

Chapitre VI: Généralités sur la thérapie génique

Plan

- I. Définition
- II. Historique
- III. Maladies soignées
- IV. Principes
- V. Avantages & inconvénients

Plan

- I. Définition

Définition

- -Méthode thérapeutique visant à traiter une maladie en modifiant l'information génétique.
- -Le principe de la thérapie génique est de remplacer, à l'intérieur des cellules malades, les allèles défectueux responsables de la maladie par un gène fonctionnant normalement.

Plan

- II. Historique

Historique de la thérapie génique

- Les premières expériences de transfert de gènes ont été faites en 1973.
- Les premiers essais de thérapie génique sont effectués par S. Rosenberg aux États-Unis à la fin des années 1980.

Historique de la thérapie génique

- -En 1999, les premiers essais cliniques sont réalisés à l'hôpital Necker.
- -Le 28 avril 2000 est marqué par un premier succès : la guérison de deux nourrissons souffrant d'un déficit immunitaire sauvés par la thérapie génique (figure 1).
- -L'année 2009 est marquée, quant à elle, par le succès de la thérapie génique sur deux enfants par une équipe de l'Inserm. Aucun effet secondaire n'est apparu par la suite.

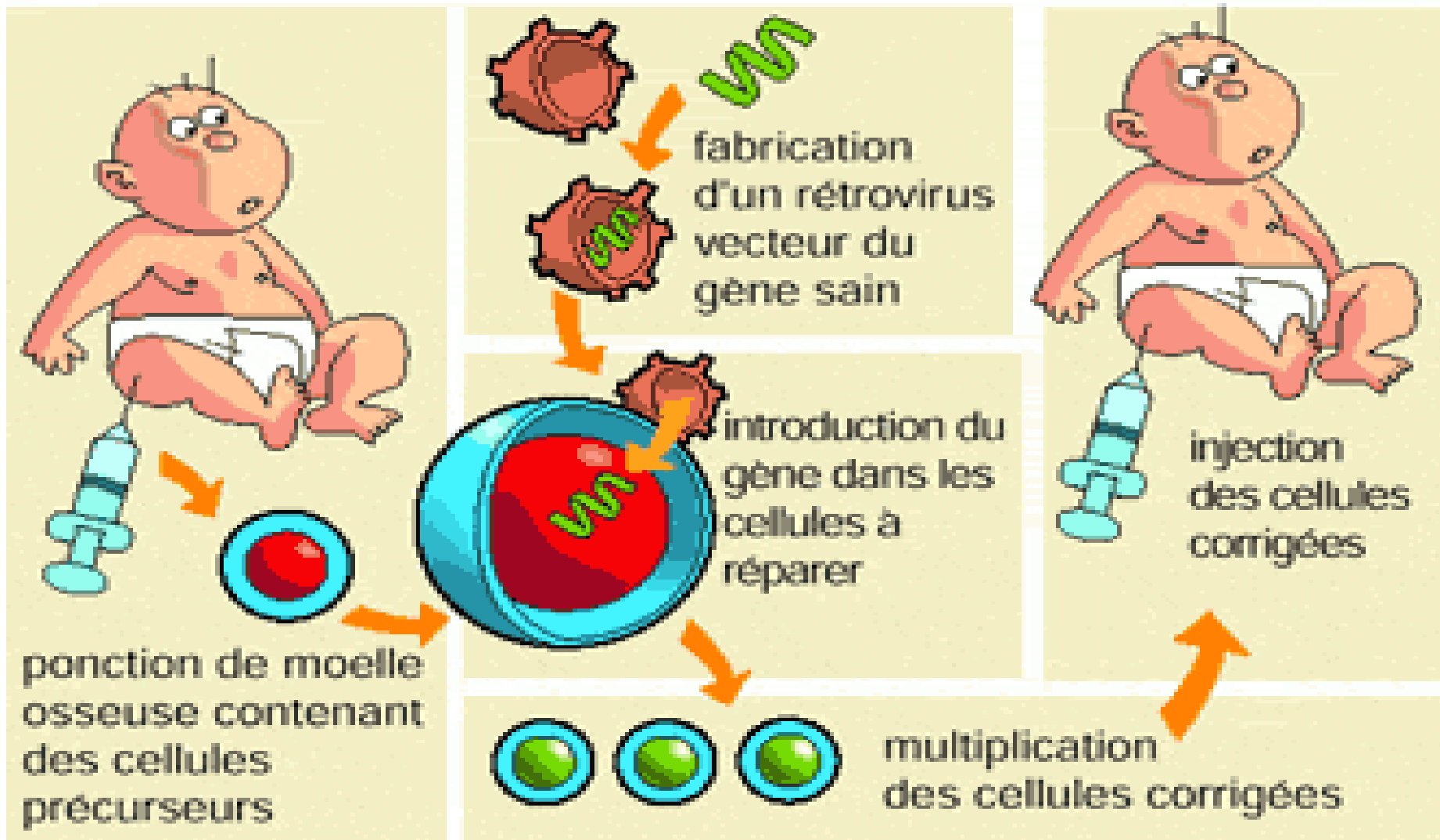


Figure 1: Première réussite de la thérapie génique « enfants bulles ».

Plan

- III. Maladies soignées

Maladies soignées

Les différentes maladies qui se soignent avec la thérapie génique sont :

- -Mucoviscidose
- -Hémophilie
- -Myopathie
- -Immunodéficiences
- -Cancer

Plan

- IV. Principes

Principes, aspects techniques

Une méthode en 4 étapes :

- Isoler et cloner le gène d'intérêt thérapeutique,
- Réaliser un vecteur chargé d'amener le transgène dans le noyau cellulaire,
- Administrer le vecteur (3 protocoles \neq),
- Vérifier l'intensité et la durée de l'expression du gène thérapeutique, mais aussi les effets secondaires éventuels.

Principes, aspects techniques

Etape ① : isolement et clonage du gène d'intérêt thérapeutique

- Grâce aux connaissances relatives au génome humain, on parvient facilement et rapidement à isoler un gène et à le cloner (PCR)

→ *Cf. Fiche Génoscope*

Principes, aspects techniques

Etape ② : Réalisation d'un vecteur amenant le transgène dans le noyau de la cellule-cible

Le vecteur généralement utilisé est un virus :

- adénovirus,
- rétrovirus.

Principes, aspects techniques

Étape ② : Réalisation d'un vecteur amenant le transgène dans le noyau de la cellule-cible

Pour produire ces vecteurs viraux on utilise des ϕ modifiées, **les ϕ d'encapsulation.**

Ces ϕ expriment, normalement, les protéines virales formant la capsid de façon stable (figure 2).

En l'absence de génome viral, elles ne produisent que des particules virales vides.

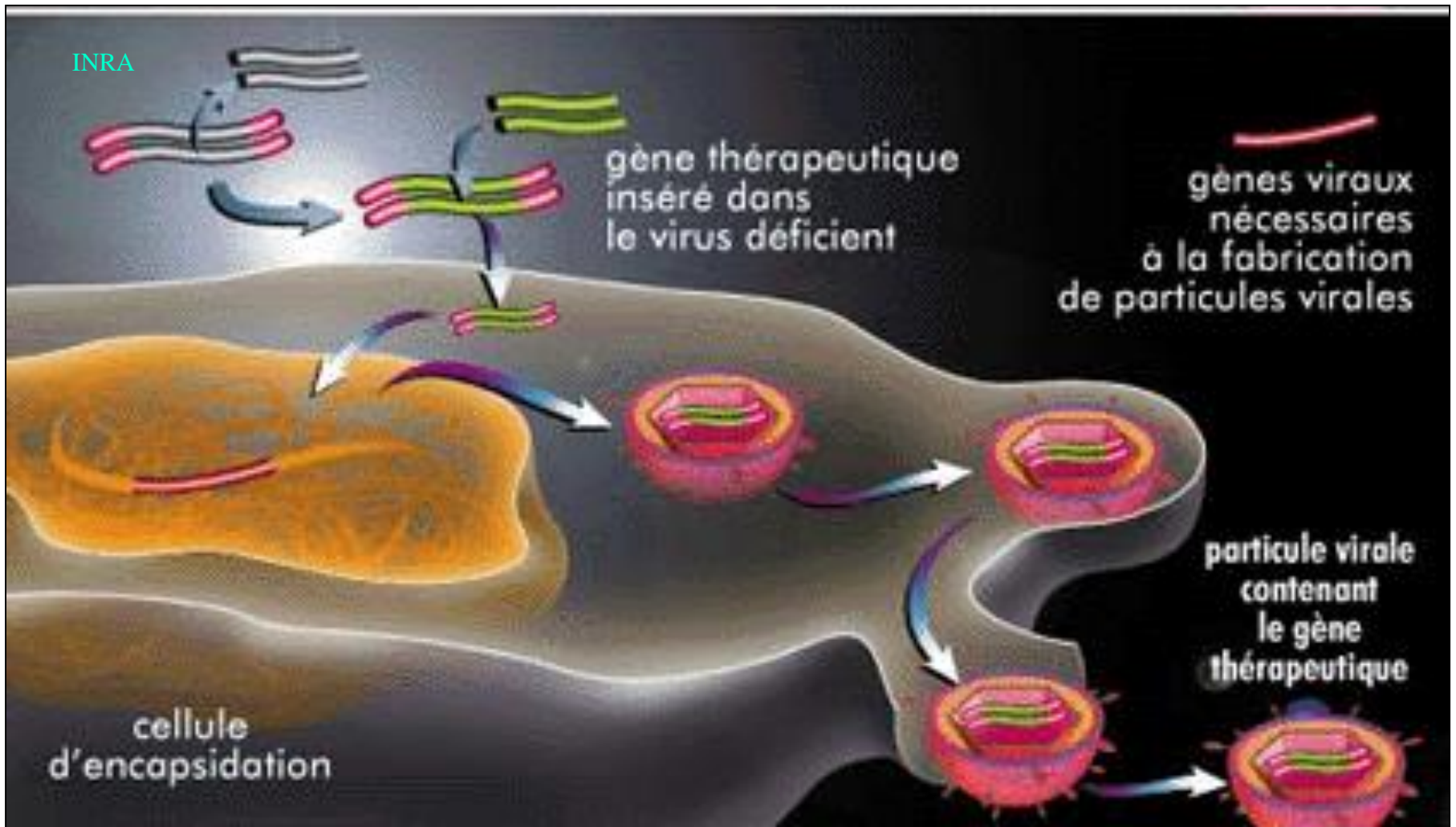


Figure 2: Cellule d'encapsidation.

L'introduction dans ces cellules d'une construction génétique : génome viral + gène thérapeutique conduit à la formation de particules virales complètes contenant vecteur.

Principes, aspects techniques

Quels vecteurs ?

Aujourd'hui, l'évolution de la thérapie génique repose essentiellement sur le développement des systèmes de transfert de gènes.

Ils doivent être :

sûrs, efficaces, spécifiques à un type cellulaire, capables de fonctionner dans des cellules qui ne se divisent pas en assurant la stabilité de l'expression du gène d'intérêt thérapeutique.

De plus, leur production industrielle doit être fiable et rentable.

Principes, aspects techniques

Quels vecteurs ?

3 types :

- les **vecteurs viraux** = virus transformés = rétrovirus, adénovirus, et AAV(virus associé à un adénovirus),
- les **vecteurs non-viraux** : il en existe deux classes principales : l'ADN plasmidique et les vecteurs synthétiques (ADN nu, ADN complexé à des lipides cationiques ou ADN condensé par des polymères cationiques et inséré dans des liposomes).
- les **méthodes physiques** : électroporation et injection sans aiguille.

Principes, aspects techniques

Quels vecteurs ?

- **Les virus** sont particulièrement efficaces pour délivrer leur information génétique (ADN ou ARN) dans des cellules spécifiques. Aujourd'hui, approximativement 2/3 des protocoles cliniques de thérapie génique utilisent un vecteur d'origine virale.

- Pour le transfert de gènes chez l'Homme, les virus sont classés en deux catégories :
 - lytiques : ont un cycle reproductif très court qui aboutit à la destruction des cellules infectées
 - non lytiques : qui sont produits par « bourgeonnement » des virions à partir des membranes plasmiques des cellules infectées et pendant un laps de temps prolongé.

Principes, aspects techniques

Quels vecteurs ?

Les vecteurs non viraux :

- Ils sont peu immunogènes, ce qui autorise les administrations répétées,
- Ils n'ont pas de limite théorique quant à la taille de la cassette d'expression,
- Ils peuvent être produits à partir de composants définis.

Principes, aspects techniques

Étape ③ : Administration du vecteur

- La thérapie génique *ex vivo* :

prélever sur le patient les cellules cibles,
les **modifier génétiquement** avec le vecteur
viral porteur du gène d'intérêt thérapeutique,
puis à les **réintroduire** chez le patient.

Méthode utilisée en particulier pour les cellules
sanguines, faciles à prélever et à réintroduire
(Figure 3).

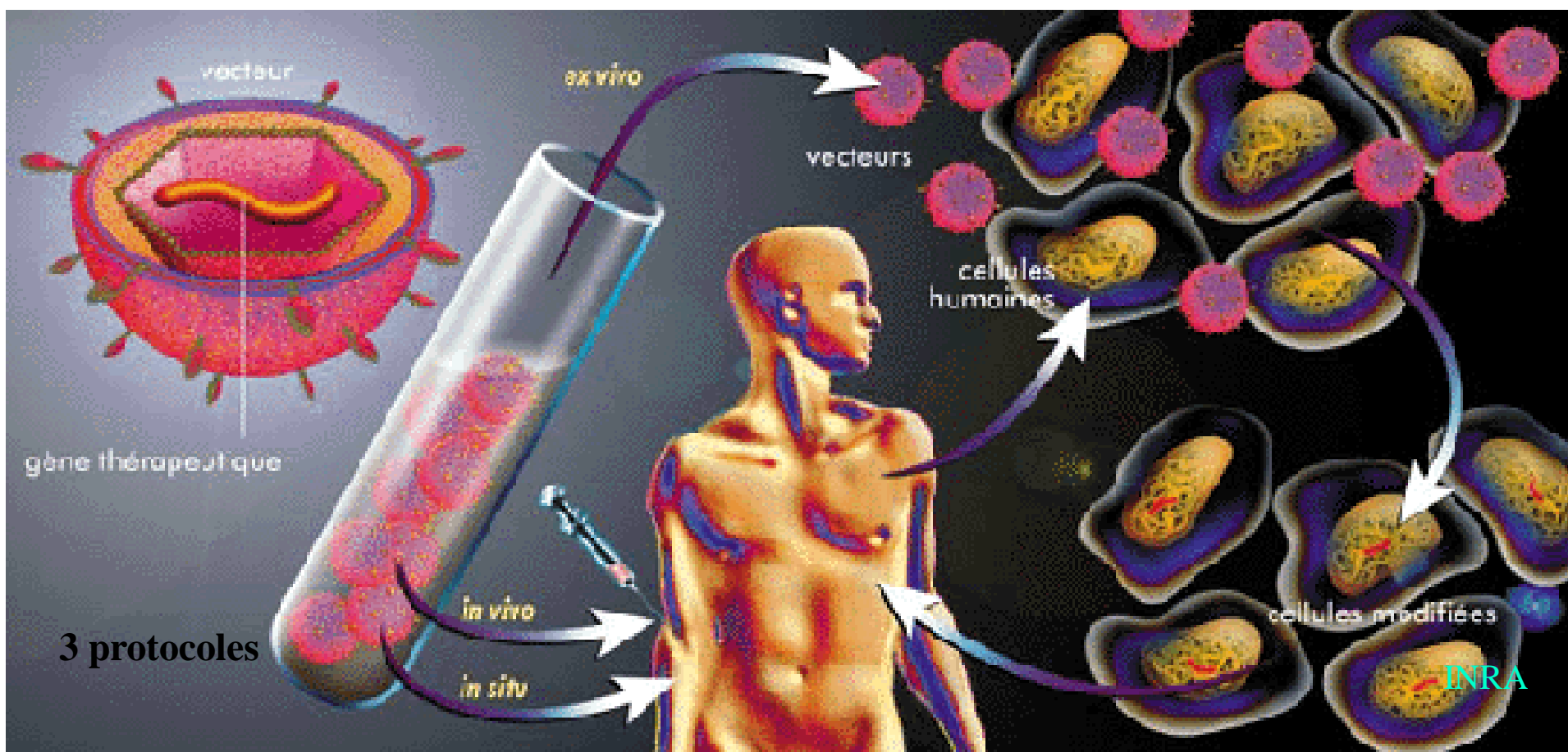


Figure 3: Administration du vecteur .

Principes, aspects techniques

Étape ③ : Administration du vecteur

- la thérapie génique *in situ* :

le vecteur de transfert est directement injecté au sein du tissu cible.

- la thérapie génique *in vivo* :

elle consiste à injecter le vecteur portant le gène d'intérêt thérapeutique directement dans la circulation sanguine, celui-ci devant atteindre spécifiquement les cellules cibles.

Principes, aspects techniques

Étape ④ : Vérification de l'expression du gène thérapeutique

Pour infecter une cellule, la particule virale se fixe d'abord à la membrane cellulaire.

Les gènes viraux sont libérés dans le noyau et, qu'ils soient **intégrés ou non au génome cellulaire**, ils utilisent la machinerie de réplication de la cellule pour produire de nouvelles particules virales.

Ces dernières pourront aller infecter d'autres cellules (figure 4).

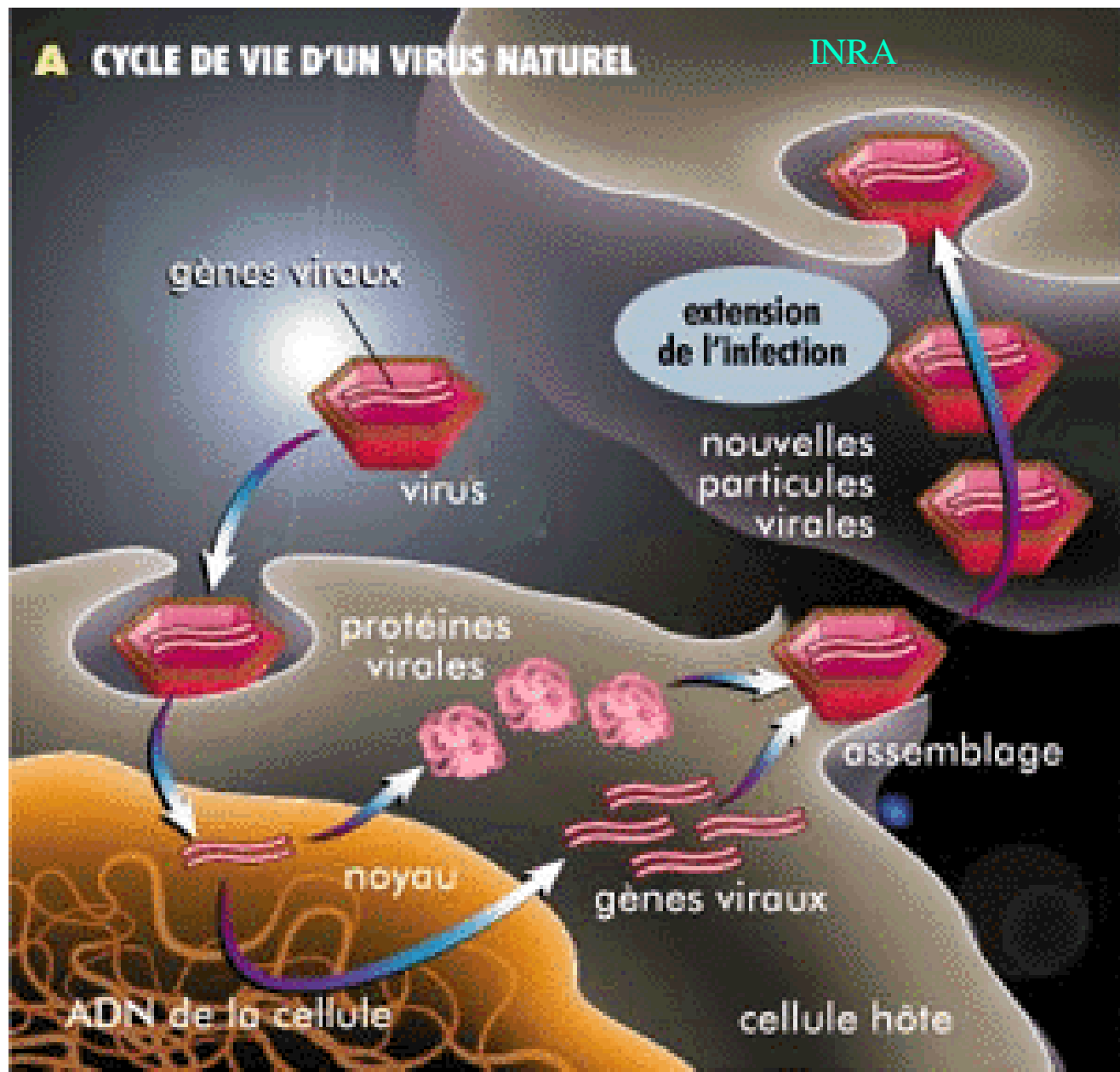


Figure 4: Cycle de vie d'un vecteur naturel.

Principes, aspects techniques

Étape ④ : Vérification de l'expression du gène thérapeutique

Lorsque le virus est modifié pour être utilisé comme vecteur de transfert, les gènes codant pour les protéines virales sont remplacés par le gène d'intérêt thérapeutique.

Ce vecteur pénètre dans la cellule de la même façon que le virus naturel.

Il permet la **synthèse de la protéine d'intérêt thérapeutique**, sans production de particules virales (figure 5).

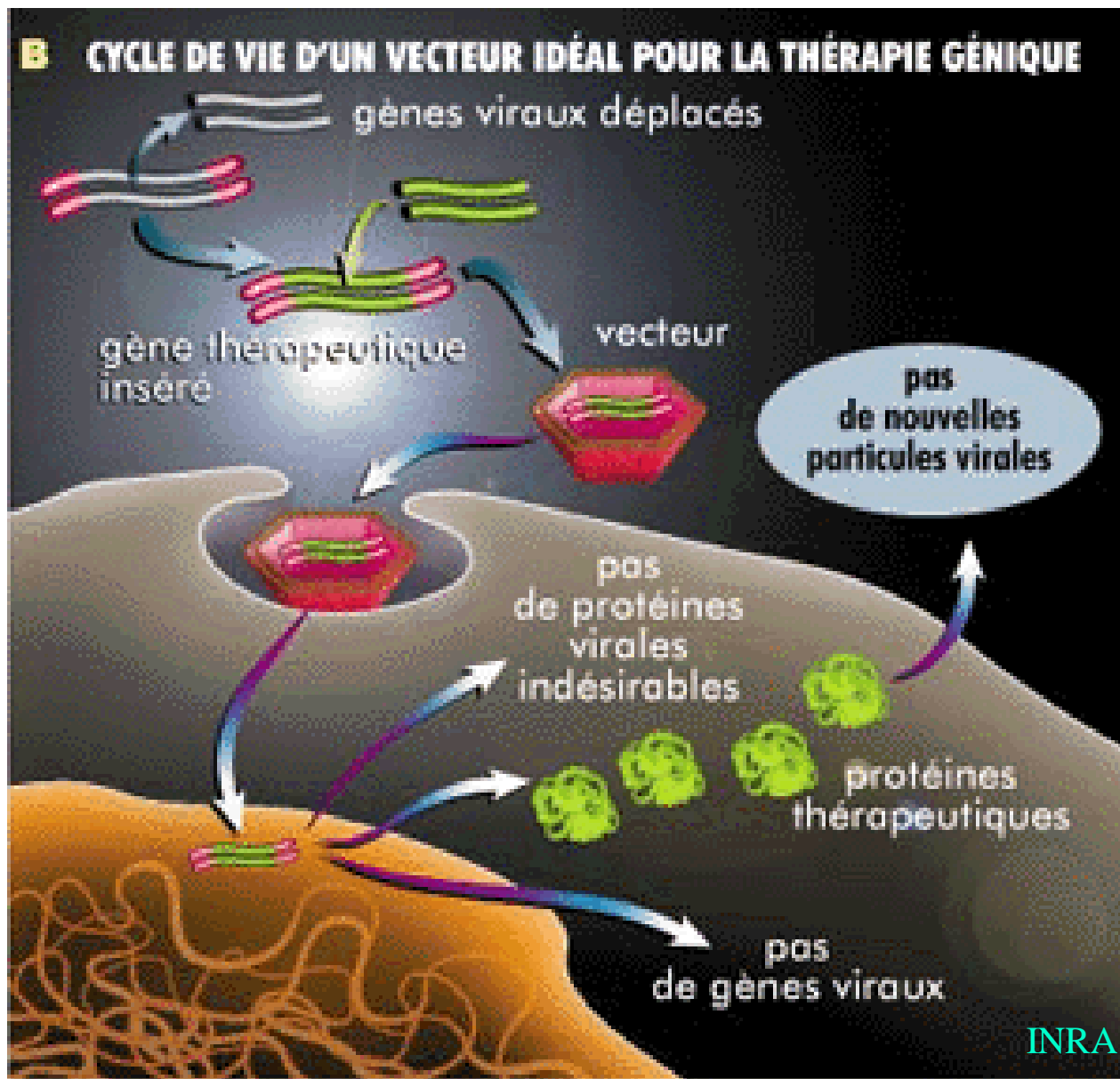


Figure 5: Cycle de vie d'un vecteur idéal pour la thérapie génique.

Plan

- V. Avantages & inconvénients

Avantages & inconvénients

Avantage principal :

- -Guérir toutes maladies ayant une origine génétique(Cancer, Mucoviscidose...)

Inconvénients :

- -Cette technique n'est pas encore totalement maîtrisée : l'allèle est inséré au hasard
- -L'efficacité est moindre
- -Des maladies (leucémie...) sont apparus chez les patients après avoir eu affaire à la thérapie génique.