

Projet de Thérapie Génique pour la maladie de Lesch-Nyhan (Mai 2014)

Rappel sur les recherches en cours à l'iStem

Depuis quelques années, trois équipes de recherche de l'iStem travaillent de manière complémentaire sur la maladie de Lesch-Nyhan.

Rappel: l'iStem (www.istem.eu) est le plus grand laboratoire français de recherche et de développement dédié aux cellules souches pluripotentes humaines. Il est issu de la collaboration de l'INSERM –Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale– et de l'AFM-Téléthon –Association Française contre les Myopathies).

A partir de biopsies de peau de 4 patients atteints de la maladie de Lesch-Nyhan, ces équipes ont réussi à créer des cellules souches pluripotentes (iPSC) puis à les faire se développer en neurones du cortex (neurones impliqués dans les fonctions cognitives et intellectuelles élaborées).

Définition: Les cellules souches pluripotentes induites (iPSC) peuvent en principe se développer en n'importe quel autre type de cellule humaine, notamment les divers types de neurones du cerveau. Il faut cependant trouver la bonne "recette" pour obtenir chaque type de cellule.

Les équipes de l'iStem essaient maintenant de faire que les iPSC se développent en neurones dopaminergiques. Ces neurones sont ceux qui synthétisent la dopamine, qui l'utilisent comme neurotransmetteur et dont on sait que le dysfonctionnement est une des causes des problèmes moteur des maladies de Parkinson, de Lesch-Nyhan, et aussi d'autres maladies avec mouvements anormaux. Le système dopaminergique est aussi impliqué dans l'apparition des automutilations dans la maladie de Lesch-Nyhan et dans certaines formes d'autismes.

Un des buts de ces travaux sur les iPSC de patients Lesch-Nyhan est de comprendre en quoi l'absence du gène HRPT, et donc de l'enzyme du même nom, affecte le développement des neurones du cerveau et cause les symptômes neurologiques de la maladie (tels que dystonie et automutilation). Car ce lien entre le manque d'HPRT et l'absence ou la défaillance des neurones dopaminergiques est aujourd'hui encore un mystère (alors que le lien avec l'acide urique et les problèmes rénaux est par contre déjà bien compris).

La troisième équipe de l'iStem travaille sur un projet de criblage à haut-débit qui permet de tester *in vitro* 20.000 molécules afin de voir celles d'entre-elles qui pourraient éventuellement compenser l'absence d'HPRT dans les cellules des patients Lesch-Nyhan.

En parallèle de ces travaux, l'iStem a également mené une réflexion sur de possibles approches par thérapies géniques.

Le projet de Thérapie Génique

Le 12 Mai 2014, l'iStem a annoncé à des représentants de l'association française *Lesch-Nyhan Action* (www.lesch-nyhan-action.org) que suite aux résultats positifs des tests initiaux, ils entamaient maintenant une étude préclinique de thérapie génique pour la maladie de Lesch-Nyhan.

Définitions:

- *Le principe de la thérapie génique est d'injecter un "vecteur" (un virus, modifié pour ne plus être nocif) qui va apporter à certaines cellules une version corrigée d'un ou plusieurs gènes. Ces gènes corrigés vont alors permettre aux cellules de créer des enzymes qui étaient manquantes.*
- *Une étude préclinique est celle dans laquelle on teste une thérapie sur des animaux afin de valider l'effet du traitement, d'évaluer son comportement et de connaître sa toxicité (doses maximales, effets secondaires, etc.).*
- *Les essais cliniques sur l'homme ont lieu après. Ces essais sur des volontaires malades permettent de confirmer les effets du traitement et d'identifier tout effet indésirable, afin de pouvoir faire ensuite la demande d'autorisation de mise sur le marché.*

Le but de cette thérapie génique pour la maladie de Lesch-Nyhan est de rétablir les niveaux de dopamine dans le cerveau, afin de réduire les symptômes neurologiques de la maladie.

Ce projet est coordonné par le Alexandra Benchoua et implique l'iStem, l'Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes (www.oniris-nantes.fr) et une petite entreprise de biotechnologie anglaise, déjà impliquée dans la thérapie génique d'une autre maladie avec mouvements anormaux.

Le partenaire à Nantes est le Centre de Recherche et d'Investigation Préclinique (C.R.I.P.). Il s'agit d'un centre spécialisé dans la validation préclinique sur des animaux de thérapies géniques. Ce centre est cofinancé par l'AFM. C'est là que se feront toutes les manipulations sur les animaux.

Le principe de ce projet est de tester sur le cas de la maladie de Lesch-Nyhan une thérapie qui a déjà été testée avec un certain succès sur des patients atteints d'une autre maladie avec mouvements anormaux (stabilisation des niveaux de dopamine et disparition des dyskinésies).

Un des grands avantages de ce projet, est donc que le vecteur et la thérapie elle-même ont déjà été validés pour une autre maladie. Il faut donc juste le tester pour le cas spécifique de la maladie de Lesch-Nyhan (d'abord sur des animaux, puis ensuite sur des humains). C'est un gain de temps énorme.

Même s'il existe un espoir de pouvoir lancer un essai clinique dans les prochaines années, il est aujourd'hui difficile d'annoncer un calendrier car il y a encore beaucoup d'incertitudes. D'abord, en fonction de ce que montreront les essais sur les animaux. Ensuite, car il est toujours possible que les autorités sanitaires exigent de faire des essais sur des animaux plus gros (chiens ou singes, par exemple) avant de passer à l'homme.

Comment ça marche?

Dans les maladies de Parkinson, de Lesch-Nyhan, et aussi dans certaines autres maladies avec mouvements anormaux, les neurones dopaminergiques sont absents ou déficients (pour des raisons différentes, particulières à chaque maladie). Comme ce sont ces neurones qui fabriquent la dopamine, le niveau de dopamine dans le cerveau est très bas, et cela cause les divers problèmes moteur observés dans ces maladies (et pourrait peut-être aussi être une des causes de l'automutilation dans la maladie de Lesch-Nyhan).

Le principe de la thérapie génique qui sera testée ici est d'utiliser un vecteur (virus modifié) pour introduire dans des neurones non-dopaminergiques des gènes qui leur permettront de produire eux aussi de la dopamine. En rétablissant ainsi les niveaux de dopamine dans le cerveau, on espère voire s'améliorer les symptômes neurologiques de la maladie.

Il ne s'agit donc pas de soigner les neurones dopaminergiques, mais de faire faire leur travail par d'autres neurones.

Remarques:

- *L'injection du vecteur dans le cerveau se fait par stéréotaxie (technique de neurochirurgie permettant d'atteindre des zones du cerveau de manière précise). C'est la même méthode que celle utilisée pour faire des biopsies ou pour déposer des électrodes dans le cas de stimulation cérébrale profonde. C'est aussi la méthode utilisée par Lysogène pour leur essai clinique sur la maladie de Sanfilippo (www.lysogene.com).*
- *Cette injection se fait une seule fois (une fois les gènes introduits, ils continueront de fonctionner par eux-mêmes). Il s'agit donc d'un traitement qui se fait en une seule "prise".*
- *Le problème est qu'une fois le vecteur en place, on ne peut pas interrompre le traitement (ce n'est pas comme un médicament qu'on peut arrêter de prendre si ça se passe mal). C'est pour cela que les tests sur animaux sont très importants, afin de bien comprendre toutes les conséquences du traitement.*

Dans un premier temps, l'iStem a testé ce vecteur dans des boîtes de pétri sur des neurones non-dopaminergiques qu'ils avaient créé à partir d'iPSC normaux ou Lesch-Nyhan (donc avec ou sans HPRT). Ils ont ainsi pu vérifier que dans tous les cas, indépendamment de la présence ou de l'absence d'HPRT, les enzymes étaient créées, et de la dopamine était synthétisée. Ce sont ces tests *in vitro* qui ont donné le feu vert pour passer aux essais sur les animaux.

Mais pour faire l'étude préclinique, il fallait trouver le modèle animal sur lequel faire les essais.

Les souris transgéniques sans le gène HPRT sont un modèle "génétique" de la maladie de Lesch-Nyhan couramment utilisé. Cependant, bien que ces souris n'aient pas le gène HPRT (ni l'enzyme correspondante), elles n'ont pas les symptômes de la maladie (pas d'automutilation, pas de dystonie). Ce ne sont donc pas nécessairement de bons modèles pour l'essai préclinique que propose l'iStem. En particulier, l'imagerie ou les autopsies sur ces souris montrent une faible réduction de la dopamine, alors que chez les humains atteints de la maladie de Lesch-Nyhan la perte de dopamine est beaucoup plus forte.

L'idée de l'iStem est donc d'utiliser un autre modèle animal de la maladie. Il s'agit de rats, dont on ne change pas le code génétique, mais dont on supprime les neurones dopaminergiques en injectant une certaine drogue, 3 jours après leur naissance. Ils grandissent donc alors sans (ou avec très peu de) dopamine, comme les enfants malades de Lesch-Nyhan. L'avantage de ces rats est qu'une fois adolescent ou adultes, ils présentent bien des symptômes similaires à ceux de la maladie de Lesch-Nyhan (problèmes moteur et automutilation). Il ne s'agit donc plus d'un modèle "génétique" mais d'un modèle "phénotypique" de la maladie de Lesch-Nyhan.

Ces rats sont un modèle déjà reconnu et validé par les autorités pour la maladie de Lesch-Nyhan. Et ce sont d'ailleurs ces mêmes rats qui ont servi pour les essais précliniques de l'Ecopipam (Dr Richard Chipkin, du laboratoire Psyadon Pharmaceuticals).

Au cours de l'étude, l'iStem testera l'injection du vecteur dans des rats de divers âges et en fera le suivi sur plusieurs mois. Cela permettra d'étudier l'effet du traitement en fonction de l'âge du patient, et sur la durée. Ensuite, les rats seront sacrifiés puis autopsiés pour mesurer le taux de dopamine produit (cette mesure est difficile à faire par imagerie car les animaux sont très petits).

La manipulation pilote aura lieu en Septembre/Octobre 2014, sur un nombre réduit d'animaux. Puis ce sera fait sur des groupes plus grands ensuite, pour pouvoir tester plusieurs possibilités (traitements à des âges différents, par exemple).

Autres remarques

En complément de l'étude préclinique, il serait très utile de pouvoir mettre en place une étude d'imagerie (IRM, ou mieux PET Scan) sur de jeunes enfants. Mais cela est difficile, surtout pour le PET Scan, car il faut faire une anesthésie générale et injecter un produit radioactif. Et cela ne sera très probablement autorisé par le comité de protection des personnes que dans le cadre d'un essai clinique (car le risque y est compensé par les potentiels bénéfiques), mais pas avant.

Par ailleurs, tant pour une étude d'imagerie que pour un éventuel essai clinique, il faudra trouver un neurologue motivé et qui pourra s'impliquer dans le projet.

- Fin du compte rendu -