute recherche sur lignées cellulaires.
- 3. Position intermédiaire : Les embryoïdes ne sont pas des embryons, mais ils modélisent le développement embryonnaire précoce et permettent des avancées scientifiques et médicales. Ils méritent donc un encadrement spécifique qui doit être plus souple que celui concernant la recherche sur l'embryon, mais plus strict que celui concernant la recherche sur les lignées de cellules classiques. Cette position intermédiaire est soutenue par de nombreux embryologistes ainsi que des sociétés savantes dont l'ISSCR. C'est également celle adoptée par le Conseil d'orientation.

Il est intéressant de noter qu'on retrouve dans ces trois positions une affirmation commune : **les embryoïdes ne doivent pas être considérés comme des embryons encore à ce jour**. Actuellement, la distinction est facile à faire car ces embryoïdes ne peuvent aboutir à un développement à terme chez la souris (22, 24, 31). Cependant, on peut supposer qu'au vu des progrès scientifiques rapides observés dans ce domaine, les embryoïdes animaux auront acquis dans un futur proche des propriétés qui ne permettront plus de les distinguer des embryons conçus naturellement (test de Turing ¹ réussi).

¹ du nom d'un mathématicien qui a défini en 1950 des critères permettant de distinguer -ou non- l'intelligence artificielle générée par un ordinateur et la pensée humaine

Le Conseil d'orientation s'accorde sur le fait que même si on se trouve dans cette situation, **les embryoides humains, par essence, ne peuvent pas être équivalents à des embryons**, pour deux raisons :

- **L'origine** de la genèse de ces structures : ces modèles étant formés à partir de cellules souches (CSE ou iPS), ils n'ont pas pour origine une conception naturelle aboutissant à la formation d'un zygote, à l'issue du processus de fécondation consistant en la réunion de deux génomes haploïdes portés chacun par les gamètes parentaux. *Précisons qu'il ne s'agit pas non plus d'une technique de clonage, reconnue et interdite par la loi comme permettant de concevoir des embryons humains.*
- **L'intentionnalité** : L'embryon est jugé comme tel car il fait partie d'un projet parental initial, même dans le cadre des embryons donnés à la recherche. Cette intentionnalité n'est pas présente dans le cas des embryoides. On pourrait objecter le fait que l'embryon donné pour la recherche est désormais dépourvu de projet parental, et a ainsi perdu son statut de personne en devenir selon les termes du Comité consultatif national d'éthique (34); cependant, il y a bien eu un projet parental initial : celui de concevoir un enfant.

Le parallèle qu'on est en permanence amené à effectuer entre embryoides et embryons, nous impose de nous interroger sur le **statut de l'embryon humain**.

Cette question se pose depuis longtemps, et aucune réponse satisfaisante n'a pu être apportée, car elle renvoie à une question fondamentale : à quel moment l'embryon peut-il être considéré comme une personne humaine ? Les réponses sont éminemment variables selon les cultures, les positions religieuses, etc. On peut notamment distinguer trois positions :

- l'embryon dès sa conception, doit être considéré comme étant une personne humaine.
- l'embryon a un statut qui évolue en fonction de son degré de développement.
- le statut de l'embryon dépend du projet parental : il est considéré comme une personne en devenir tant qu'il en fait partie. On peut noter que la législation française va dans ce sens, puisqu'un embryon peut être détruit ou donné à la recherche lorsqu'il ne fait plus l'objet d'un projet parental, exprimé ainsi par ses géniteurs.

Du point de vue biologique, on peut dire que le zygote (produit de la fécondation) a toutes les potentialités biologiques pour évoluer en embryon, qui ensuite devient fœtus à la fin de la 8^{ème} semaine (car on considère que l'organogenèse est achevée dans ses grandes lignes), lequel évolue jusqu'à la naissance. Le développement, du zygote à la naissance, constitue ainsi un continuum, dont toute segmentation revêt un caractère artificiel.

Le CCNE a défini dans un de ses premiers avis l'embryon comme une « personne humaine potentielle » (34); cependant, dans un avis plus récent, il considère que définir un statut pour l'embryon est impossible (35).

Le Comité éthique de l'INSERM, dans une note rédigée en 2019 (36), a considéré que « l'embryon est une personne humaine potentielle » et que les embryoides, que le Comité désigne par la périphrase *modèles embryonnaires à usage scientifique*, « le seront aussi s'ils ont le potentiel de se développer en des personnes » .

Sur quels critères éthiques s'appuyer pour réguler les embryôides? Le Conseil d'orientation, outre les principes éthiques fondamentaux à considérer selon les philosophies politiques sur lesquelles les sociétés se fondent, reprend ici à son compte plusieurs principes, aussi édictés par l'ISSCR, qui apparaissent importants à respecter :

Le principe de proportionnalité impose d'évaluer la balance « bénéfices/risques » relative aux objectifs de recherches proposées.

Le principe de subsidiarité impose de choisir les moyens strictement nécessaires pour atteindre les objectifs poursuivis.

Le principe de précaution préconise, en l'absence de connaissances scientifiques dûment établies, l'adoption de mesures effectives et proportionnées, afin de prévenir des dommages graves et irréversibles.

On a décrit plus haut l'intérêt scientifique de ces recherches, incluant la pertinence scientifique entre la première semaine et le deuxième mois du développement, l'existence de finalités médicales, et l'absence d'alternatives expérimentales. Les risques encourus lors de la culture de ces modèles sont plus difficiles à évaluer, néanmoins on peut considérer que, dans l'état actuel de la science, plus le développement du modèle en culture est avancé, plus ces modèles dérivent par rapport au développement physiologique de l'embryon (26, 29). Or si cette dérive devient trop importante, le modèle perd sa pertinence et ainsi son utilité scientifique et médicale. Les demandes d'autorisation de cultiver des modèles pour une période développementale déterminée doivent donc être discutées en fonction de la pertinence du modèle pendant cette période. Par conséquent, l'extension de la durée de culture d'un modèle doit être justifiée par sa capacité à modéliser fidèlement et efficacement la période biologique investiguée.

Le principe de subsidiarité indique qu'une question se doit d'être abordée et résolue en utilisant les moyens qui sont les plus en adéquation avec les objectifs recherchés. Par exemple, si une recherche a pour but de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans la morphogenèse du cœur, alors elle doit se focaliser sur la formation de la structure minimale nécessaire pour répondre à la question : un organoïde cardiaque, et non un embryon.

La question du consentement à la recherche doit être posée, dans le sens d'une actualisation des formulaires donnant une information la plus éclairée possible aux couples ou aux femmes seules désireux de donner leurs embryons à la recherche, ainsi qu'aux personnes acceptant de donner des cellules somatiques avec l'objectif de générer des cellules iPS ; en effet les embryôides peuvent être constitués à partir de deux sources de cellules :

- Les CSEh : dérivées à partir de la masse cellulaire interne d'un blastocyste
- Les cellules iPS : dérivées à partir de cellules somatiques d'une personne

Synthèse

Les progrès scientifiques spectaculaires concernant la genèse des embryoïdes au cours des dernières années, permettent d'envisager que chez l'animal, ces embryoïdes pourraient acquérir dans le futur des propriétés qui les assimileront à des embryons, avec la possibilité de donner naissance à des animaux viables. Il existe actuellement un consensus international pour interdire le transfert d'embryoïdes humains dans un utérus humain ou animal (6, 32). Le Conseil d'orientation considère que les embryoïdes permettent des avancées scientifiques et médicales justifiant leur usage dans le cadre de la recherche fondamentale et appliquée. Le Conseil d'orientation souligne cependant les risques de dérive, avec la nécessité de mettre en place une régulation afin de prévenir tout risque de comportement non éthique.

Le Conseil d'orientation considère que **les modèles embryonnaires ou embryoïdes humains ne peuvent pas, par essence, être équivalents à des embryons à ce jour**, pour deux raisons:

-**L'origine** de la genèse de ces structures : à partir de cellules souches (CSEh ou iPS), et non pas une conception naturelle : fécondation consistant en la réunion de deux génomes haploïdes portés chacun par les gamètes parentaux.

-**L'intentionnalité** : projet parental initial dans le cadre des embryons donnés à la recherche, ce qui n'est pas le cas pour les embryoïdes.

L'avis du Conseil d'orientation concerne les embryoïdes, mais l'amène à formuler un avis sur la durée de culture des embryons humains, dont la loi actuelle a fixé la limite de 14 jours. Le Conseil d'orientation n'est pas favorable à une extension de cette durée, même si les progrès scientifiques le permettent, puisqu'au-delà les chercheurs disposent des embryoïdes, qui pourront être cultivés sur une plus longue période. **Il est proposé d'autoriser les recherches sur des embryoïdes intégrés, notamment les plus complets (e.g. blastoides), jusqu'à un stade de développement équivalent au 28^{ème} jour du développement de l'embryon naturel, avec arrêt complet de toute expérimentation au-delà de ce stade.** Ces recherches permettraient ainsi de réduire considérablement cette période de la « boîte noire » qui va actuellement du 14^{ème} jour jusqu'au début du deuxième mois. Il n'est pas justifié de cultiver ces modèles intégrés au-delà de 28 jours, car dans l'état actuel de la science, ces modèles dérivent par rapport au développement physiologique et perdent donc leur pertinence et leur utilité scientifique et médicale. Par ailleurs, au-delà de ce premier mois, il existe des modèles alternatifs qui rendent l'usage de ces modèles les plus complets inutiles selon le principe de subsidiarité. Par exemple, on peut utiliser des modèles embryonnaires incomplets (e.g non intégrés) qui concerneraient uniquement le développement d'un organe ou d'un ensemble d'organes.

On peut s'interroger sur les risques inhérents à la prolongation de la culture des embryoïdes jusqu'au stade de 28 jours. Outre l'intérêt scientifique déjà évoqué, on peut noter que ce stade ne correspond qu'au tout début de l'organogenèse. Ainsi, le cerveau est au stade « trois vésicules » et le cortex cérébral n'apparaît et ne se développe que plus tardivement. Il est difficile de préciser la période d'apparition du ressenti de la douleur, voire de la conscience, mais les données actuelles la situent au-delà de la 20^{ème} semaine, plutôt vers la 24^{ème}.

Néanmoins, ces considérations n'excluent pas la nécessité d'une vigilance proportionnellement accrue pour les protocoles proposant des expérimentations sur des embryoïdes ayant plus de 14 jours de développement, leurs auteurs devant fournir une justification argumentée pour cette prolongation.

Le Conseil d'orientation considère que les risques de dérives liées à des exploitations commerciales des embryoïdes et de leurs éléments dérivés (cellules, tissus ou organes) doivent constituer un point de vigilance. Les embryoïdes humains doivent être utilisés exclusivement pour des objectifs de recherche scientifique. **Leur implantation *in vivo* doit demeurer proscrite, en conformité avec les recommandations**

de l'ISSCR.

Concernant la législation de ces modèles embryonnaires, le Conseil d'orientation propose au législateur de considérer la recherche selon une troisième voie spécifique, entre celle concernant les CSE et les cellules iPS, qui serait trop permissive, et celle concernant les embryons, qui serait trop contraignante.

Enfin, la question du consentement à la recherche doit être revisitée, dans le sens d'une actualisation des formulaires d'information et de consentement donnés et remplis par les couples ou les femmes seules désireux de donner leurs embryons à la recherche, ou les personnes acceptant de donner des cellules somatiques avec l'objectif de générer des cellules iPS.

Bibliographie

1. Warmflash A, Sorre B, Etoc F, Siggia ED, Brivanlou AH. A method to recapitulate early embryonic spatial patterning in human embryonic stem cells. *Nature Methods*. Août 2014; 11(8):847–854.
2. Burgaud M, Bretin B, Reignier A, Vos J de, David L. Du nouveau dans les modèles d'étude de l'embryon humain. *Med Sci*. Fév 2023; 39(2):129–136.
3. Niemann H, Seemark B. Blastoids: a new model for human blastocyst development. *Signal Transduct Target Ther*. Juin 2021; 6(1):2p.
4. Luijckx D, Shankar V, van Blitterswijk C, Giselbrecht S, Vrij E. From Mice to Men: Generation of Human Blastocyst-Like Structures In Vitro. *Front Cell Dev Biol*. Mars 2022; 10:21p.
5. Rivron N, Pera M, Rossant J, Martinez Arias A, Zernicka-Goetz M, Fu J et al. Debate ethics of embryo models from stem cells. *Nature*. Déc 2018; 564(7735):183–185.
6. Lovell-Badge R, Anthony E, Barker RA, Bubela T, Brivanlou AH, Carpenter M et al. ISSCR Guidelines for Stem Cell Research and Clinical Translation: The 2021 update. *Stem Cell Reports*. Juin 2021; 16(6):1398–1408.
7. Rivron N, Martinez Arias A, Pera MF, Moris N, M'hamdi HI. An ethical framework for human embryology with embryo models. *Cell*. Août 2023; 186(17):3548–3557.
8. Deglincerti A, Croft GF, Pietila LN, Zernicka-Goetz M, Siggia ED, Brivanlou AH. Self-organization of the in vitro attached human embryo. *Nature*. Mai 2016; 533(7602):251–254.
9. Shahbazi MN, Jedrusik A, Vuoristo S, Recher G, Hupalowska A, Bolton V et al. Self-organization of the human embryo in the absence of maternal tissues. *Nat Cell Biol*. Juin 2016; 18(6):700–708.
10. Xiang L, Yin Y, Zheng Y, Ma Y, Li Y, Zhao Z et al. A developmental landscape of 3D-cultured human pre-gastrulation embryos. *Nature*. Janv 2020; 577(7791):537–542.
11. Zhai J, Xu Y, Wan H, Yan R, Guo J, Skory R et al. Neurulation of the cynomolgus monkey embryo achieved from 3D blastocyst culture. *Cell*. Mai 2023; 186(10):2078–2091.
12. Baillie-Johnson P, van den Brink SC, Balayo T, Turner DA, Martinez Arias A. Generation of Aggregates of Mouse Embryonic Stem Cells that Show Symmetry Breaking, Polarization and Emergent Collective Behaviour In Vitro. *J Vis Exp*. Nov 2015; (105):10p.
13. Beccari L, Moris N, Girgin M, Turner DA, Baillie-Johnson P, Cossy A-C et al. Multi-axial self-organization properties of mouse embryonic stem cells into gastruloids. *Nature*. Oct 2018; 562(7726):272–276.
14. van den Brink SC, Baillie-Johnson P, Balayo T, Hadjantonakis A-K, Nowotschin S, Turner DA et al. Symmetry breaking, germ layer specification and axial organisation in aggregates of mouse embryonic stem cells. *Development*. Nov 2014; 141(22):4231–4242.
15. Moris N, Anlas K, van den Brink SC, Alemany A, Schröder J, Ghimire S et al. An in vitro model of early anteroposterior organization during human development. *Nature*. Juin 2020; 582(7812):410–415.
16. Olmsted ZT, Paluh JL. Co-development of central and peripheral neurons with trunk mesendoderm in human elongating multi-lineage organized gastruloids. *Nat Com*. Mai 2021; 12(1):19p.
17. Olmsted ZT, Paluh JL. A combined human gastruloid model of cardiogenesis and neurogenesis. *iScience*. Juin 2022; 25(6):23p.
18. Sozen B, Amadei G, Cox A, Wang R, Na E, Czukiewska S et al. Self-assembly of embryonic and two extra-embryonic stem cell types into gastrulating embryo-like structures. *Nat Cell Biol*. Août 2018; 20(8):979–989.
19. Amadei G, Handford CE, Qiu C, Jonghe J de, Greenfeld H, Tran M et al. Embryo model completes

- gastrulation to neurulation and organogenesis. *Nature*. Oct 2022; 610(7930):143–153.
20. Tarazi S, Aguilera-Castrejon A, Joubran C, Ghanem N, Ashouokhi S, Roncato F et al. Post-gastrulation synthetic embryos generated ex utero from mouse naive ESCs. *Cell*. Sept 2022; 185(18):3290-3306.
21. Kime C, Kiyonari H, Ohtsuka S, Kohbayashi E, Asahi M, Yamanaka S et al. Induced 2C Expression and Implantation-Competent Blastocyst-like Cysts from Primed Pluripotent Stem Cells. *Stem Cell Reports*. Sept 2019; 13(3):485–498.
22. Li R, Zhong C, Yu Y, Liu H, Sakurai M, Yu L et al. Generation of Blastocyst-like Structures from Mouse Embryonic and Adult Cell Cultures. *Cell*. Oct 2019; 179(3):687-702.
23. Rivron N, Frias-Aldeguer J, Vrij EJ, Boisset J-C, Korving J, Vivié J et al. Blastocyst-like structures generated solely from stem cells. *Nature*. Mai 2018; 557(7703):106–111.
24. Sozen B, Cox AL, Jonghe J de, Bao M, Hollfelder F, Glover DM et al. Self-Organization of Mouse Stem Cells into an Extended Potential Blastoid. *Developmental Cell*. Déc 2019; 51(6):698-712.
25. Kagawa H, Javali A, Khoei HH, Sommer TM, Sestini G, Novatchkova M et al. Human blastoids model blastocyst development and implantation. *Nature*. Janv 2022; 601(7894):600–605.
26. Karvas RM, Zemke JE, Ali SS, Upton E, Sane E, Fischer LA et al. 3D-cultured blastoids model human embryogenesis from pre-implantation to early gastrulation stages. *Cell stem cell*. Sept 2023; 30(9):1148-1165.
27. Liu X, Tan JP, Schröder J, Aberkane A, Ouyang JF, Mohenska M et al. Modelling human blastocysts by reprogramming fibroblasts into iBlastoids. *Nature*. Mars 2021; 591(7851):627–632.
28. Oldak B, Wildschutze E, Bondarenko V, Comar M-Y, Zhao C, Aguilera-Castrejon A et al. Complete human day 14 post-implantation embryo models from naïve ES cells. *Nature*. Sept 2023. Epub ahead of print.
29. Weatherbee BAT, Gantner CW, Iwamoto-Stohl LK, Daza RM, Hamazaki N, Shendure J et al. Pluripotent stem cell-derived model of the post-implantation human embryo. *Nature*. Juin 2023. Epub ahead of print.
30. Yanagida A, Spindlow D, Nichols J, Dattani A, Smith A, Guo G. Naive stem cell blastocyst model captures human embryo lineage segregation. *Cell stem cell*. Juin 2021; 28(6):1016-1022.
31. Seong J, Frias-Aldeguer J, Holzmann V, Kagawa H, Sestini G, Heidari Khoei H et al. Epiblast inducers capture mouse trophectoderm stem cells in vitro and pattern blastoids for implantation in utero. *Cell stem cell*. Juil 2022; 29(7):1102-1118.
32. Hyun I, Munsie M, Pera MF, Rivron NC, Rossant J. Toward Guidelines for Research on Human Embryo Models Formed from Stem Cells. *Stem Cell Reports*. Fév 2020; 14(2):169–174.
33. Moris N, Alev C, Pera M, Martinez Arias A. Biomedical and societal impacts of in vitro embryo models of mammalian development. *Stem Cell Reports*. Mai 2021; 16(5):1021–1030.
34. Comité Consultatif National d'Ethique (CCNE). Avis relatif aux recherches et utilisation des embryons humains in vitro à des fins médicales et scientifiques [en ligne]. CCNE; 15 déc 1986. 46p. Disponible : <https://www.ccne-ethique.fr/sites/default/files/2021-02/avis008.pdf>
35. Comité Consultatif National d'Ethique. Avis 129 Contribution du Comité consultatif national d'éthique à la révision de la loi de bioéthique 2018-2019 [en ligne]. CCNE; sept 2018. 160 p. Disponible : https://www.ccne-ethique.fr/sites/default/files/2021-02/avis_129_vf.pdf
36. Comité d'éthique de l'INSERM. La recherche sur les embryons et les modèles embryonnaires à usage scientifique (MEUS). 2019. Inserm-02111023

Abréviations

CCNE : Comité consultatif national d'éthique

CSE (h) : Cellules souches embryonnaires (humaines)

HFEA : Human fertilisation and embryology authority

Cellules iPS : Cellules souches induites à la pluripotence

ISSCR : International society for stem cell research