

# *Chapitre I : Les principes de la thérapie génique*

## **Introduction**

Le concept de thérapie génique n'est pas récent. Dès les années 70, avec l'exploration et la cartographie du génome humain, on pense qu'il est possible de guérir d'une maladie génétique en modifiant les allèles mutés (réparation de la mutation ou adjonction de l'allèle sauvage). La technique de transfert génétique in vitro est maîtrisée dans les années 80. La recherche en thérapie génique se tourne donc en premier lieu vers les syndromes d'immunodéficience congénitaux ou héréditaires. En effet, dans ces maladies, les cellules atteintes sont des cellules circulantes, qu'on peut prélever, mettre en culture et réinjecter après transfection. Les premiers vecteurs à avoir été utilisés sont les rétrovirus en raison de leur capacité à insérer leur génome de façon stable dans les cellules qu'ils infectent. Le premier essai clinique approuvé a lieu en 1991. Il concerne un syndrome d'immunodéficience, la déficience en adénoside déaminase qui est une enzyme nécessaire au métabolisme des purines. Cet essai clinique implique deux patients. Le vecteur utilisé est un rétrovirus transportant le gène pour l'adénoside déaminase. Les résultats sont mitigés mais l'essai clinique ne met en évidence aucun effet secondaire. La recherche en thérapie génique est fortement remise en question lors d'un autre essai clinique conduit en 1999 : des enfants immunodéficients (atteints d'immunodéficience combinée sévère liée au chromosome X) sont traités par thérapie génique via un vecteur rétroviral. Les premiers résultats sont très encourageants (reconstitution d'une population immunitaire normale), mais trois ans après l'essai clinique, deux des enfants traités développent une leucémie dont on détermine qu'elle est due à l'insertion du transgène dans le génome des cellules souches sanguines. L'un des deux décède des suites de sa leucémie. A partir de ce moment-là, les recherches en thérapie génique se portent vers d'autres vecteurs afin de mieux contrôler le lieu d'insertion du transgène. Malgré cet échec, la thérapie génique s'est bien développée dans différents domaines. Aujourd'hui, la thérapie génique est appliquée à de nombreuses maladies, génétiques comme acquises, telles que l'insuffisance cardiaque, le SIDA et les cancers. L'application de la thérapie génique aux maladies acquises repose sur la compréhension des mécanismes moléculaires impliqués dans le développement de la maladie et l'identification de cibles pouvant être modifiées par modulation de l'expression génique.

## 1- Définition

La thérapie génique est une biotechnologie basée sur le transfert de matériel génétique dans l'organisme d'un patient pour corriger un défaut précis à l'origine d'une pathologie, que ce soit à titre curatif ou préventif. Elle consiste le plus souvent à utiliser une séquence d'acides nucléiques (le plus souvent un gène, appelé **transgène**). Cette séquence est insérée dans les cellules du sujet malade (qu'on appelle alors **cellules transfectées**) afin qu'elles produisent elles-mêmes le médicament à effet thérapeutique.

Pour réaliser cela, on construit une séquence d'acides nucléiques, appelée **cassette génique**, via des techniques de recombinaison de l'ADN. On y insère le transgène et tout ce qui sera nécessaire (promoteur, autres séquences régulatrices, etc.) à la cellule cible afin qu'elle puisse l'exprimer. Cette cassette génique est ensuite prise en charge par un vecteur qui va la délivrer au sein des noyaux des cellules d'intérêt. On peut aussi utiliser, à la place d'une cassette génique, d'autres types d'acides nucléiques comme des ARN créés par synthèse chimique.

## 2- Principe

Le principe de cette thérapie, est d'introduire un gène-médicament à l'intérieur de la cellule cible afin de :

- Corriger une maladie génétique en introduisant dans les cellules malades un gène-médicament faisant défaut
- Inhiber ou stimuler la synthèse d'une protéine donnée.

Il existe deux méthodes de thérapie génique (Figure 1):

### 2-1 La thérapie génique ex vivo

Cette approche comporte d'abord une étape de prélèvement de cellules chez l'individu à traiter. Ces cellules seront mises en culture, et on pourra alors effectuer le transfert de gènes sur les cellules en culture. Les cellules modifiées par le transfert de gènes pourront alors être réimplantées chez l'individu. Cette approche de thérapie génique ex vivo est développée actuellement notamment pour le transfert de gènes dans des cellules souches adultes. L'objectif est alors d'effectuer un transfert de gènes unique sur des cellules souches prélevées chez un individu. Ces cellules souches seront donc modifiées par le transfert de gènes, puis réimplantées dans l'individu. Puisque les cellules souches ont des capacités d'auto-renouvellement cette approche permet théoriquement d'effectuer un transfert de gènes unique et stable. Les cellules matures formées par la différenciation de ces cellules souches porteront

la modification génétique introduite, permettant ainsi dans le cadre des maladies monogéniques la correction du défaut génétique. Cette approche a été utilisée avec succès sur le plan expérimental et même dans certains essais cliniques, notamment visant des cellules souches hématopoïétiques dans le cadre de différentes maladies génétiques touchant les constituants du sang (certains déficits immunitaires, hémoglobinopathies). Toutes les approches de thérapie génique sont basées sur la notion de transfert de gènes, qui consiste à transférer un acide nucléique exogène dans une cellule porteuse d'une anomalie génétique. Au final, ce transfert de gènes a pour objectif de permettre la correction de l'anomalie génétique au niveau de la cellule et ainsi de rétablir une fonction cellulaire normale. Le transfert de gènes s'effectue grâce à un outil appelé vecteur, qui permettra de transférer dans la cellule une séquence codante (transfert de transgène), ou des séquences modifiant l'expression de certains gènes présents au niveau de la cellule.

## 2-2 La thérapie génique in vivo

La thérapie génique in vivo consiste en un transfert de gènes direct, soit par injection systémique dans la circulation sanguine, soit par injection locale au niveau d'un tissu ou organe. On peut citer comme exemple ici le transfert de gènes direct par injection au niveau de la rétine, dans les approches de thérapie génique de certaines maladies génétiques affectant la vision. Un autre exemple est celui des dystrophies musculaires d'origine génétique, dans lesquelles l'objectif pourrait être d'effectuer un transfert de gènes dans différents muscles et ceci par injection directe dans le muscle, ou par injection dans la circulation sanguine

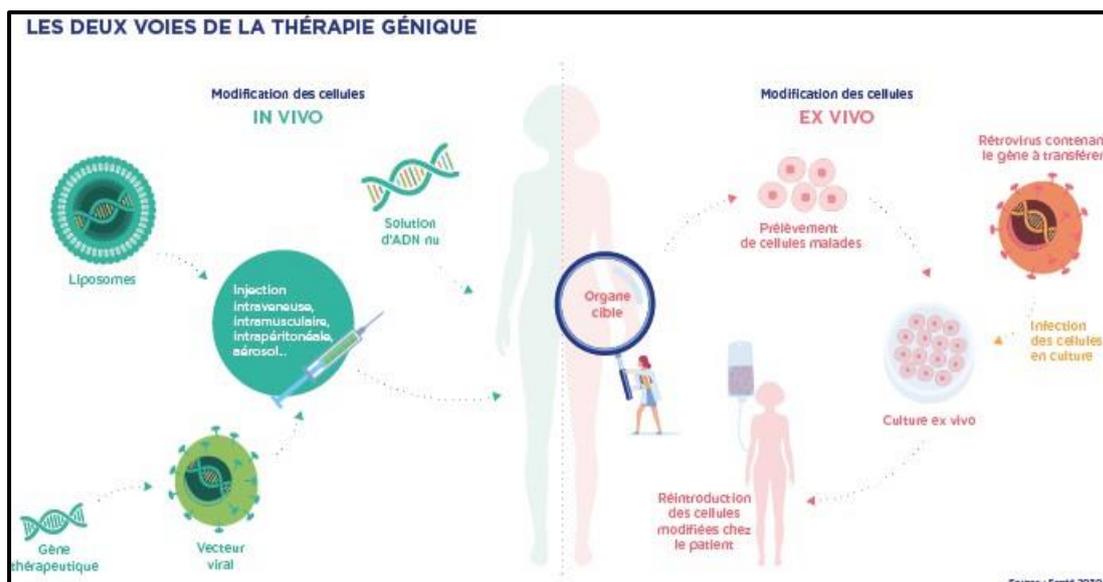


Figure 1 : Les voies de la thérapie génique

### **3- Les obstacles techniques**

La thérapie génique suppose nécessairement :

- un gène-médicament ;
- un vecteur pour le transporter ;
- une cellule cible où le gène puisse s'exprimer.

Aujourd'hui, l'évolution de la thérapie génique repose essentiellement sur le développement des systèmes de transfert des gènes : ils doivent être sûrs, efficaces, capables d'exercer leur fonction dans des cellules qui ne se divisent pas et d'assurer la stabilité de l'expression du gène thérapeutique.