

# **Chapitre5:**

# **La thérapie génique**

# Chapitre5: La thérapie génique

## Plan du cour

- I- Caractéristiques de la thérapie génique
- II- Les vecteurs de la thérapie génique
- III- Application de la thérapie génique

# **I- Caractéristiques de la thérapie génique**

# I- Caractéristiques de la thérapie génique

## La thérapie génique



- consiste à modifier des cellules en leur introduisant du matériel génétique pour soigner une maladie.
- utilise des vecteurs

### Historique

au début des années 1970	Rogers, puis Friedmann et Roblin) ont évoqué la possibilité d'utiliser de l'ADN exogène pour remplacer un ADN défectueux chez des personnes atteintes de défauts génétiques
en 1990	premier essai clinique de thérapie génique dans le cadre d'une maladie du système immunitaire (ADA-SCID, essai mené par l'équipe du Dr. French Anderson aux États-Unis)
En 2000	premier succès mondial de thérapie génique, toujours pour une maladie immunitaire (X-SCID, essai mené par l'équipe du Pr. Alain Fischer en France).
A ce jour,	plus de 1700 essais cliniques ont été répertoriés dans la « <b>Journal of Gene Medicine Trial Database</b> » ( <a href="http://www.abedia.com/wiley">http://www.abedia.com/wiley</a> ) à travers le monde, en majorité dans le domaine de la cancérologie (plus de 60% de la totalité des essais), mais également dans les maladies monogéniques (8% des essais).

# I- Caractéristiques de la thérapie génique

## 1-Types de thérapie génique



### thérapie génique germinale

#### (ou thérapie génique sexuelle)

application à un embryon ou aux cellules sexuelles (spermatozoïdes ou ovules) d'un adulte



le gène introduit dans les cellules pourrait être **transmis à l'ensemble des cellules du futur individu**



il sera transmis de manière héréditaire à toute la descendance de l'individu.



### thérapie génique

#### somatique

introduire un gène exclusivement dans des cellules non sexuelles



n'a d'incidence que sur la personne traitée (non transmissible)

**- NB: La thérapie génique germinale est interdite chez l'être humain.**

# I- Caractéristiques de la thérapie génique

## 2- modalités de la thérapie génique

### Thérapie génique in vivo

transfert de gènes direct, soit par injection systémique dans la circulation sanguine, soit par injection locale au niveau d'un tissu ou organe (insitu).

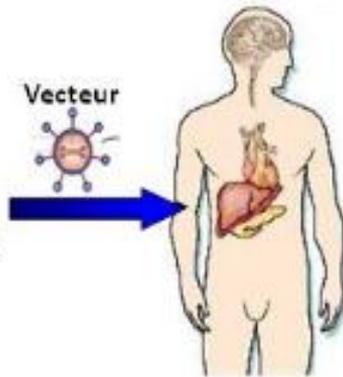
### Thérapie génique ex vivo

- prélèvement de cellules chez l'individu à traiter.
- Ces cellules seront mises en culture
- transfert de gènes sur les cellules en culture
- Les cellules modifiées sont réimplantées chez l'individu

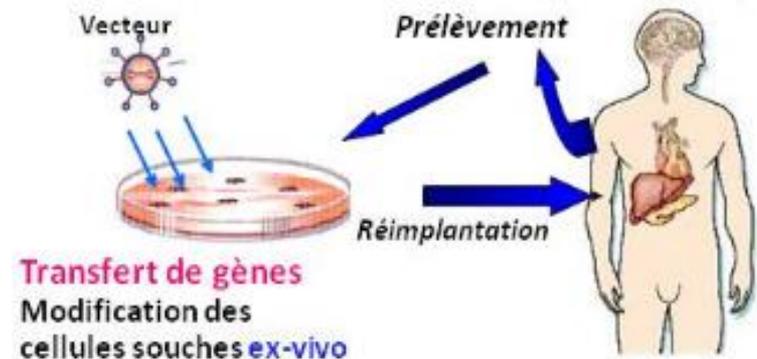
#### Thérapie génique *in-vivo*

##### Transfert direct

- systémique
- tissulaire/organique



#### Thérapie génique *ex-vivo*



### 3- Les stratégies de la thérapie génique



**Éliminer ou réparer un gène altéré directement dans la cellule (technique d'édition génomique)**

-réparer des mutations génétiques de façon ciblée

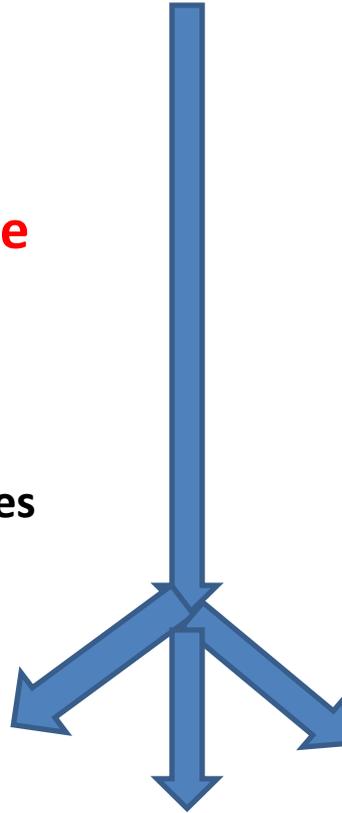


**Produire des cellules thérapeutiques**

-obtenir des cellules nouvelles propriétés thérapeutiques.

**Modifier l'ARN pour obtenir une protéine fonctionnelle**

faire produire par la cellule une version modifiée de la protéine qui lui fait défaut



**Autres stratégies**

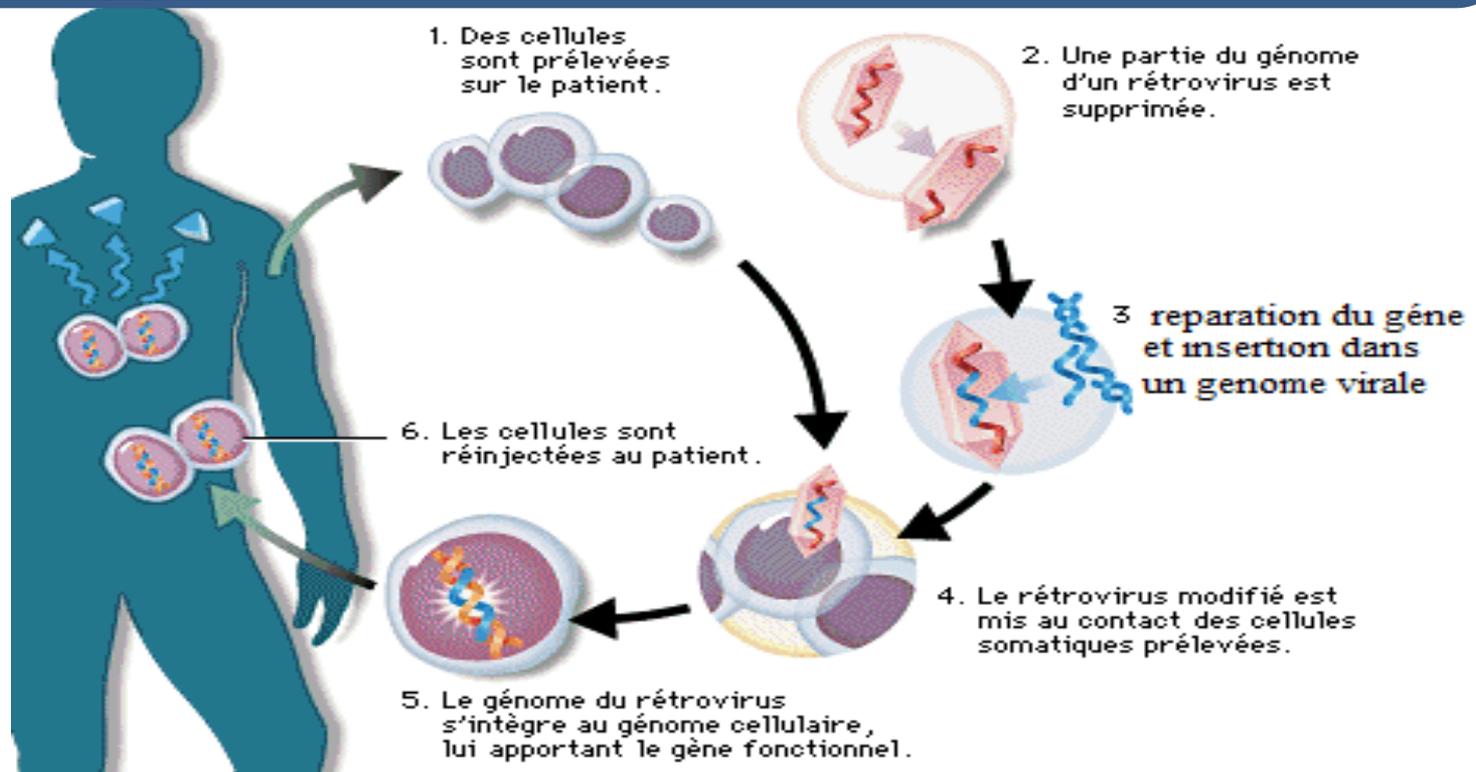
**Suppléer un gène « malade »**

-importer la copie d'un gène fonctionnel dans une cellule cible, pour qu'elle s'y exprime et aboutisse à la production de la protéine qui fait défaut.

# I- Caractéristiques de la thérapie génique: 3- Les stratégies de la thérapie génique

## A-Eliminer ou réparer un gène altéré directement dans la cellule (technique d'édition génomique)

- approches qui sont encore très expérimentales
- nécessite d'importer plusieurs outils dans la cellule :
- des enzymes spécifiques (nucléases, pour couper le génome là où c'est nécessaire)
- un segment d'ADN qui sert à la réparation du génome et permettra de retrouver un gène fonctionnel

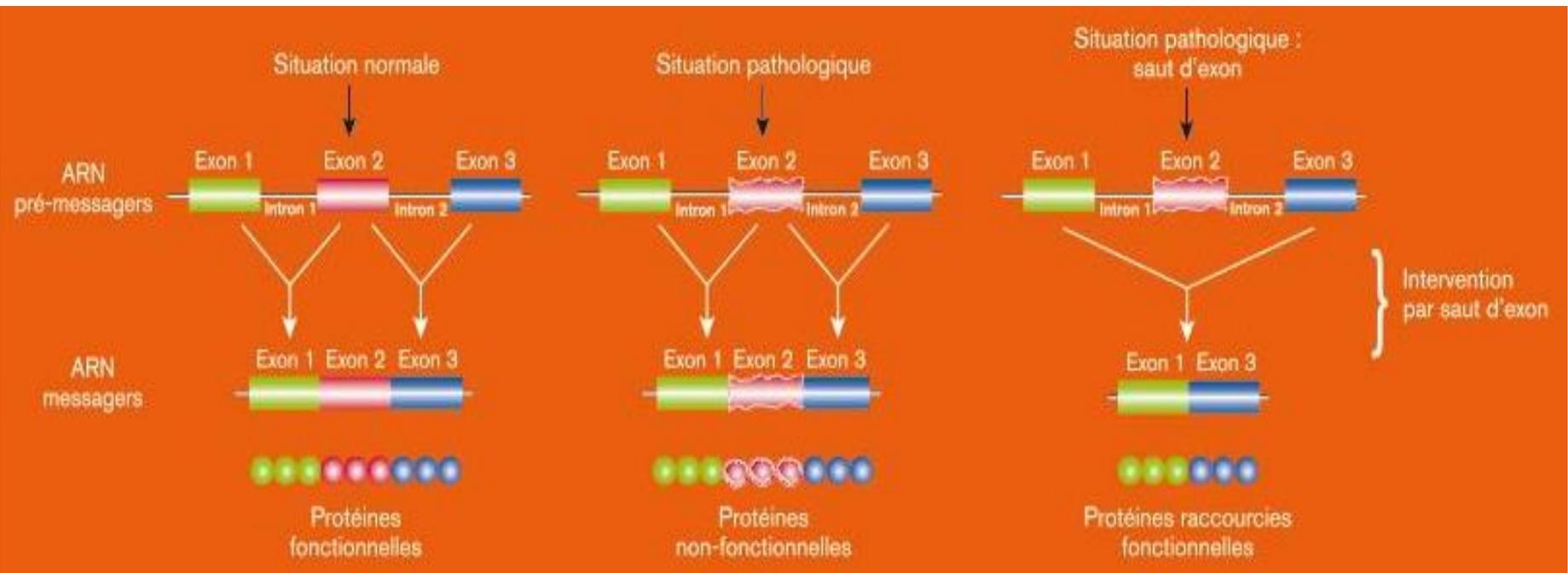


# I- Caractéristiques de la thérapie génique: 3- Les stratégies de la thérapie génique

## B-Modifier l'ARN pour obtenir une protéine fonctionnelle

Modifier l'épissage de l'ARNm du gène malade (muté) par injection de **petits oligonucléotides anti-sens** qui se fixent cet l'ARNm, -après modification de l'épissage l'ARNm modifié sera traduit

**Exemple la technique de « saut d'exon »** appliquée dans la maladie de Duchene, causée par des mutations dans le gène de la dystrophine (On obtient alors une dystrophine plus courte que la protéine normale, mais fonctionnelle)



# I- Caractéristiques de la thérapie génique: 3- Les stratégies de la thérapie génique

## C-Produire des cellules thérapeutiques

en associant thérapie cellulaire et thérapie génique, on peut obtenir des cellules qui possèdent de nouvelles propriétés thérapeutiques.

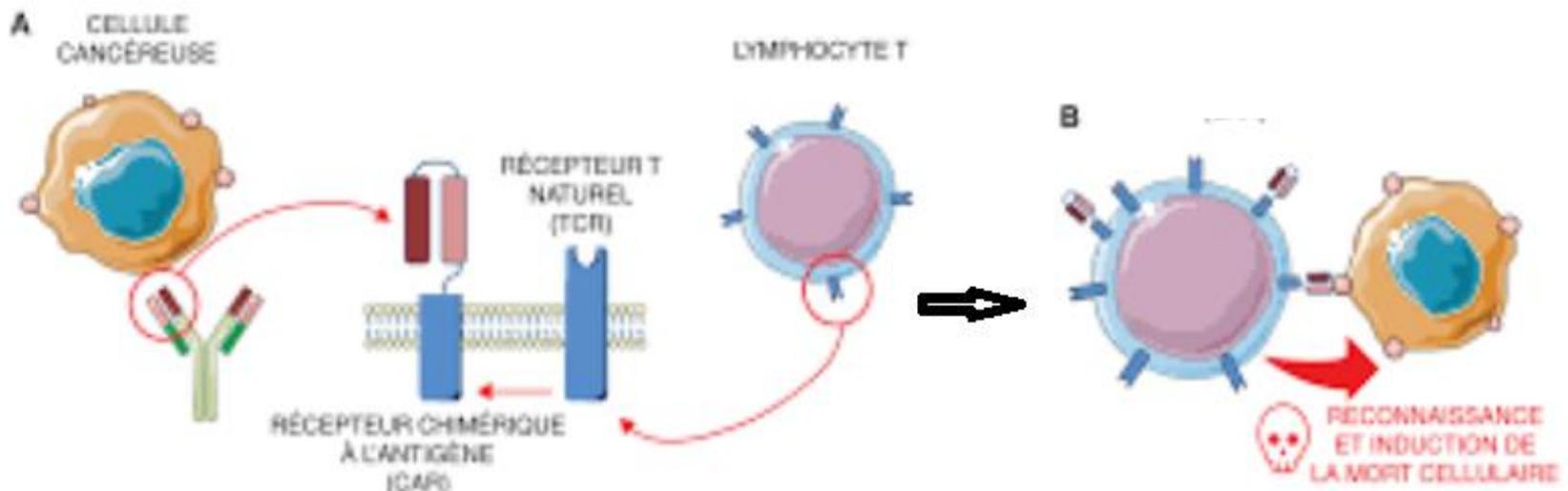


### exemple le cas des *CAR T cells* (domaine du cancer)

Prélèvement des lymphocytes T de patients atteints de leucémies B

Modification génétique en les armant d'un récepteur chimérique (CAR), qui reconnaît l'antigène CD19 présents sur les cellules malignes,

Réinjection des CAR-T au patient et élimination des cellules malignes



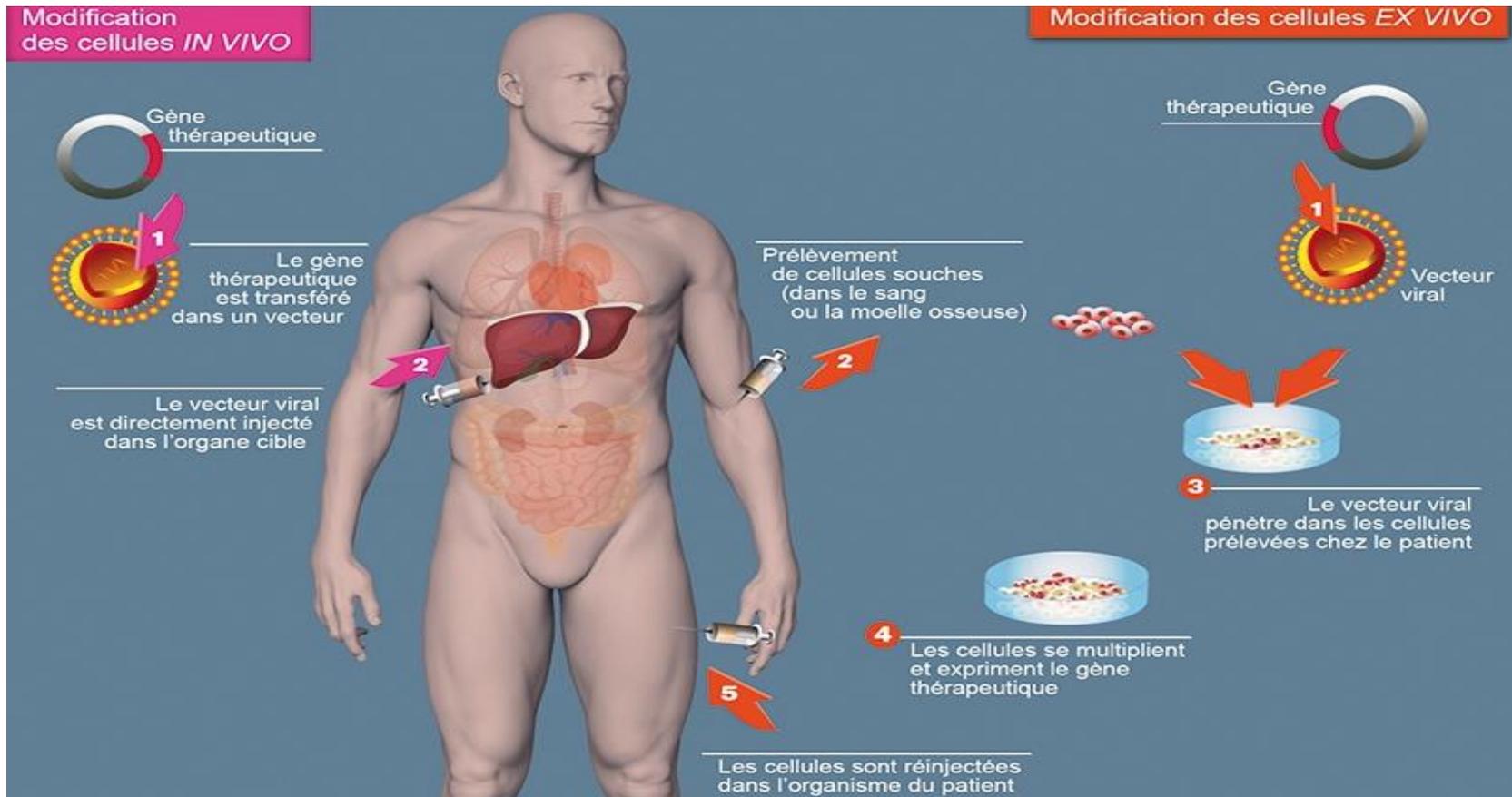
# I- Caractéristiques de la thérapie génique: 3- Les stratégies de la thérapie génique

## D- Suppléer un gène « malade »

-première stratégie appliqué en therapie génique

-**Le gène fonctionnel** est acheminé **dans la cellule cible** grâce à un vecteur

- Il vient s'ajouter au patrimoine génétique des cellules pour compenser la fonction déficiente sans modifier le gène malade.



# I- Caractéristiques de la thérapie génique:

## 4-Principales étapes de réalisation d'une thérapie génique

Le but est d'essayer de **modifier les gènes** qui sont déficients et fonctionnent mal.



Il faut donc agir au sein de chaque cellule malade sans altérer les cellules saines

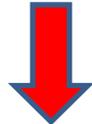
- 1-connaître les gènes responsables de la maladie,(génomique structurale, informationnelle et fonctionnelle avec l'emplacement de ces gènes)**
  - 2-créer un gène sain en synthétisant une chaîne de nucléotide**
  - 3-incorporer cette chaîne dans un vecteur (viral ou non-viral)**
  - 4-sélectionner avec précision les cellules cibles qui devront permettre l'entrée du gène**
  - 5-introduire le vecteur avec le gène dans la cellule**
  - 6-lui éviter d'être détruit dans le cytoplasme par les enzymes, les lysosomes lui permettre de passer dans le noyau cellulaire**
- l'incorporer dans le génome de la cellule**
  - faire exprimer le gène inséré pour obtenir la protéine saine, en quantité suffisante**

## 5- Réussite de l'expression des gènes

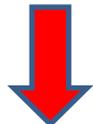
Le but est d'obtenir



### Une expression stable et à un bon niveau



Plusieurs facteurs empêchent le maintien de l'expression des gènes après leur transfert :



- les séquences régulatrices contrôlant l'expression du gène thérapeutique sont souvent reconnues comme étrangères et inactivées par la cellule qui les reçoit
- si l'efficacité du gène-médicament n'est pas atteinte, c'est que la cellule "d'accueil" est détruite par le système immunitaire du patient

### Une expression réglable

- Il faudrait que les séquences génétiques insérées puissent répondre aux signaux physiologiques du corps et fonctionnent comme les autres gènes de l'organisme.



utiliser des substances chimiques administrées de façon traditionnelle et permettant de contrôler le niveau d'activité du gène.



- exemple1: une approche dans laquelle un virus est utilisé pour délivrer aux patients des gènes thérapeutiques qui sont inactivés au départ les patients doivent ingérer une pilule (produits chimiques) pour déclencher leur expression.
- exemple2: introduire un interrupteur (une courte séquence d'ADN) au début du gène à délivrer aux malades. Cet interrupteur, pourra être « allumé » par une molécule spécifique. Grâce à ce système, les gènes thérapeutiques ne seront exprimés que si le patient prend un médicament, comme la rapamycine.

## **II-Les vecteurs de la** **thérapie génique**

# II-Les vecteurs de la thérapie génique

apporter le **transgène** nécessaire aux cellules

## Les vecteurs viraux ( virus )

- surtout des **rétrovirus** et moins souvent des **adénovirus**
- baisser autant que possible son pouvoir antigénique pour éviter les réaction immunologiques (formation d'anticorps, mobilisation des lymphocytes, activation du complément...).
- Les chercheurs essayent de mettre au point des technique qui modifient la surface du virus pour que les antigènes de surface ne s'accordent qu'avec les cellules cibles (et n'aillent pas pénétrer d'autres cellules).

## Les vecteurs synthétiques,

- particules **inertes**, (à base d'ADN, de protéines, de lipides ou de polymères cationiques
- problème d'efficacité** (il faut au moins 100.000 molécules d'ADN par cellule cible pour qu'une seule séquence parvienne à pénétrer dans le noyau )  A cette concentration commencent à se poser des problèmes de toxicité
- **problème de libérer l'ADN** de son vecteur.

II-Les vecteurs de la thérapie génique

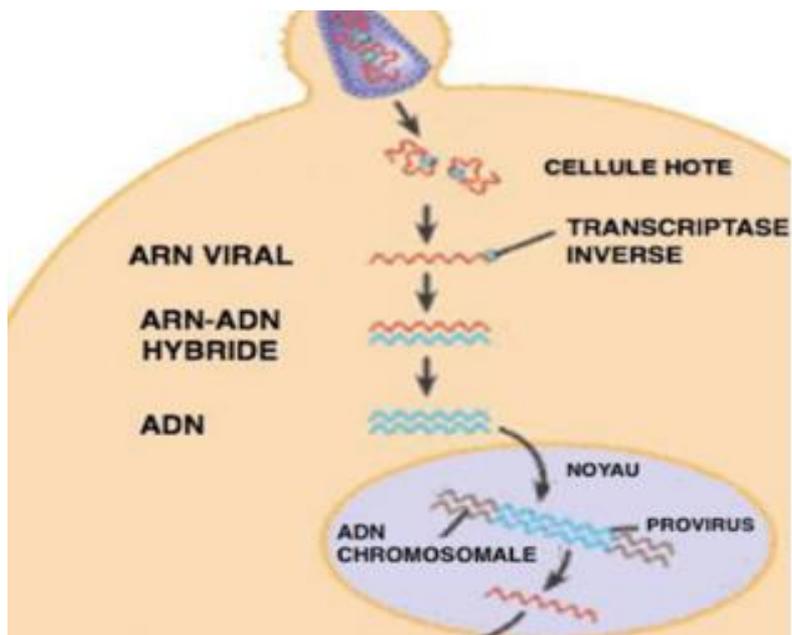
# 1-Les vecteurs viraux

## Types de vecteurs

### Les vecteurs intégratifs :

insèrent leur ADN (qui contient le gène thérapeutique) dans le génome de l'hôte.

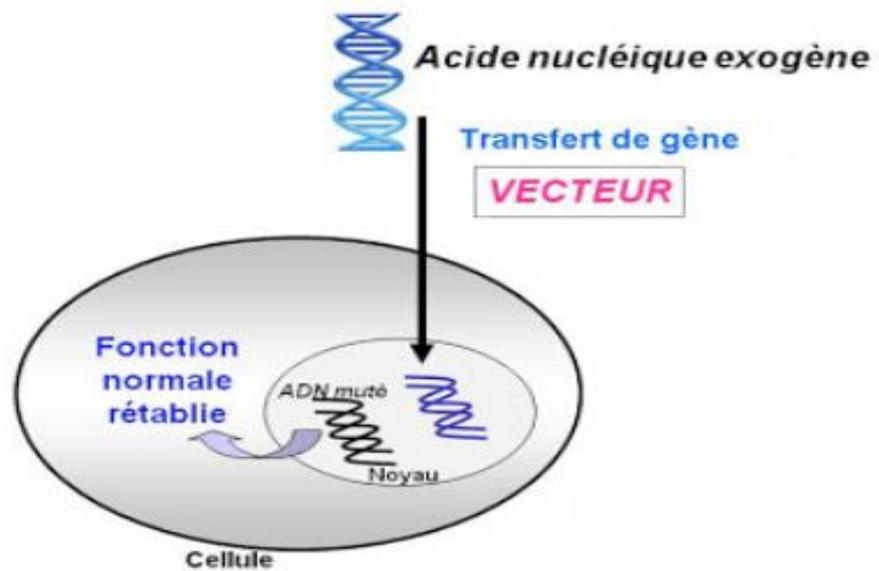
le gène thérapeutique est transmis aux cellules filles en cas de divisions cellulaires



### Les vecteurs non intégratifs

le gène thérapeutique demeure dans la cellule sans s'intégrer au génome de l'hôte)  
- Privilégiés dans le cas des cellules post-mitotiques (qui ne se divisent plus)

le gène thérapeutique s'exprime pendant la durée de vie de la cellule et disparaît avec la mort de celle-ci.

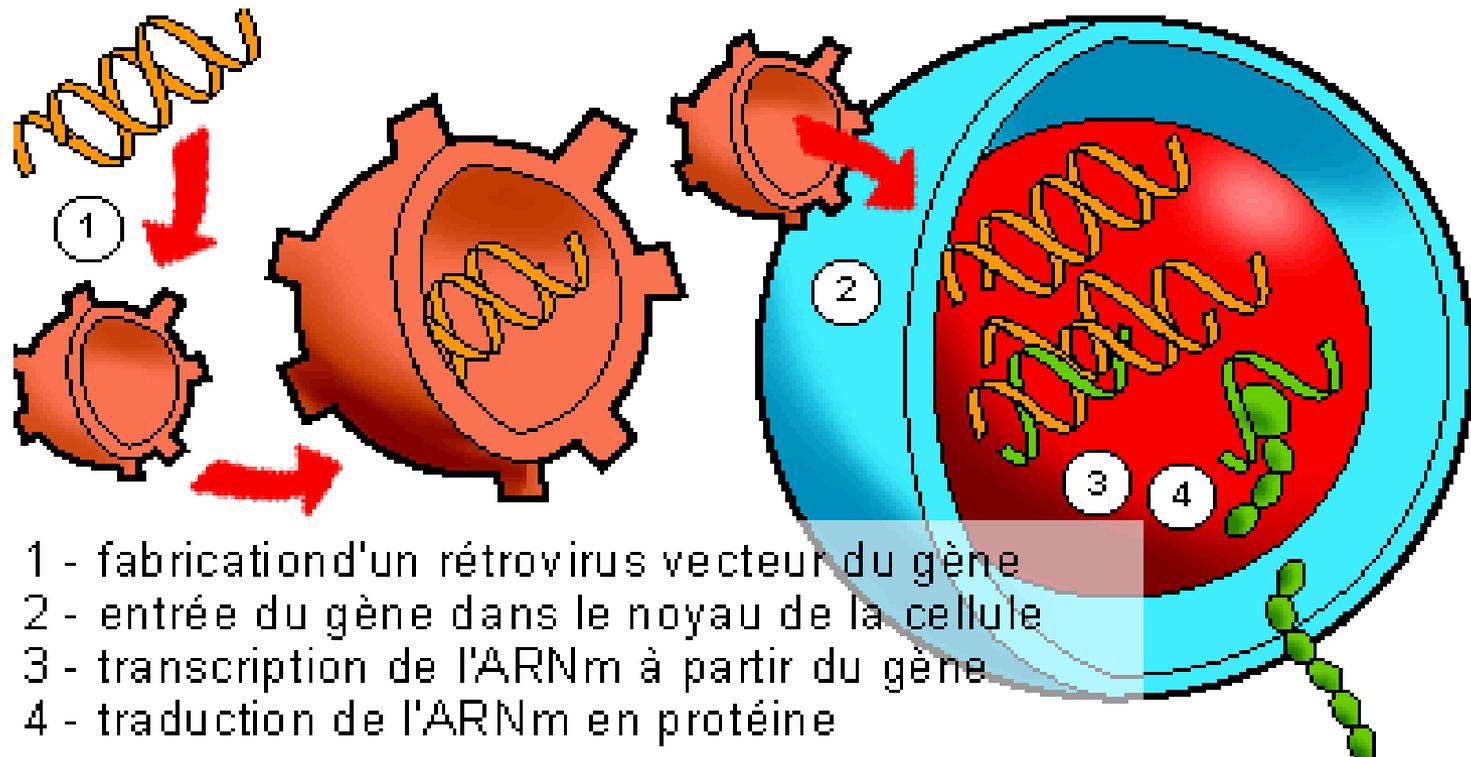


# 1-Les vecteurs viraux

## A-Les rétrovirus

Leur qualité principale est de pouvoir intégrer leur matériel génétique de façon permanente dans le génome des cellules qu'ils infectent

- 60 % des protocoles cliniques sont fondés sur l'utilisation de vecteurs rétroviraux,
- peuvent contenir un ADN exogène de taille relativement grande (huit kilobases
- À l'exception du VIH (virus de l'immunodéficience humaine), ils sont pathogènes



- 1 - fabrication d'un rétrovirus vecteur du gène
- 2 - entrée du gène dans le noyau de la cellule
- 3 - transcription de l'ARNm à partir du gène
- 4 - traduction de l'ARNm en protéine

# 1-Les vecteurs viraux

## B-Les adénovirus

- leur grande taille permet le transfert de très larges séquences d'ADN (plus de 35 kb)
- Leur défaut, est de provoquer de fortes réactions inflammatoires et immunitaires (c'est pourquoi il faut administrer des gènes viraux contenant des gènes immunosuppresseur ou administrer un traitement de produits immunodépresseurs au patient parallèlement au traitement par thérapie génique).

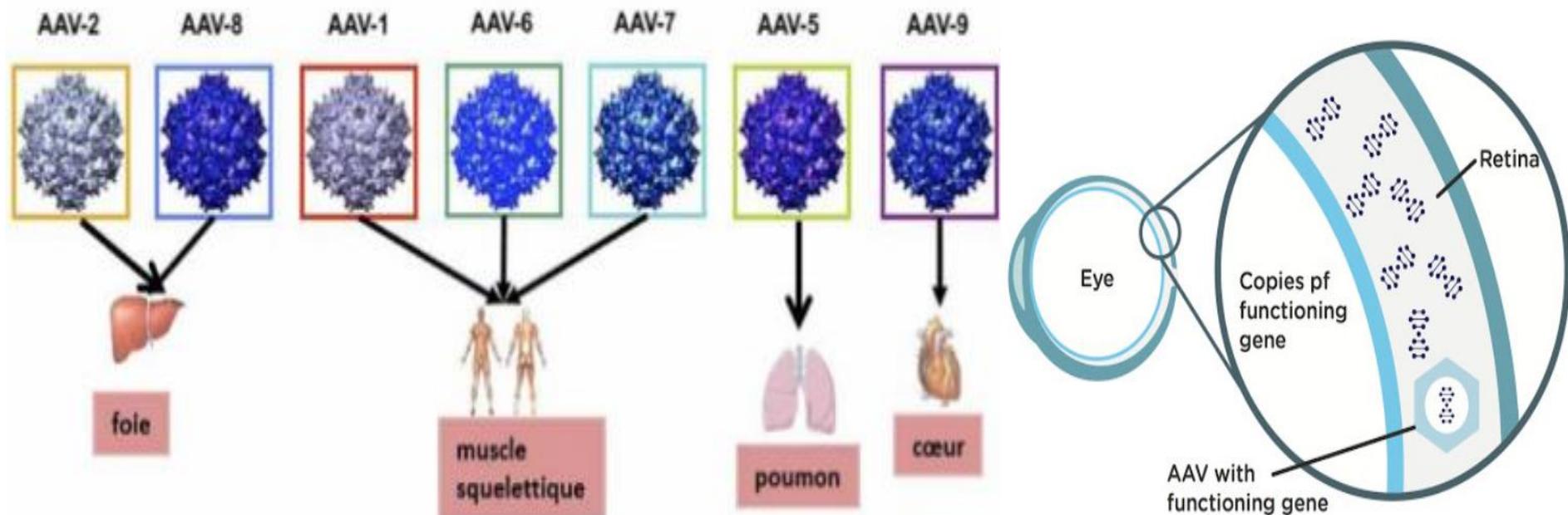


## II-Les vecteurs de la thérapie génique

# 1-Les vecteurs viraux

## C-Les adéno-associated virus (AAV)

- virus non pathogènes très répandus chez l'homme,
- Ils ne peuvent se répliquer qu'en s'associant avec des adénovirus ou des virus de l'herpès.
- ne pouvoir contenir que des petites séquences d'ADN (4,8 kb)
- Actuellement inexploitable dans le domaine clinique.(sauf cas des essais telle que les maladies de la rétine
- l'utilisation d'un AAV est dépendante du tissu et de l'organe a traiter



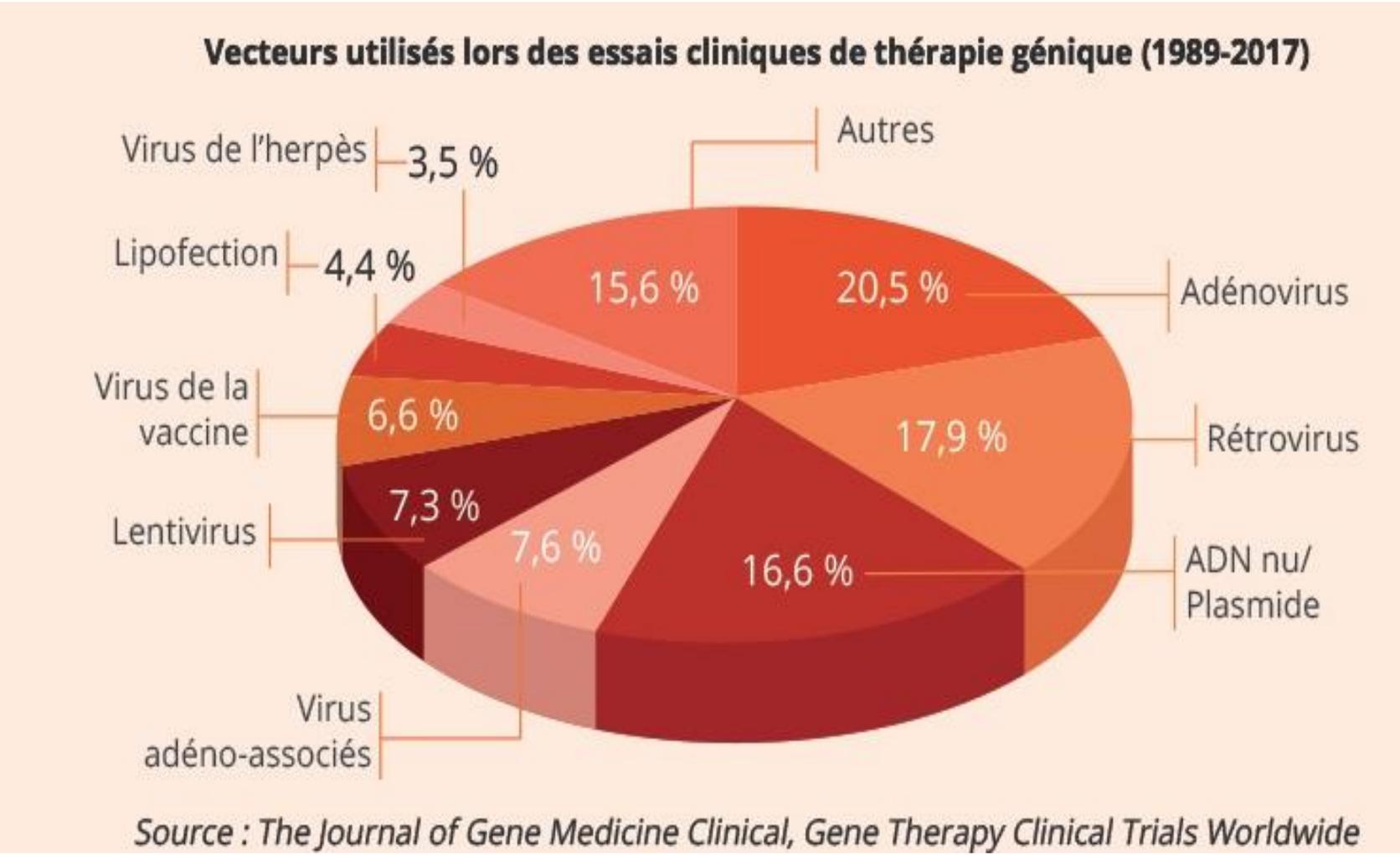
## II-Les vecteurs de la thérapie génique

### 2-Caractéristiques des vecteurs

VECTEURS	CARACTÉRISTIQUES	TAILLE DE L'INSERI	VOIX D'ADMINISTRATION	INDICATIONS CLINIQUES
Adénovirus	<ul style="list-style-type: none"><li>- Efficace (vecteur de référence)</li><li>- Expression prolongée</li><li>- Production facile</li><li>- Pas d'intégration</li></ul>	10-14 kb	<ul style="list-style-type: none"><li>- intratrachéale</li><li>- intra-artérielle/intraveineuse</li><li>- intratumorale</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Oncologie</li><li>- Cardio-vasculaire</li><li>- Maladie SNC</li></ul>
Adeno Associated Virus (AAV)	<ul style="list-style-type: none"><li>- Efficacité modérée</li><li>- Expression prolongée</li><li>- Intégration</li><li>- Production délicate</li></ul>	4,5 kb	<ul style="list-style-type: none"><li>- intratrachéale</li><li>- intratumorale</li><li>- intramusculaire</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Oncologie</li></ul>
Rétrovirus	<ul style="list-style-type: none"><li>- Efficacité modérée</li><li>- Intégration aléatoire</li><li>- Production facile</li><li>- Cellules en division</li></ul>	4-6 kb	<ul style="list-style-type: none"><li>- ex vivo</li><li>- intraveineuse</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Oncologie</li><li>- Maladies génétiques</li></ul>
Vecteurs synthétiques	<ul style="list-style-type: none"><li>- Efficacité modérée/limitée</li><li>- Expression transitoire</li><li>- Pas d'intégration</li><li>- Production facile (en théorie)</li></ul>	illimitée (en théorie)	<ul style="list-style-type: none"><li>- intramusculaire</li><li>- intraveineuse/intra-artérielle</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Maladies génétiques</li><li>- Protéines circulantes</li><li>- Oncologie</li></ul>

II- Les vecteurs de la thérapie génique

2- Les vecteurs les plus appliqués dans des essais cliniques



### 3- Vecteurs et médicaments de thérapie génique

#### A- médicaments de thérapie génique



##### molécules simples,

- existent depuis une vingtaine d'années.
- Ce sont des oligonucléotides (ADN ou ARN) incluant des **nucléotides antisens**, des **aptamères**, des **petits ARN interférents (siRNAs)** présentant diverses modifications chimiques.
- administrées sans vecteur viral et leur développement préclinique suit le parcours des médicaments classiques.
- peu d'entre eux se sont révélés efficaces pour traiter des maladies génétiques



##### produits biologiques

##### innovants,

- bien plus récents
- incluent quant à eux **des virus ou des vecteurs viraux recombinants, des cellules hématopoïétiques ou des lymphocytes génétiquement modifiés.**
- donnent des résultats positifs, parfois spectaculaires, dans différents types
- Plusieurs sont aujourd'hui disponibles en Europe, Amérique et Asie.

## II- Les vecteurs de la thérapie génique

### 3- Vecteurs et médicaments de thérapie génique

#### B-Exemples de médicaments:

#### Cas des molécules simples

Les premiers oligonucléotides de thérapie génique ont été mis sur le marché dès 1998, mais peu d'entre eux se sont révélés efficaces pour traiter des maladies génétiques.

Médicament	Indication	Mode d'action du médicament
<b>Nusinersen (Spinraza)</b> -premier médicament pour cette pathologie - oligonucléotide antisens	<b>l'amyotrophie spinale 5q</b> l'amyotrophie spinale est un groupe de maladies héréditaires caractérisées par une faiblesse et une atrophie des muscles et qui se transmet de manière autosomique récessive. -(l'amyotrophie spinale 5q, une maladie génétique rare se traduisant par une atteinte neuromusculaire).	-augmente la production de protéine SMN (Survie du MotoNeurone) fonctionnelle en agissant sur l'épissage du gène SMN2.
<b>l'Eteplirsén</b> un oligomère ou oligonucléotide antisens	<b>myopathie de Duchenne (ou dystrophie musculaire de Duchenne,)</b> - maladie génétique provoquant une dégénérescence progressive de l'ensemble des muscles de l'organisme. - liée à une anomalie du gène DMD, responsable de la production d'une protéine impliquée dans le soutien de la fibre musculaire (la dystrophine).	- déclenche l'excision de l'exon 51 au cours de l'épissage des pré-mRNA de la dystrophine ce qui va décaler le cadre de lecture de la dystrophine et obtenir la dystrophine fonctionnelle.

### 3- Vecteurs et médicaments de thérapie génique

#### B-Exemples de médicaments:

#### Cas des produits biologiques innovants

Médicament	Caractéristiques et indications
<b>Gendicine</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>-premier médicament de ce type qui a été mis sur le marché, en Chine, en 2003.</li><li>-Il s'agit d'un adénovirus exprimant le gène p53 (codant pour un suppresseur de tumeur), indiqué dans le traitement de cancers de la tête et du cou.</li></ul>
<b>Oncorine</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>-Mis sur le marché en Chine, en 2005, il s'agit est un adénovirus oncolytique.</li><li>- Il est utilisé en combinaison avec une chimiothérapie pour le traitement de cancers nasopharyngés réfractaires.</li></ul>
<b>Glybera</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>-premier médicament commercialisé en Europe, fin 2012, contre le déficit familial en lipoprotéine lipase.</li><li>-Il s'agit d'un vecteur adéno-associé.</li><li>- Il vient d'être retiré du marché faute de demande.</li></ul>
<b>Imlygic</b>	<p>Approuvé en 2015 aux Etats-Unis et en Europe,</p> <ul style="list-style-type: none"><li>-il est composé d'un virus oncolytique exprimant une protéine immunostimulante.</li><li>- Il est indiqué chez les adultes atteints de mélanome non résectable.</li></ul>

## II-Les vecteurs de la thérapie génique

### 3- Vecteurs et médicaments de thérapie génique

#### B-Exemples de médicaments:

#### Cas des produits biologiques innovants

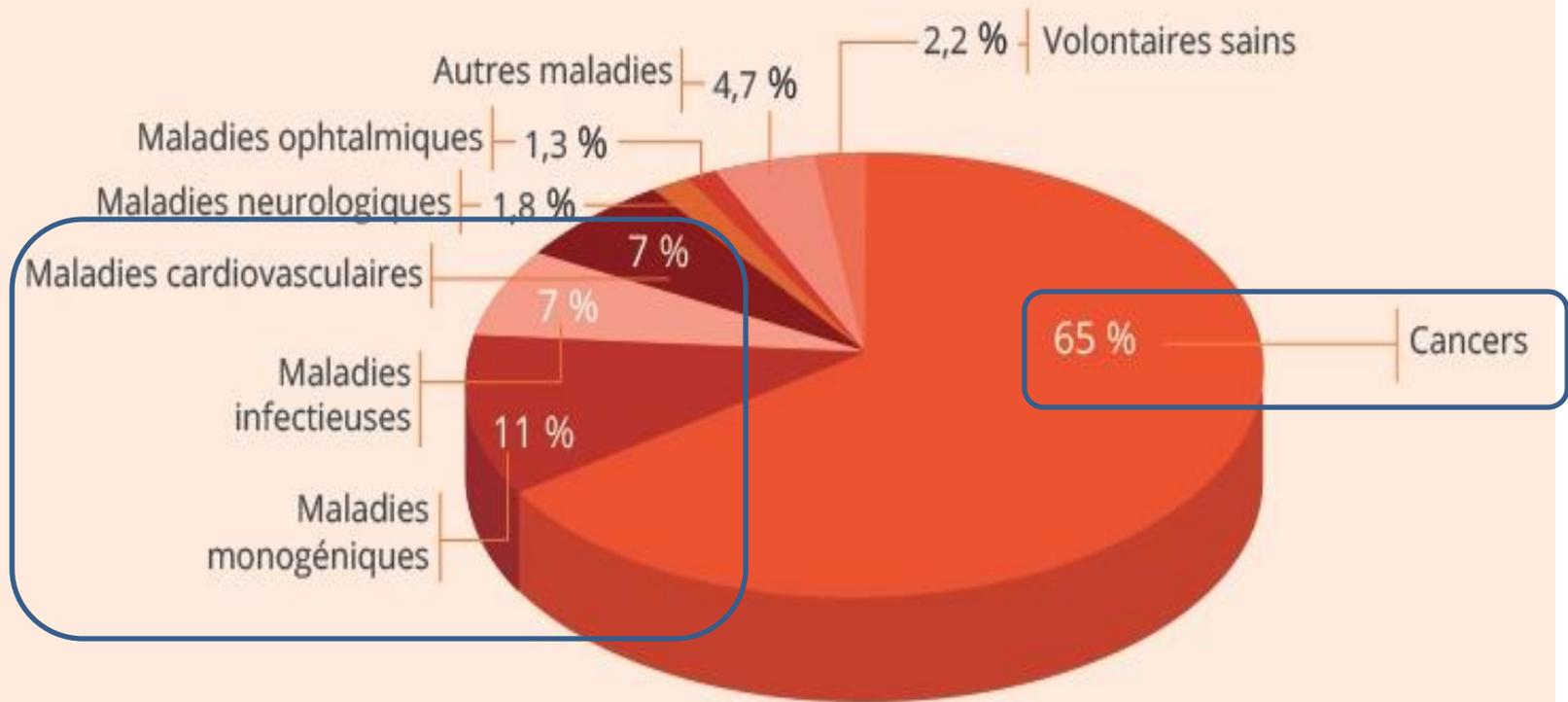
Médicament	Caractéristiques et indications
<b>Strimvelis</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>-le tout premier médicament combinant thérapie génique et cellulaire à avoir été autorisé au monde.</li><li>-Il a été approuvé en Europe en 2016.</li><li>-Indiqué dans l'ADA-SCID, il s'agit de cellules CD34+ autologues exprimant le gène ADA.</li></ul>
<b>Zalmoxis</b>	Indiqué contre le rejet de greffe de moelle osseuse depuis 2016 en Europe, - il repose sur la modification génétique de cellules T allogéniques avec un vecteur rétroviral.
<b>Kymriah et Yescarta</b>	Approuvés en 2017 aux Etats-Unis, - ils correspondent à des cellules T autologues génétiquement modifiées ( <i>CAR T cell</i> ) pour traiter des formes résistantes de <b>lymphome</b> aigu touchant les cellules B.
<b>Luxturna</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>-vecteur adéno-associé</li><li>-indiqué dans la dystrophie rétinienne liée à la mutation RPE65.</li><li>Il a été approuvé aux Etats-Unis fin 2017.</li></ul>

# **III-Application de la** **thérapie génique**

# III-Application de la thérapie génique

## 1- les maladies les plus concernées

Indications visées par les essais cliniques de thérapie génique (1989-2017)



2-Exemples de succès et des espoirs réels contre les maladies

A- Cas des maladies monogéniques

Principe

régies par deux grands mécanismes



Cas de perte de fonction

la carence fonctionnelle d'un gène aboutit à un déficit (l'hémophilie ou de la mucoviscidose)



remplacer le gène déficient par un gène en état de fonctionner.



Cas de gain de fonction

les symptômes de la maladie sont liés à la synthèse d'une protéine anormale à effets délétères sous la direction du gène muté



-apport d'un gène fonctionnel



- inhiber le fonctionnement du gène muté ou inactiver son produit protéique.

# III-Application de la thérapie génique: 2-Exemples de succès et des espoirs réels contre les maladies

## A- Cas des maladies monogéniques

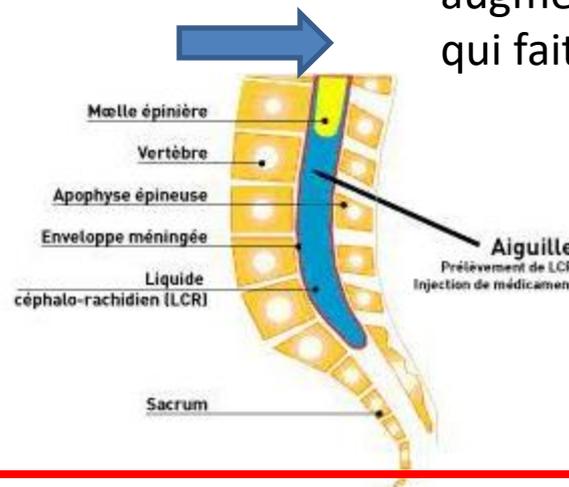
### Exemple1: l'amyotrophie spinale infantile

**maladie neuromusculaire**, se caractérise par une faiblesse et une atrophie musculaire dès les premiers mois de vie (Autrefois incurable, notamment la forme de type 1)

**-causée par réduction de la quantité en protéines SMN1** dans le système nerveux central système nerveux central

#### Stratégie 1

Un oligonucléotide antisens (Nusinersen), administré par voie intrathécale répétée,



augmenter la quantité de protéine qui fait défaut aux malades

#### Stratégie 2

Injection intraveineuse du vecteur AAV9 contenant une copie du gène SMN1



récupération fonctionnelle stable chez les enfants traités.

## III-Application de la thérapie génique: 2-Exemples de succès et des espoirs réels contre les maladies

### A- Cas des maladies monogéniques

#### Exemple2: la maladie l'amaurose de Leber

**maladie ophtalmique caractérisé par** une dégénérescence rétinienne pigmentaire suite a une mutation du gène responsable

Injection directe dans la rétine d'un vecteur de type AAV avec une copie fonctionnelle du gène altéré chez les malades,



permet de stopper l'évolution de la maladie

#### Remarque :

- Le vecteur de type AAV avec une copie fonctionnelle du gène représente le traitement (**Luxturna**) qui est disponible est commercialisé
- cette approche est également testée dans plusieurs autre maladies mono géniques ophtalmiques comme la **neuropathie optique de Leber** ou **maladie de Stargardt**.

## III-Application de la thérapie génique: 2-Exemples de succès et des espoirs réels contre les maladies

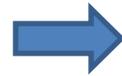
### A- Cas des maladies monogéniques

#### Exemple 3: La drépanocytose

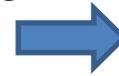
**maladie hématologique:** forme grave d'anémie chronique d'origine génétique due à une mutation dans le gène codant pour la  $\beta$ -globine



prélever des cellules souches hématopoïétiques au niveau de la moelle osseuse du patient



les modifier génétiquement à l'aide d'un vecteur lentiviral contenant le gène thérapeutique



les réinjecter chez le malade par voie veineuse



**une rémission complète après un suivi de 15 mois.**

#### Remarque

- ce protocole est appliqué chez un patient **de 13 ans** par des équipes françaises et américaines
- Une approche similaire a également donné des résultats très probants dans le traitement de la **thalassémie**. **Chez 22 patients**, elle a permis de réduire ou d'éliminer complètement le besoin de transfusion, et ce sans effet indésirable.

## III-Application de la thérapie génique: 2-Exemples de succès et des espoirs réels contre les maladies

### A- Cas des maladies monogéniques

#### Exemple 4: maladie d'ADA-DICS

**Déficit immunitaire** sévère caractérisé par l'absence de la protéine ADA (l'adénosine désaminase), nécessaire à la production de lymphocytes. la protéine ADA est produite par cellules progénitrices/cellules souches hématopoïétiques humaines (cellules CD34+ )

Prélèvement des cellules CD34+ autologues exprimant le gène ADA (chez une personne saine)



Injection au patient, par voie ex vivo et par un vecteur rétroviral codant la séquence d'ADNc du gène ADA humain.



Les lymphocytes sont produits chez le patient

#### Remarque:

les fractions de des cellules CD34+ exprimant le gène ADA transduites avec un vecteur rétroviral représente le médicament : Strimvelis

# B- Thérapie génique pour le cancer

## 1- La technique du gène-suicide

transférer dans des cellules (lymphocytes) le gène de l'enzyme: thymidine-kinase (TK), du virus de l'herpès (HSV)

injection des cellules génétiquement modifiées dans la tumeur maligne.

Le " gène-suicide ", (fragment d'informations génétiques issu du virus de l'herpès), s'introduit au sein des cellules malignes.

Ce médicament provoque la destruction sélective des cellules tumorales.

Administration au patient un médicament qui n'est actif qu'en présence d'affections virales herpétiques (Cymevan ou Ganciclovir)

## B- Thérapie génique pour le cancer

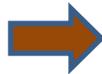
### 2- lutte contre l'angiogenèse

-la prolifération des nouveaux vaisseaux sanguins que la cellule cancéreuse induit



Angiogenèse  
(permet la transformation d'un petit amas de cellules anormales en une grosse masse pouvant se disséminer dans tout l'organisme)

Bloquer l'angiogenèse



un bon moyen de lutter contre les tumeurs

Utilisation de l'**angiostatine**,  
(protéine existant naturellement dans le corps)

Exemples des deux anti-angiogénèses : l'**angiostatine** et l'**endostatine** (synthétisées par une équipe franco-américaine)



les gènes qui codent ces protéine sont introduits dans un rétrovirus puis transférés dans des cellules souches de moelles osseuses cultivées *in vitro*



Transplantation de ces cellules dans l'organisme

### 3-Destruction spécifique des cellules tumorales

grâce à des produits cytotoxiques codés par de gènes avec une expression brève et une forte efficacité



Utilisation des cellules dites " vero ", provenant d'un rein de singe (dont l'intérêt est la capacité de " sur-exprimer " le gène-médicament avant d'être détruites rapidement).



**Exemple: utilisation des cellules vero pour stimuler la fabrication de l'interleukine II (cytotoxique), au niveau d'une tumeur, sans risque d'affecter, (à cause d'une expression trop durable du gène), les autres cellules de l'organisme.**

## B- Thérapie génique pour le cancer

### 4-Injection du gène suppresseur de tumeurs ( P 53)

- dans la cellule normale, le P 53, surnommé " gardien du génome « , répare les mutations et si les dégâts sont trop importants, il amorce le programme d'autodestruction de la cellule.
- La moitié des cancers portent la manque fonctionnel du P53



#### Solution

introduire un exemplaire actif du gène dans les cellules cancéreuses pour réactiver les mécanismes de correction ou d'autodestruction.

**Exemple dans cas de cancer " tête et cou « , cette thérapie semble être assez efficace**

**-pour les cas de cancer du poumon, du sein, de l'ovaire, de la prostate, du cerveau..., les essais sont encore à des phases précoces.**

# C- Thérapie des maladies cardiovasculaires

## Cas de maladies ischémiques

L'**ischémie** est un défaut d'oxygénation des cellules, en général secondaire à un rétrécissement ou une occlusion d'une ou plusieurs artères.

possibilités de stimuler la repousse de vaisseaux sanguins par transfert de gènes de facteurs de croissance des cellules endothéliales vasculaires (VEGF) (*un facteur de croissance des vaisseaux sanguins*)  injection directe des vecteurs dans les zones malades

Remarque:

*. une expression prolongée des gènes induirait probablement la formation de nouveaux vaisseaux sanguins dans d'autres régions de l'organisme, ce qui pourrait conduire à la formation de tumeurs donc il n'est ici pas nécessaire ni même souhaitable d'obtenir une expression prolongée des gènes thérapeutiques*

# C- Thérapie des maladies cardiovasculaires

## 2- Cas des sténoses et restenoses

Une sténose est le rétrécissement d'un tube ou d'un canal cardiaque de l'organisme par accumulation de substances dans la lumière ou par épaissement de la paroi.

- angioplastie coronaire est l'opération d'une dilatation de ces canaux
- La principale indication potentielle d'une thérapie génique artérielle est la prévention de la resténose (une dilatation excessive) après angioplastie coronaire.



Les gènes candidats actuellement testés sur des modèles expérimentaux de resténose sont des gènes inhibiteurs de la prolifération des cellules musculaires lisses



-Les gènes cytotoxiques  
(thymidine kinase)



Des gènes cytostatiques  
(mutants de Rb et de ras, gax)

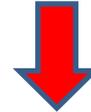
# C- Thérapie des maladies cardiovasculaires

## 3-maladies cardio-vasculaires d'origine génétique

Des chercheurs ont modifié un virus (AAV pour Adeno-Associated Virus) afin. jusqu'à présent expérimentés en thérapie génique.



Le virus modifié peut être injecté aux malades par voie intraveineuse car il va rester dans la circulation sanguine bien plus longtemps que les vecteurs traditionnels



ce vecteur innovant va interagir spécifiquement avec les cellules endothéliales vasculaires et ainsi délivrer de manière ciblée le « gène médicament » qu'il contient.

### **Exemple le Cas d' insuffisance cardiaque par troubles de la captation calciques myocardique chez les rats.**

introduit au niveau des cellules myocardiques le gène S16EPLN codant pour la protéine phospholamban



La présence de S16EPLN a majoré l'activité de l'enzyme SERCA2 et a permis de compenser les troubles de la captation calciques myocardique

# D- Thérapie génique du sida

Les traitements antiviraux ( les «trithérapies) réduisent grandement la quantité de VIH circulant dans le sang (il devient indétectable), mais celui-ci ne disparaît de l'organisme et reste caché dans des cellules du système immunitaire, (les lymphocytes T CD4).

```
graph TD; A[Les traitements antiviraux...] --> B[Plusieurs essais de thérapie géniques sont lancés]; B --> C[Remplacement de la moelle osseuse du patient]; B --> D[Utilisation d'une alternative au vaccin (anticorps neutralisants)]; B --> E[Leurrer le virus (le tromper)];
```

## Plusieurs essais de thérapie géniques sont lancés

Remplacement de la moelle osseuse du patient

Utilisation d'une alternative au vaccin (anticorps neutralisants)

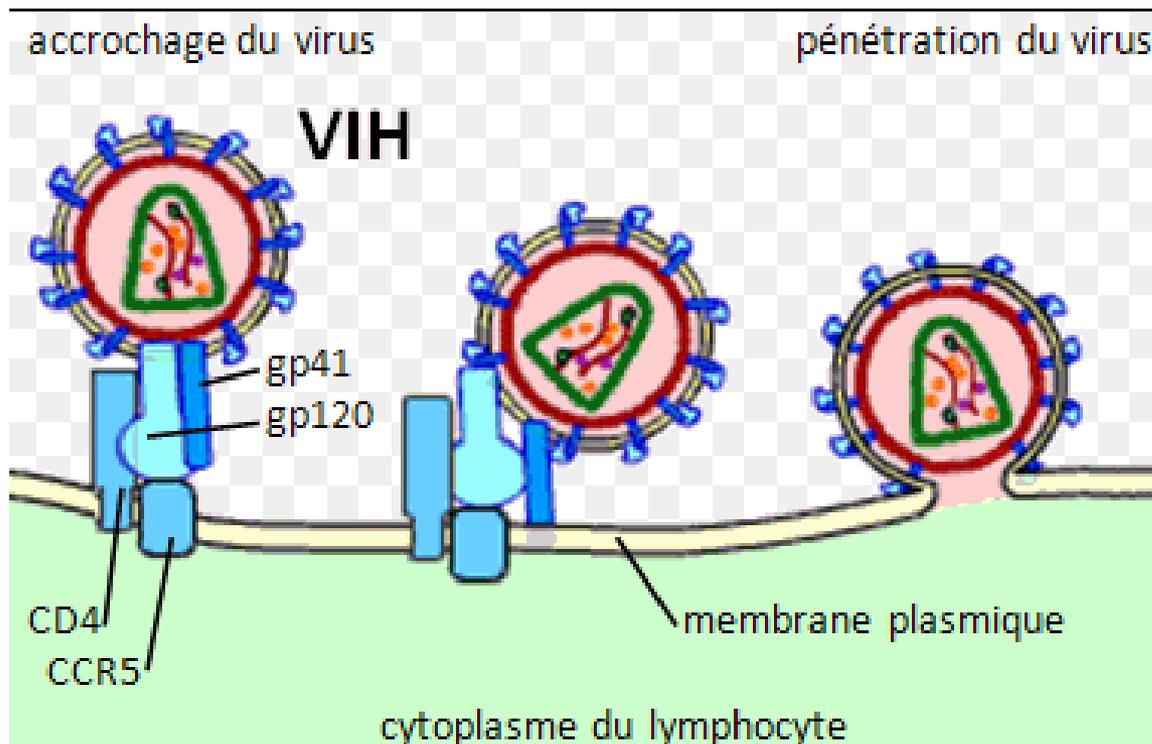
Leurrer le virus (le tromper)

# D- Thérapie génique du sida

## 1- Remplacement de moelle osseuse

### Principe de base

- Pour pénétrer dans les immunitaire , le VIH utilise deux «portes d'entrée» situées à leur surface, les récepteurs: **CD4 et CCR5**.
- individus qui résistent au sida sont des porteurs d'une mutation génétique qui empêche la formation du récepteur CCR5. Or, «sans ce récepteur, il n'y a pas ou peu d'infection.



# D- Thérapie génique du sida

## 2- Remplacement de moelle osseuse

### L'expérience de base

L'essai est mené sur un homme (Timothy Brown) séropositif et souffrant aussi d'une leucémie aiguë.



Pour traiter ce cancer, son médecin a eu recours à une greffe de moelle osseuse issue d'un donneur portant la mutation ( les cellules étaient dépourvues de CCR5.



Sept ans après son traitement, Timothy Brown était complètement guéri!



Ce cas a largement contribué à l'essor d'une nouvelle stratégie anti-sida:



**Remplacement de la moelle osseuse du patient**

# D- Thérapie génique du sida

## 3- Remplacement de moelle osseuse

prélever, dans la moelle osseuse d'un patient, des cellules-souches



les modifier génétiquement pour les priver de leur récepteur CCR5.



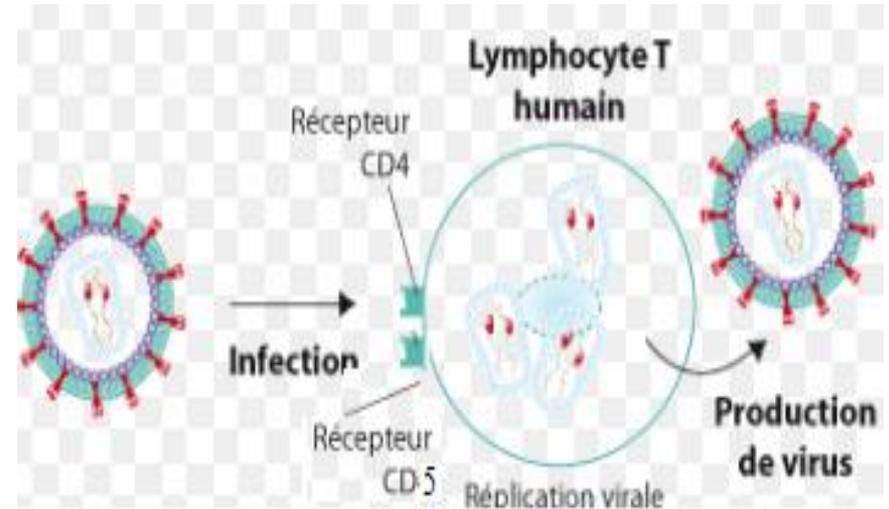
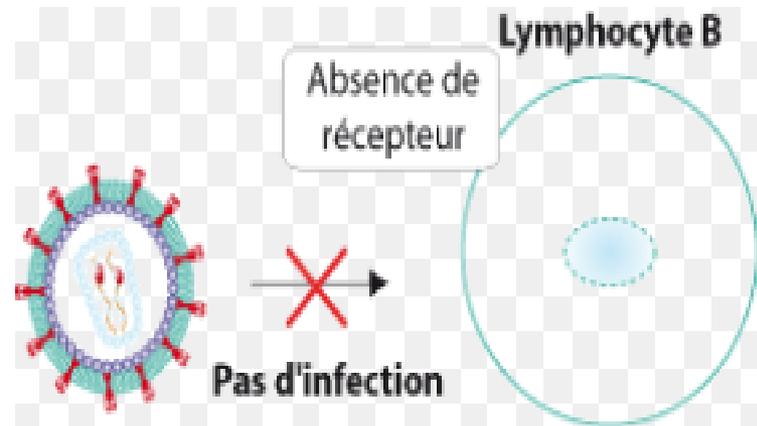
la personne devient résistante au VIH.



Les cellules mutées pourraient remplacer la moelle préexistante



réinjection dans l'organisme, des cellules mutées



# D- Thérapie génique du sida

## 4-Utilisation d'une alternative au vaccin

### Expérience tentée sur sept souris infectées par le VIH

Placement du gène responsable de la fabrication de ces anticorps sur un vecteur (AAV) qui l'amènera jusqu'aux cellules visées.



Injection dans le muscle,



Espoir que les cellules musculaires de fabriquent l'anticorps neutralisant



### Résultat

La concentration de virus dans leur sang a considérablement diminué et «une seule a rechuté.

### Inconvénient

Risque que ces anticorps neutralisants provoquent une réaction du système immunitaire qui pourrait les faire disparaître

# D- Thérapie génique du sida

## 5-Leurrer le virus

### Expérience menée sur les singes

#### Principe:

introduire dans l'organisme des récepteurs CD4 artificiels et inciter le virus à s'accrocher à ces récepteurs CD4 artificiels, plutôt qu'aux «vrais» récepteurs des cellules.

construction d'un gène synthétique.  
En greffant des parties de CD4 et «quelque chose qui ressemble» à CCR5, sur les gènes codant pour un anticorps



Emplacement de celui-ci sur un vecteur et injection à des singes

#### Résultats

-On n'a pas réussi à infecter les singes ainsi traités, même avec de hautes doses du SIV (le sida des singes), alors qu'il suffit de faibles concentrations du virus pour rendre les autres malades».  **Résultat spectaculaire**

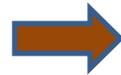
- Mais Il reste notamment à savoir si cette thérapie permettra d'éliminer le virus chez les singes déjà infectés.

# E- La thérapie génique associée

combinaison de la thérapie génique et d'un traitement médical ou chirurgical classique.

## Exemple1: maladie de greffon

Lors des greffes de moelle osseuse, on est amené à injecter au patient des lymphocytes du donneur de moelle



Risque d'exposer le patient à un risque de maladie de greffon contre l'hôte qui peut être très grave.



prélever des lymphocytes du donneur et d'y transférer un gène-suicide (enzyme TK du virus de l'herpès) avant de les injecter au patient greffé



Administration au receveur une molécule qui cible ces lymphocytes (le Ganciclovir).

Les lymphocytes modifiés, rendus sensibles à cette substance seront détruits



# E- La thérapie génique associée

## Exemple2: chimiothérapie et thérapie génique du cancer

Lors de traitements de cancers par chimiothérapie, souvent des greffes autologues de cellules sanguines (à l'origine des défenses immunitaires), sont envisagés.

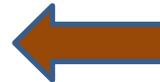


Meilleur moyen est de réinjecte au patient ses propres cellules traitées par thérapie génique



???????

Une équipe américaine (université de Yale) vient de mettre au point un système de thérapie génique par gène suicide permettant de se débarrasser des cellules cancéreuses résiduelles.



souvent il peut rester des cellules cancéreuses dans les populations cellulaires sanguines que le patient reçoit

# F-Les principales pathologies concernées par les essais de la thérapie génique

<b>Tête : Maladie de Parkinson</b>	ralentissement de la mort des neurones et stimulation de leur repousse.
<b>MUSCLES :</b> -Myopathie de Duchenne -Dégénérescence musculaire due au vieillissement :	injection du gène de l'utrophine pour rétablir la liaison muscle-cerveau. -injection d'un facteur de croissance des muscles (IGF-1).
<b>Sang</b> -Diabète insulino-dépendant -Anémie (déficit dans le transport d'oxygène) :	-restitution d'une enzyme impliquée dans la synthèse du glycogène et de l'insuline. -injection d'un facteur de croissance des muscles (IGF-1).
<b>Intolérance au lactose</b>	introduction du gène codant pour la galactoridase.
<b>POUMONS</b> -Mucoviscidose	transfert du gène CFTR
<b>COLONNE VERTÉBRALE</b> -Sclérose latérale amyotrophique (paralysie progressive) :	on injecte un facteur de croissance des neurones ou un gène pour stopper la mort des neurones.
<b>COEUR ET ARTÈRES</b> -Maladies cardiovasculaires :	revascularisation autour des veines obturées.
<b>SYSTÈME IMMUNITAIRE</b> -Maladies infectieuses : SIDA, paludisme, hépatite B, herpès, tuberculose, grippe, athérosclérose :	système de vaccination ADN.
<b>CANCERS</b> Cerveau, ORL, prostate, reins, peau, sein, poumon, leucémie :	certaines gènes injectés poussent les tumeurs à s'autodétruire, d'autres les asphyxient ou les empêchent de migrer, ou encore stimulent le système immunitaire contre elles.

# G-Les protocoles et les essais cliniques en cours

PAYS	PROTOCOLES		PATIENTS	
	Nombre	%	Nombre	%
Amérique	277	75,5	2210	71,5
- dont États-Unis :	270		2162	
Europe	70	19,1	510	16,5
- dont France :	14		87	
Asie	10	2,7	29	0,9
Autres	10	2,7	369	11,1
<b>Total :</b>	<b>367</b>	<b>100</b>	<b>3118</b>	<b>100</b>

<b>Total :</b>	<b>367</b>	<b>3089</b>
	PROTOCOLES	PATIENTS
<b>Cancer</b>	230	2099
<b>Cardiovasculaires</b>	11	39
<b>Maladies infectieuses</b>	29	405
<b>Maladies génétiques</b>	53	286
<b>Maladies auto-immunes</b>	5	28
<b>Autres</b>	39	232
<b>Total :</b>	<b>367</b>	<b>3089</b>

**Fin du chapitre 5**

**Merci**

**S. Dekkiche**