

02/01/2012

LAPORTE Paoline L2

Génétique médicale

M. KRAHN

6 pages

Les nouvelles approches thérapeutiques pour les maladies génétiques

Plan

Introduction

A. Approches pharmacologiques

B. Thérapie cellulaire

C. Thérapie génique

Conclusion

Introduction:

Problématique:

- Progression rapide dans la connaissance des mécanismes physiopathologiques:
 - identification des gènes
 - études fonctionnelles des protéines
 - ... mais peu de ressources thérapeutiques
- Nécessité de développer de nouvelles stratégies thérapeutiques

Obstacles particuliers:

- « la **traversée du désert** » : temps entre preuve de principe et essai clinique
- faible nombre de patients pour les essais cliniques du fait que ce sont des maladies rares
- faible intérêt de l'industrie pharmaceutique

Statut de « **médicament orphelin** » crée au niveau européen pour favoriser les approches thérapeutiques.

- Les stratégies thérapeutiques pour les maladies génétiques:
 - SYMPTOMATIQUES: Correction des conséquences phénotypiques
 - ETIOLOGIQUES:
 - Pharmacologiques,
 - Thérapie cellulaire (utilisation de cellules souches adultes et embryonnaires),
 - Thérapie génique (action au niveau du génome).

La thérapie cellulaire et génique sont appelées **biothérapies**. Ce sont de nouvelles approches prometteuses avec des premiers succès cliniques ... mais aussi premières complications.

A. Approches pharmacologiques

L'approche pharmacologique est permise grâce à la compréhension des mécanismes physiopathologiques et le **criblage haut débit**. Ce dernier permet d'analyser des milliers de molécules pharmaceutiques pour voir leur effet quand on possède un test fonctionnel et qu'on connaît le défaut.

- Elle a pour objectif:
 - La limitation des effets délétères d'un produit toxique accumulé

Exemple: régime restrictif, élimination de produit toxique, ...

- L'induction de l'activité d'une protéine

Exemple: Supplémentation en cofacteur, ...

- L'apport de la protéine manquante

Exemple: Thérapie substitutive pour les différentes Polysaccharidoses, la maladie de Fabry, de Gaucher...

Exemples récents

■ **Progeria : mutation du gène LMNA** (De Sandre et al., 2003)

■ **Physiopathologie:**

=> Protéine anormale « progérine », défaut de maturation
Accumulation toxique de protéine « farnésylée »
Sénescence cellulaire

■ **Approche thérapeutique:**

Agir sur le défaut de maturation
Modification qualitative de la protéine toxique
Blocage de la « farnésylation » et « géranyl-géranylation »

> Efficacité dans modèle murin (Varela et al. 2008)

> Essai thérapeutique en cours

- **La translecture du codon stop**

Lors d'une mutation non sens, un codon stop peut apparaître prématurément sur l'ARNm et être responsable de la formation d'une protéine tronquée. La translecture du codon stop consiste en l'insertion d'un acide-aminé « au hasard » pour éviter l'arrêt prématuré de la traduction. Elle permet ainsi de produire une protéine de taille normale et fonctionnelle... à condition que l'acide-aminé soit toléré.

Les pathologies cibles sont nombreuses. Il y a actuellement des essais cliniques en cours pour la Dystrophie musculaire de Duchenne, l' Hémophilie, la Mucoviscidose...

B. Thérapie cellulaire

- Définition:

Ensemble de techniques permettant la manipulation ou la transformation d'une cellule ou d'un tissu afin de leur conférer des fonctions nouvelles (thérapeutiques).

- Caractéristiques des **cellules souches**:

- différenciation multi-lignée
- capacité d'autorenouvellement grâce à une mitose asymétrique qui produit une cellule souche et un progéniteur
- permet la **régénération tissulaire** par le renouvellement naturel d'un tissu (peau, tube digestif, sang/moelle osseuse, ...) ou la régénération suite à des lésions d'un tissu (tissu musculaire, foie,...).

- Les sources cellulaires:

- **Cellules souches embryonnaires**

Totipotence: pouvoir de différenciation vers toutes les lignées cellulaires donc « Tout tissu est accessible ». Elles pourraient permettre de traiter: l'insuffisance cardiaque, le diabète, les brûlures, les maladies neuromusculaires, les maladies neurodégénératives.

Donc les intérêts thérapeutiques éventuels sont nombreux...mais de nombreuses questions sont soulevées, notamment en éthique et législation.

Nouvelle loi relative à la bioéthique (7 juillet 2011):

La loi relative à la bioéthique autorise (...) la recherche sur les cellules souches embryonnaires lorsqu'elles sont susceptibles de permettre des progrès thérapeutiques majeurs et à la condition de ne pouvoir être poursuivies par une méthode alternative d'efficacité comparable (...)

○ **Induced Pluripotent Stem Cells (iPS)**

Elles sont obtenues par **reprogrammation** de cellules matures, ce sont des cellules «**embryonnaires-like**»:

- saines: thérapie cellulaire
- lignées de cellules malades: criblage moléculaire

Il y a encore des nombreux obstacles pratiques (efficacité, oncogénicité...) avec un taux de réussite <0,1%-1%.

○ **Cellules souches adultes**

Elles sont présentes dans les tissus d'organisme adulte. Elles sont **multipotentes** (pouvoir de différenciation des progéniteurs vers plusieurs lignées cellulaires du tissu considéré). Les questions éthiques soulevées sont similaires aux problèmes soulevés par les greffes d'organe.

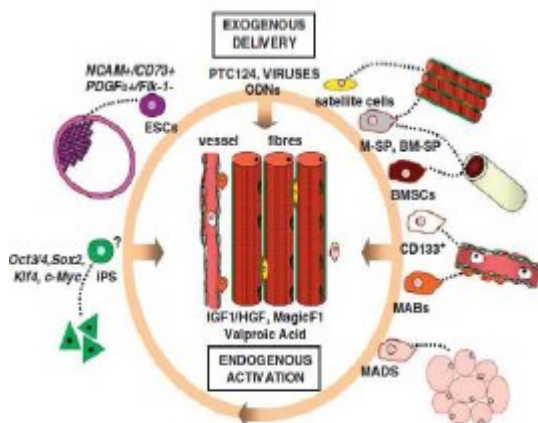
Quelques exemples: à titre d'illustration

- Cellules souches hématopoïétiques (Traitement des leucémies, maladies génétiques hématologiques, métaboliques...)
- Cellules souches neurales (Traitement des maladies neurodégénératives)
- Cellules souches musculaires (Traitement des dystrophies musculaires, ...)
- Cellules souches épidermiques(Traitement des grands brûlés, génodermatoses, ...)
- Cellules souches pancréatiques (Traitement du diabète)

■ **Cellules souches adultes**

Cellules souches musculaires

Traitement des dystrophies musculaires, ...



Essais thérapeutiques:

(Myopathie de Duchenne, autres myopathies)

■ Initialement: **Myoblastes**

■ Perspectives avec d'autres cellules:

Exemple: **Mésoangioblastes**

Sécurité et efficacité démontrées

en pré-clinique

Essai thérapeutique prévu en 2012

C. Thérapie génique

- Définition

Modification du matériel génétique de cellules vivantes, par transfert d'acides nucléiques à des fins thérapeutiques.

- Quelques repères historiques: *à titre d'illustration*

- Thérapie génique: concept né en 1970 ! « Du « bon »ADN exogène pourrait être utilisé pour remplacer un ADN défectueux chez des personnes atteintes de défauts génétiques » Rogers, *new scientist* 1970; Friedmann et Roblin, *science* 1972

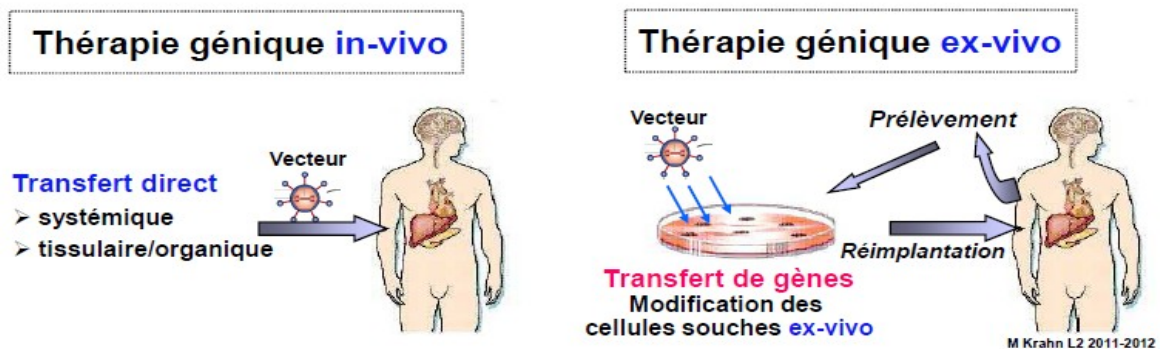
-Premier essai clinique de thérapie génique en 1990: ADA-SCID, *équipe du Dr. French Anderson*

-Premier succès thérapeutique de thérapie génique dans une maladie génétique en 2000: X-SCID, *équipe du Dr. Alain Fischer.*

- Initialement destinée aux maladies génétiques monogéniques comme la mucoviscidose, ou la thalassémie... puis extension du champ d'application aux maladies polyfactorielles (cancers, infectiologie).

- **Thérapie génique germinale** : NON envisageable chez l'Homme (pb éthiques), Utilisation courante chez l'animal: TRANSGENESE

- **Thérapie génique somatique** : différentes modalités



- **Thérapie génique ex-vivo**

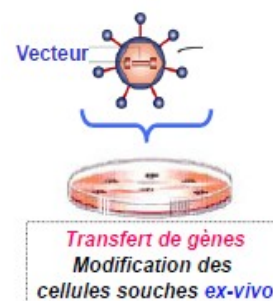
Cellules souches adultes :cible fréquente du transfert ex-vivo
objectif: transfert unique stable

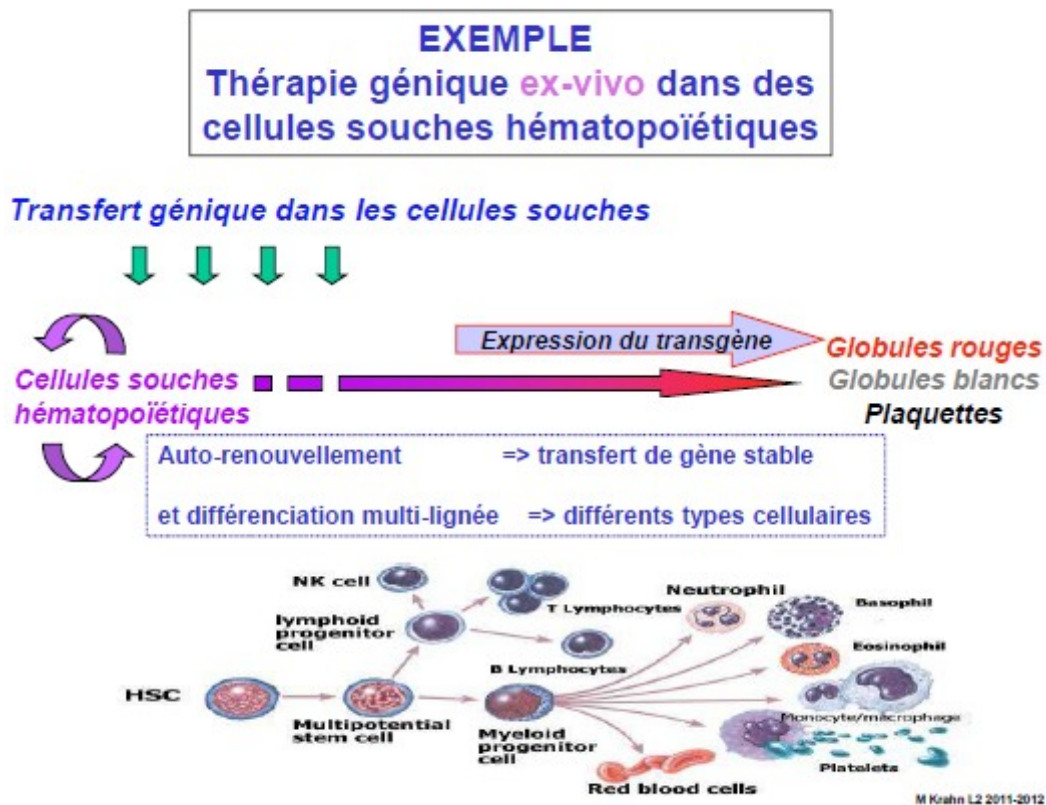
NB:

Thérapie génique: Transfert de gène à visée thérapeutique

Thérapie cellulaire: Utilisation de cellules souches à visée thérapeutique

→ Chevauchement Thérapie génique et Thérapie cellulaire





- **Vecteurs**

Le transfert de gène s'effectue grâce à un vecteur.

- Les **vecteurs viraux** sont dérivés de virus sauvages, ils ont une efficacité importante mais ils peuvent être immunogènes et/ou toxiques.
- Les **vecteurs non viraux** (Lipidique/Cationique, Electroporation, ADN nu) utilisent des méthodes physiques et/ou chimiques, moins efficaces, mais mieux « contrôlables »

On peut transférer une séquence codant pour un ARNm (= **Transgène**) ou une séquence modifiant l'expression de l'ARNm pour corriger un déficit ou apporter une nouvelle fonction.

- Quelques succès marquants:

- Approches utilisant un transgène: Traitement par thérapie génique ex-vivo dans des cellules souches hématopoïétiques:
 - Déficiets immunitaires innés (X-SCID; ADA-SCID) ... depuis 2000.

X-SCID : Premier véritable succès de la thérapie génique(Cavazzana-Calvo et al., 2000) dans le traitement de déficit immunitaire combiné sévère par transfert génique.

Sur 20 patients traités: correction du déficit immunitaire chez 17 patients mais 5 patients ont eut des effets secondaires sévères! → Notion de rapport RISQUE/BENEFICE.

- Adrénoleucodystrophie 2009
- Béta-thalassémie 2010

X-SCID
Bilan 2009

Qasim, Gaspar and Thrasher, 2009

- Mutations du gène Gamma-C
- Vecteur rétroviral γ C, TRANSFERT DE GENE EX-VIVO
- 1^{er} Succès de Thérapie Génique
- 20 enfants traités
(A. Fischer/M. Cavazzana-Calvo, Hôpital Necker
et A. Thrasher, University College London)
- Correction du déficit immunitaire chez 17 patients
Maintien à long terme (9 ans)
- Effet secondaire sévère chez 5 patients
Syndrome lymphoprolifératif / Mutagenèse insertionnelle
Létal chez 1 patient
Rémission pour 4 patients – bénéfice thérapeutique maintenu
Essai français suspendu

M Krahn L2 2011-2012

- Approches par modulation de l'expression: Traitement par l'approche du « SAUT D'EXON » utilisant des molécules chimiques « anti-sens » pour masquer les sites naturels d'épissage et permettre l'élimination de la mutation par épissage.
 - Myopathie de Duchenne 2009: démonstration de la bonne tolérance et de la ré-expression de la protéine déficitaire
- La thérapie génique est en plein développement avec une augmentation du nombre d'essais cliniques:
 - 2005: 954 essais cliniques autorisés
 - 2009: 1537 essais cliniques autorisés
 - 2011: 1714 essais cliniques autorisés

A ce jour: - PEU de véritables succès thérapeutiques (une dizaine)
- pas d'applications systématiques en ROUTINE

Conclusion

• Les stratégies thérapeutiques pour les maladies génétiques
Nouvelles approches prometteuses: Premiers succès cliniques ... mais aussi premières complications.
Les pathologies polyfactorielles bénéficient de la recherche de nouvelles approches thérapeutiques pour les maladies monogéniques.

- Futurs enjeux
 - aspects sécuritaires Rapport RISQUE/BENEFICE
 - compréhension des effets biologiques induits.
 - meilleure caractérisation des cellules souches.
 - développement de nouveaux systèmes vecteurs.