

---

## TD 1 : Thérapie génique

---

Les virus sont traditionnellement considérés comme des agents pathogènes, cependant, au-delà de ce rôle pathologique, ils représentent également des systèmes biologiques remarquablement simples. Cette structure minimaliste leur confère une efficacité naturelle dans la reconnaissance et la pénétration des cellules cibles, un mécanisme que la biologie moléculaire et la biotechnologie ont appris à détourner.

Historiquement, les virus ont été exploités dans le domaine des vaccins. L'utilisation de virus atténués ou inactivés a permis de stimuler le système immunitaire sans provoquer la maladie, constituant l'un des piliers de la prophylaxie médicale (ex. vaccins contre la poliomyélite, la rougeole ou la fièvre jaune). Aujourd'hui, les progrès de la génétique moléculaire et du génie viral ont permis de transformer certains virus en vecteurs thérapeutiques. En modifiant leur génome pour supprimer les gènes responsables de la pathogénicité et en y insérant des séquences thérapeutiques, les chercheurs peuvent utiliser ces virus comme de véritables "chevaux de Troie biologiques".

### I. Définition

La thérapie génique peut être définie comme « l'introduction délibérée de matériel génétique spécifique dans des cellules cibles afin de corriger, compenser ou moduler une fonction biologique altérée ». Elle constitue une approche innovante et prometteuse de la médecine moléculaire, visant à traiter des maladies d'origine génétique ou acquise. L'efficacité de cette stratégie repose sur la capacité à délivrer de manière sûre et ciblée un transgène (gène thérapeutique d'intérêt) à l'intérieur de cellules hôtes appropriées. Pour surmonter la barrière membranaire et assurer une expression efficace et durable du transgène, il est nécessaire d'utiliser un vecteur de transfert. Ces vecteurs peuvent être :

- **Vecteurs viraux**, tirant parti du tropisme et de la haute efficacité de transduction des virus génétiquement modifiés (ex. adénovirus, AAV, rétrovirus, lentivirus, HSV).
- **Vecteurs non viraux**, faisant appel à des systèmes physico-chimiques tels que les liposomes, polymères, nanoparticules ou techniques physiques (microinjection, électroporation...).

Le choix du vecteur constitue une étape cruciale, car il conditionne à la fois la sécurité, la durabilité d'expression et la spécificité cellulaire de la thérapie.

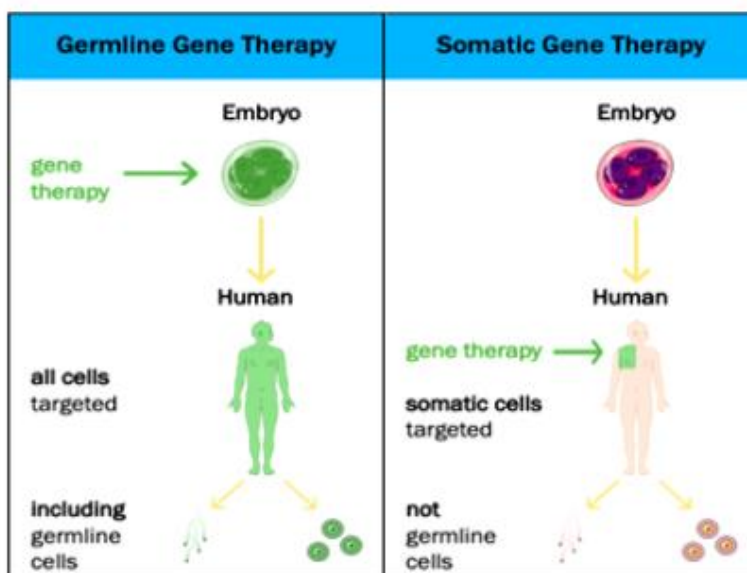
## **II. Types de thérapie génique**

### **II.1. Thérapie génique somatique**

La thérapie génique somatique consiste à introduire un gène fonctionnel dans des cellules somatiques du patient afin de corriger ou de compenser un défaut génétique. Les effets thérapeutiques demeurent donc limités à l'individu traité et ne sont pas transmis à la descendance. Cette approche vise à restaurer une fonction cellulaire normale ou à réduire l'impact d'une mutation pathologique dans certains tissus ou organes. Des avancées cliniques notables ont été rapportées, notamment dans le traitement de la drépanocytose (par modification ex vivo des cellules souches hématopoïétiques) et dans certaines formes de leucémies.

### **II.2. Thérapie génique germinale**

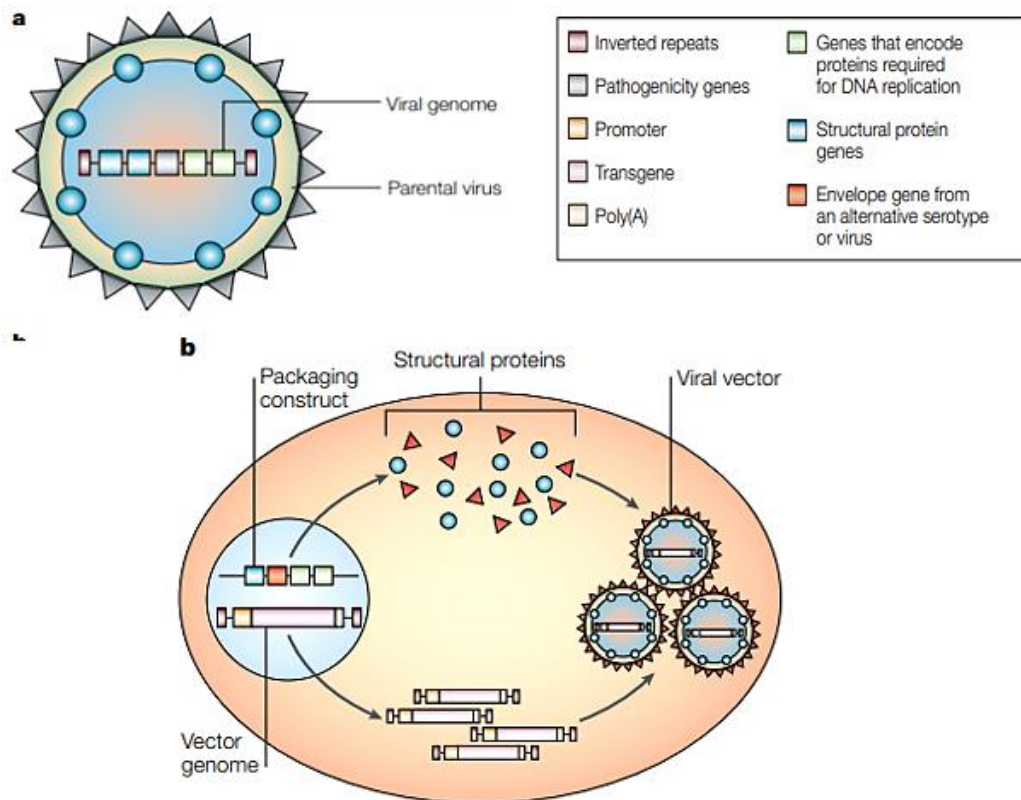
La thérapie génique germinale concerne l'introduction de gènes fonctionnels directement dans les cellules germinales (spermatozoïdes ou ovocytes) ou dans les cellules embryonnaires précoces. Contrairement à la thérapie somatique, cette intervention entraîne une modification transmissible : les gènes corrigés ou ajoutés sont intégrés dans la lignée germinale et peuvent être hérités par les générations futures. L'avantage potentiel de cette approche réside dans l'éradication définitive de certains défauts génétiques héréditaires au sein d'une famille ou d'une population. Toutefois, en raison des implications éthiques, sociales et de biosécurité, la thérapie germinale est aujourd'hui strictement interdite chez l'être humain, mais reste explorée dans certains modèles animaux à des fins de recherche fondamentale.



**Fig. 1 : Thérapie génique somatique et germinale**

### III. Conception de vecteur viral

- Désarmer le virus : On commence avec un virus « parental » naturel, les gènes responsables de la pathogénicité sont éliminés.
- Introduire le transgène d'intérêt : on insère une cassette d'expression contenant le gène thérapeutique (transgène) sous contrôle d'un promoteur. Ce génome modifié est appelé génome vectoriel. Il est entouré de séquences spéciales (ITR – Inverted Terminal Repeats) nécessaires à son emballage.
- Système auxiliaire : Les gènes viraux essentiels à la réplication et aux protéines de structure (capside, enzymes) sont fournis séparément par un constructeur auxiliaire (helper) (ces gènes servent uniquement à fabriquer la particule).
- Production dans une cellule de packaging : On met ensemble dans une cellule de production le génome vectoriel (avec le transgène) et la construction auxiliaire (avec les gènes de réplication et structure). La cellule fabrique alors des particules virales vides grâce aux gènes du helper, puis y insère le génome vectoriel.
- Résultat : un vecteur viral thérapeutique.



**Fig. 2. Conversion d'un virus en vecteur**

#### IV. Méthodes de la thérapie génique

**Ex vivo :** Les gènes sont transférés dans des cellules cultivées *in vitro*. Les cellules ainsi transformées sont ensuite multipliées puis réintroduites chez le patient. L'utilisation de cellules autologues permet d'éviter le rejet immunitaire. Cette approche est particulièrement adaptée à certains tissus comme les cellules hématopoïétiques ou les cellules cutanées, qui peuvent être aisément prélevées, corrigées génétiquement à l'extérieur du corps, puis réimplantées. (p. ex. CRISPR ou lentivirus).

**In vivo :** La méthode *in vivo* consiste à transférer directement des gènes clonés dans les tissus du patient, sans passer par une culture cellulaire préalable. Elle est employée pour les tissus dont les cellules ne peuvent pas être cultivées en nombre suffisant *in vitro* (ex. cellules cérébrales) ou bien lorsque la réimplantation de cellules cultivées en laboratoire n'est pas efficace. Dans certains cas, on cultive des cellules infectées par un rétrovirus recombinant. Ces cellules produisent en continu des particules virales modifiées, elles sont ensuite implantées dans les tissus du patient, où elles libèrent le vecteur qui transfère le gène thérapeutique aux cellules environnantes malades.

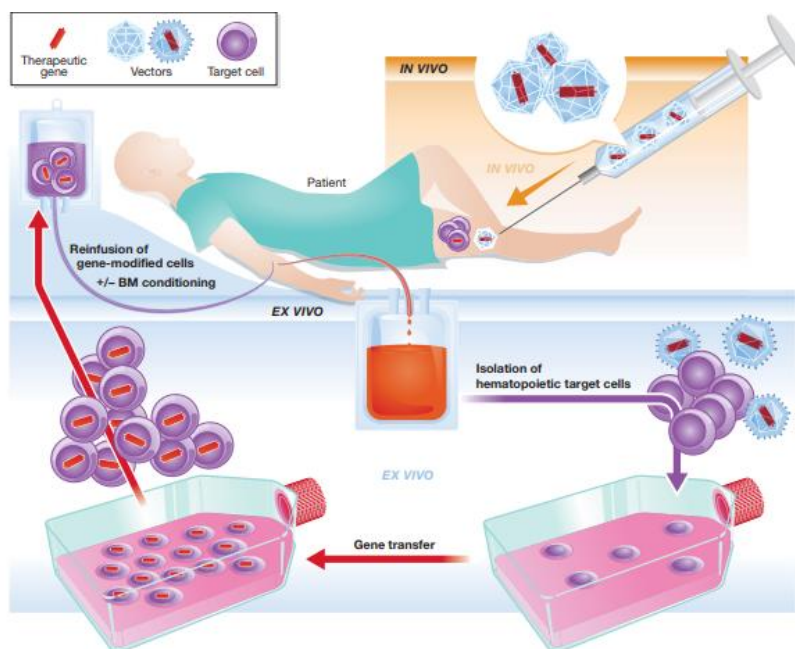


Fig 3. Concepts de la thérapie génique *In vivo* et *Ex vivo* (Kaufmann et al., 2013)

## V. Stratégies de la thérapie génique

La thérapie génique peut être envisagée selon plusieurs approches complémentaires :

- **Augmentation génique** : Cette stratégie consiste à introduire une copie fonctionnelle d'un gène dans les cellules où l'ADN endogène est muté ou inactif, entraînant une absence ou un déficit de la protéine correspondante. L'addition d'un allèle fonctionnel permet alors de restaurer la synthèse de la protéine et d'atténuer les manifestations cliniques.
- **Élimination sélective de cellules spécifiques** : Cette approche repose sur l'introduction de gènes suicides ou de gènes codant pour des pro-enzymes capables de convertir un précurseur médicamenteux en composé toxique. Les cellules modifiées deviennent sensibles à un traitement ultérieur et sont sélectivement détruites.
- **Inhibition génique ciblée** : Ici, le but est de réduire ou bloquer l'expression d'un gène délétère, responsable de la production d'une protéine nocive. *Exemple : inhibition de gènes viraux dans le VIH.*
- **Correction ciblée des mutations génétiques** : Cette approche vise à réparer directement une mutation ponctuelle dans un gène, afin de restaurer son expression normale et la fonction de la protéine correspondante. Les technologies émergentes incluent surtout CRISPR/Cas9.