

# Queste de savoir

La vraie thérapie génique

---

11 septembre 2021



# Table des matières

	Introduction . . . . .	1
1.	La myopathie de Duchenne . . . . .	1
1.1.	Les différents types de maladies neuromusculaires . . . . .	2
1.2.	La myopathie de Duchenne . . . . .	2
2.	Modifier le génome . . . . .	4
2.1.	Le fonctionnement du génome . . . . .	4
2.2.	Accéder au génome . . . . .	8
2.3.	Les ciseaux moléculaires . . . . .	8
2.4.	Quels espoirs pour la myopathie de Duchenne? . . . . .	9
	Conclusion . . . . .	11
3.	Sources . . . . .	11

## Introduction

Avec l'arrivée des vaccins à ARN, une frange non négligeable de la population craint qu'il ne s'agisse de thérapie génique et refuse donc l'injection. Dans cet article, je ne compte pas vous prouver que ce n'est pas le cas et que l'ARN contenu dans le vaccin ne peut pas modifier le génome<sup>1footnote:1</sup>, j'aimerais plutôt vous parler de ce qu'est la thérapie génique.

En effet, dans la bouche des anti-vaccins, ça semble être le mal absolu. Est-ce vraiment le cas? Et si la thérapie génique était au contraire un espoir formidable pour des millions de patients atteints de maladies génétiques?

## 1. La myopathie de Duchenne

Des maladies génétiques, il en existe des milliers. Dans les plus connues et qui condamnent à relativement brève échéance (quelques années à quelques dizaines d'années), on peut citer la mucoviscidose ou encore la maladie de Huntington (N°13 dans Dr House pour ceux qui connaissent 🍊).

J'ai choisi de vous parler de la **myopathie de Duchenne**. Il s'agit d'une maladie neuromusculaire.

---

1. <sup>2footnote:1</sup> Pour être tout à fait exact, ce n'est pas strictement impossible, mais c'est tellement improbable que même si on l'injectait à 1 million de fois la population mondiale, la probabilité pour qu'une seule personne voit son ADN altéré à cause du vaccin est infime. Et on ne parle même pas de la probabilité pour que cette modification ait une conséquence.

## 1. La myopathie de Duchenne

### 1.1. Les différents types de maladies neuromusculaires

Les maladies neuromusculaires sont - comme leur nom l'indique - des maladies des muscles ou bien de la partie du système nerveux chargée de générer ou de transmettre l'information motrice.

Schématiquement, la voie motrice contient les structures suivantes:

- les **aires motrices primaires**, situées dans la partie postérieure du lobe frontal du cerveau. C'est de là que naît le mouvement. Une atteinte de cette zone empêchera tout ou partie des muscles de fonctionner correctement. C'est ce que l'on appelle une *neuropathie centrale* (c'est un terme générique, il existe beaucoup de maladies dans cette catégorie).
- les **fibres nerveuses motrices** (ou motoneurons) partent des **aires motrices primaires**, font un relai au sein du **tronc cérébral** (qui est situé dans la partie basse du crâne qui fait le lien entre le cerveau et la moelle épinière) puis descendent le long de la **moelle épinière** dans sa partie antérieure. L'ensemble (ou presque) de ces fibres forme le **faisceau pyramidal**. Une atteinte de ce faisceau (le plus souvent traumatique, suite à un accident de la circulation par exemple) donne une également *neuropathie centrale* (parce que la moelle épinière fait partie du système nerveux central au même titre que le cerveau et le tronc cérébral).
- Au niveau de chaque **vertèbre**, la moelle épinière va donner des **nerfs** qui vont aller innerver les muscles. Par exemple, au niveau des dernières vertèbres cervicales (situées à la base du cou) vont naître plusieurs nerfs qui sont chargés d'innover les muscles des bras. Une maladie touchant un nerf s'appelle une *neuropathie périphérique* (parce que les nerfs font partie du système nerveux périphérique).
- Le nerf arrive au niveau du muscle qu'il innerve et le contact entre les deux se fait par le biais d'une zone qui s'appelle la **jonction neuromusculaire**. Son rôle: transmettre l'information nerveuse jusque dans les fibres musculaires. Les maladies de la jonction neuromusculaire sont appelées des *myasthénies*.
- Enfin, les maladies du **muscle** lui-même sont appelées des *myopathies*.

### 1.2. La myopathie de Duchenne

Parmi les myopathies, la myopathie de Duchenne est la plus grave. Elle touche un gène qui code pour une protéine appelée la *dystrophine* (c'est pour cela qu'on l'appelle aussi la **dystrophie de Duchenne**<sup>3footnote:1</sup>). Les mutations sont si graves que la protéine n'est pas du tout exprimée.

*i*

Dans le cas où les mutations sont moins importantes et que la protéine existe quand même mais sous une forme tronquée, on parle de **myopathie de Becker**, une maladie moins grave que la myopathie de Duchenne.

Le gène de la dystrophine est porté par le **chromosome X** (un des deux chromosomes sexuels). Les hommes ne possédant qu'un seul chromosome X, si la mutation est présente ils sont forcément atteints. Les femmes possédant deux chromosomes X, il faut que les deux soient atteints pour qu'elles aient la maladie (ce qui est rarissime); elles sont le plus souvent porteuses saines. Cette position particulière du gène explique pourquoi **les enfants touchés sont en immense majorité des garçons**.

## 1. La myopathie de Duchenne

La dystrophine est une protéine qui joue un rôle majeur dans le maintien de l'intégrité musculaire. Son absence conduit à une destruction progressive du tissu musculaire par nécrose.

Les enfants atteints de myopathie de Duchenne manifestent des troubles de la marche dès 2-3 ans (le diagnostic est souvent posé à cet âge-là, l'enfant présentant des difficultés à se relever), doivent se déplacer avec un fauteuil roulant à partir de 10-12 ans. Ils deviennent ensuite tétraplégiques au cours de l'adolescence puis décèdent vers 25 ans d'une insuffisance respiratoire provoquée par une atteinte des muscles de la respiration.

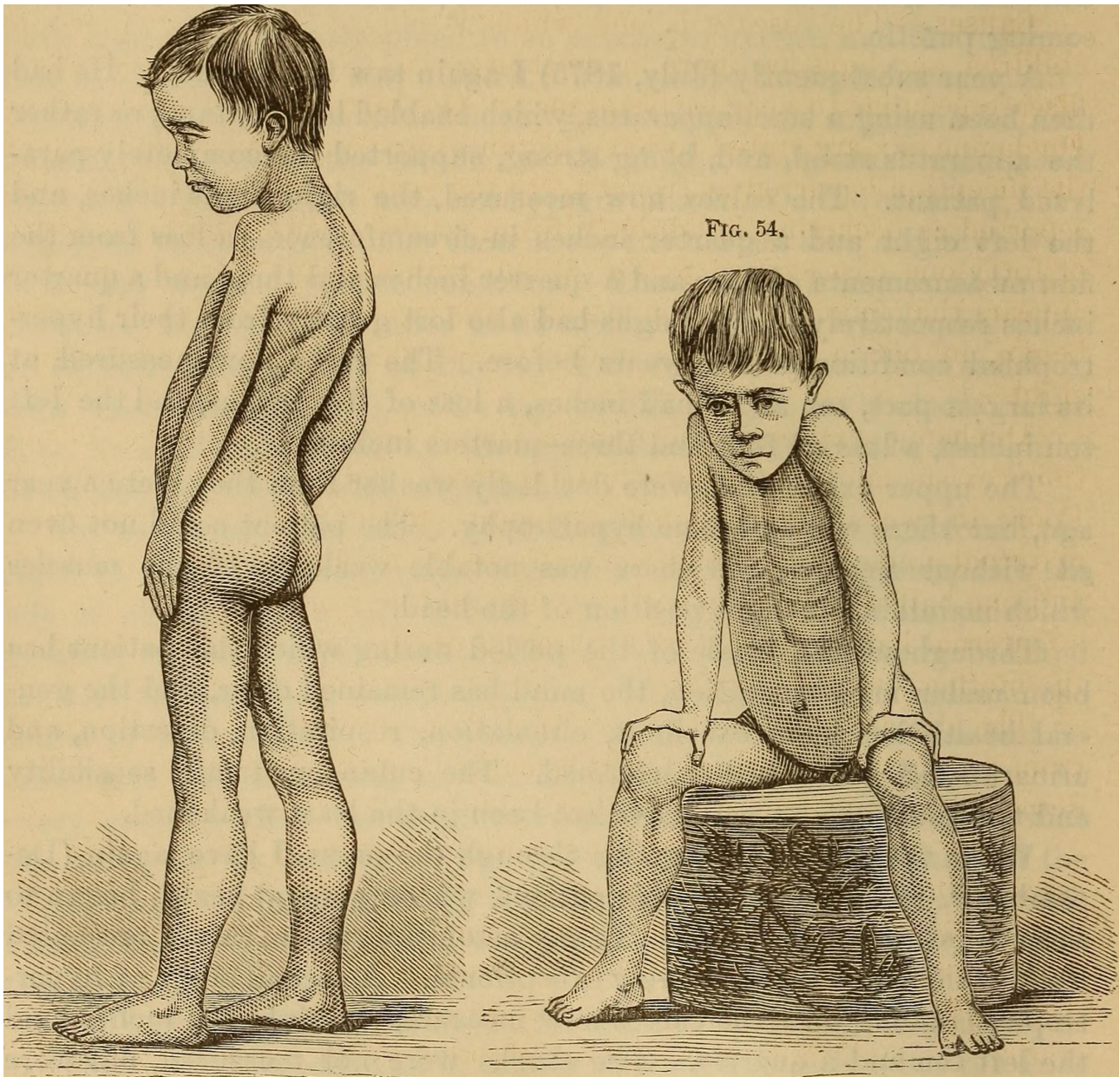


FIGURE 1.1. – Illustration d'un enfant atteint de la myopathie de Duchenne (wikipedia)

Cette chronologie est une évolution sans traitement, aujourd'hui de nouvelles thérapeutiques permettent d'allonger voire de quasiment doubler l'espérance de vie des patients et - à terme, en tout cas on l'espère - de les guérir complètement.

---

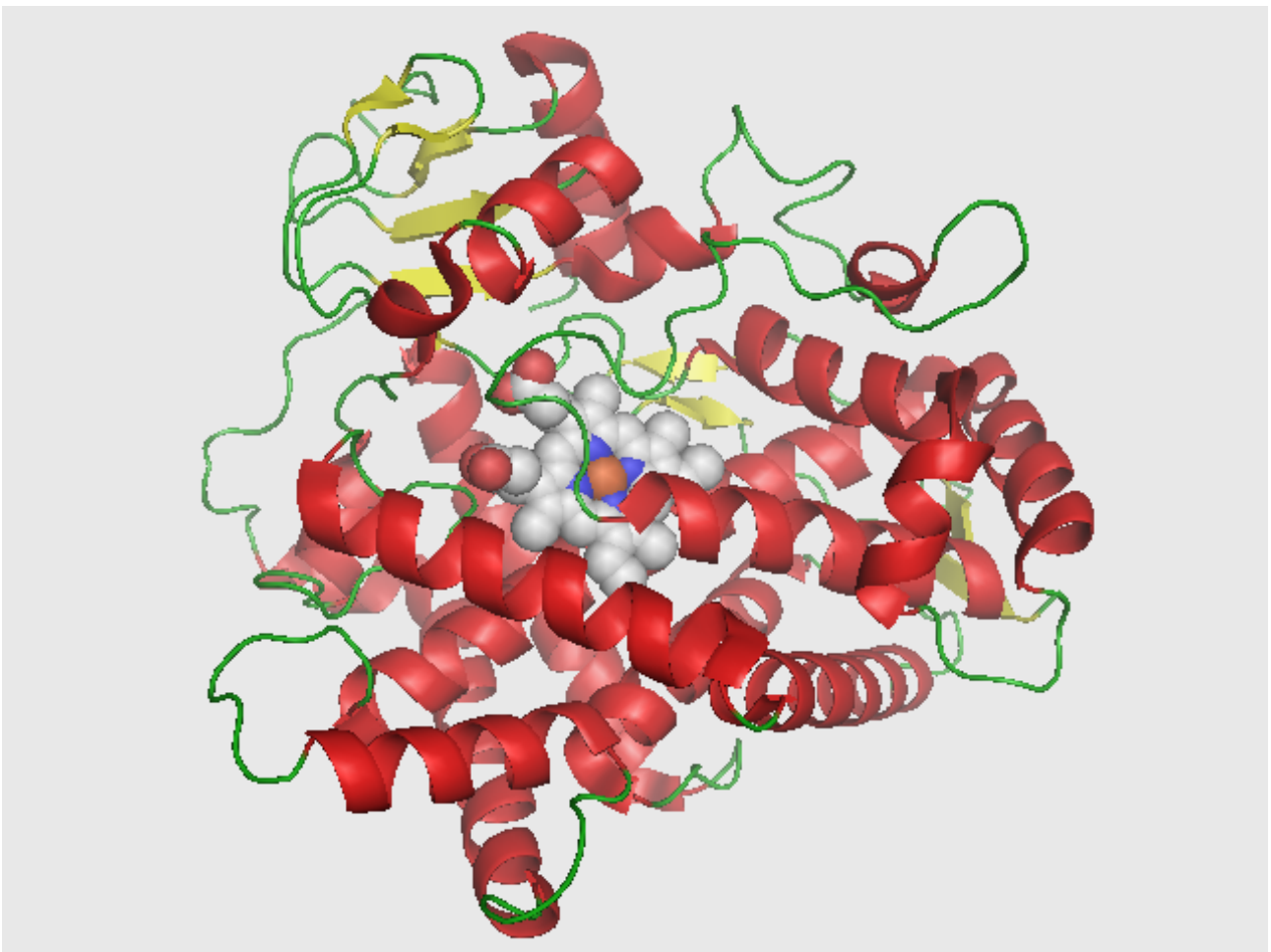
1. <sup>4</sup>footnote:1 Pour être parfaitement exact, une myopathie est une maladie qui touche les protéines

## 2. Modifier le génome

### 2.1. Le fonctionnement du génome

On en a tous entendu parler au collège de manière plus ou moins approfondie, mais une piqûre de rappel ne fait jamais de mal.

Notre corps est constitué de milliards de cellules qui forment des organes. Ces cellules fonctionnent grâce à de très grosses molécules que l'on appelle des **protéines**. Les protéines sont au cœur du fonctionnement des cellules et y sont extrêmement polyvalentes: elles permettent de synthétiser l'énergie nécessaire au fonctionnement de la cellule, de communiquer au sein d'une même cellule ou avec d'autres cellules, elles font office de récepteur pour les hormones qui transitent par le sang, etc. Bref, il existe une quantité faramineuse de protéines différentes: elles ont des rôles innombrables et sont donc absolument indispensables au bon fonctionnement des cellules.



---

contractiles du muscle, c'est-à-dire celles qui lui permettent de réduire sa longueur et donc d'initier un mouvement. En revanche, la structure du muscle en lui-même est intacte. Dans une dystrophie, les protéines contractiles sont parfaitement fonctionnelles: c'est la structure qui est altérée, entraînant une dysfonction du muscle puis des nécroses. *Stricto sensu* la myopathie de Duchenne est donc une dystrophie, mais en pratique on fait assez peu la distinction.

## 2. Modifier le génome

FIGURE 2.2. – À titre d'exemple, voici une protéine qui porte le doux nom de CYP2D6. C'est une protéine du foie qui a de très nombreux rôles parmi lesquels transformer la codéine (un antidouleur) en morphine (wikipedia).

Toutes ces protéines sont conçues à partir de briques de bases que l'on appelle les **acides aminés** et qui, mis bout à bout dans un certain ordre, permettent de former une protéine particulière avec un rôle particulier. Cependant, mettez un acide aminé au mauvais endroit et tout l'édifice peut s'écrouler: la protéine sera instable ou n'aura pas le rôle escompté.

Pour éviter cela, il est nécessaire d'avoir un plan précis pour construire les protéines. Ce plan, c'est le **génom**.

Au centre de chaque cellule (enfin pas toujours au centre et pas dans toutes les cellules, mais la plupart du temps!), il existe un compartiment particulier qui s'appelle le **noyau**. Dans le noyau se situent 23 paires de **chromosomes** : 22 paires de chromosomes dits *autosomes* et 1 paire de *chromosomes sexuels* (XY si vous êtes un homme, XX si vous êtes une femme).

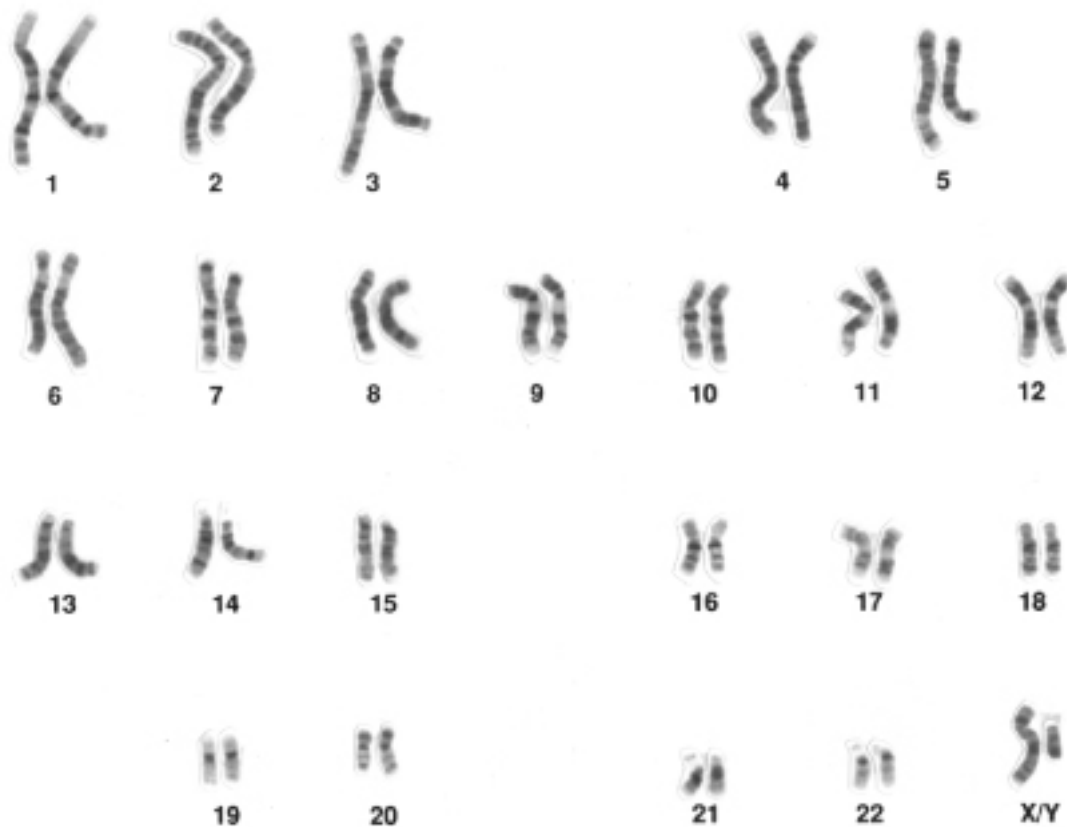


FIGURE 2.3. – Les chromosomes d'un homme (car XY). La technique permettant d'aboutir à ce résultat s'appelle un caryotype (wikipedia).

*i*

Pour être tout à fait précis, à l'état normal, l'information génétique n'est pas aussi bien structurée. Elle se présente plutôt sous la forme d'un gros sac de nœuds que l'on appelle la *chromatine*. Il n'y a qu'au moment de se diviser qu'une cellule fait l'effort de mettre

## 2. Modifier le génome

i

son génome sous la forme de chromosomes puis les coupe en deux au niveau du centre (ou *centromère*) afin d'en envoyer une moitié (ou *chromatide*) dans chacune des cellules filles.

Ces chromosomes sont chacun formés d'une très longue molécule qui s'appelle l'**ADN** (pour Acide Désoxyribonucléique). L'ADN a une forme en hélice double brins caractéristique.

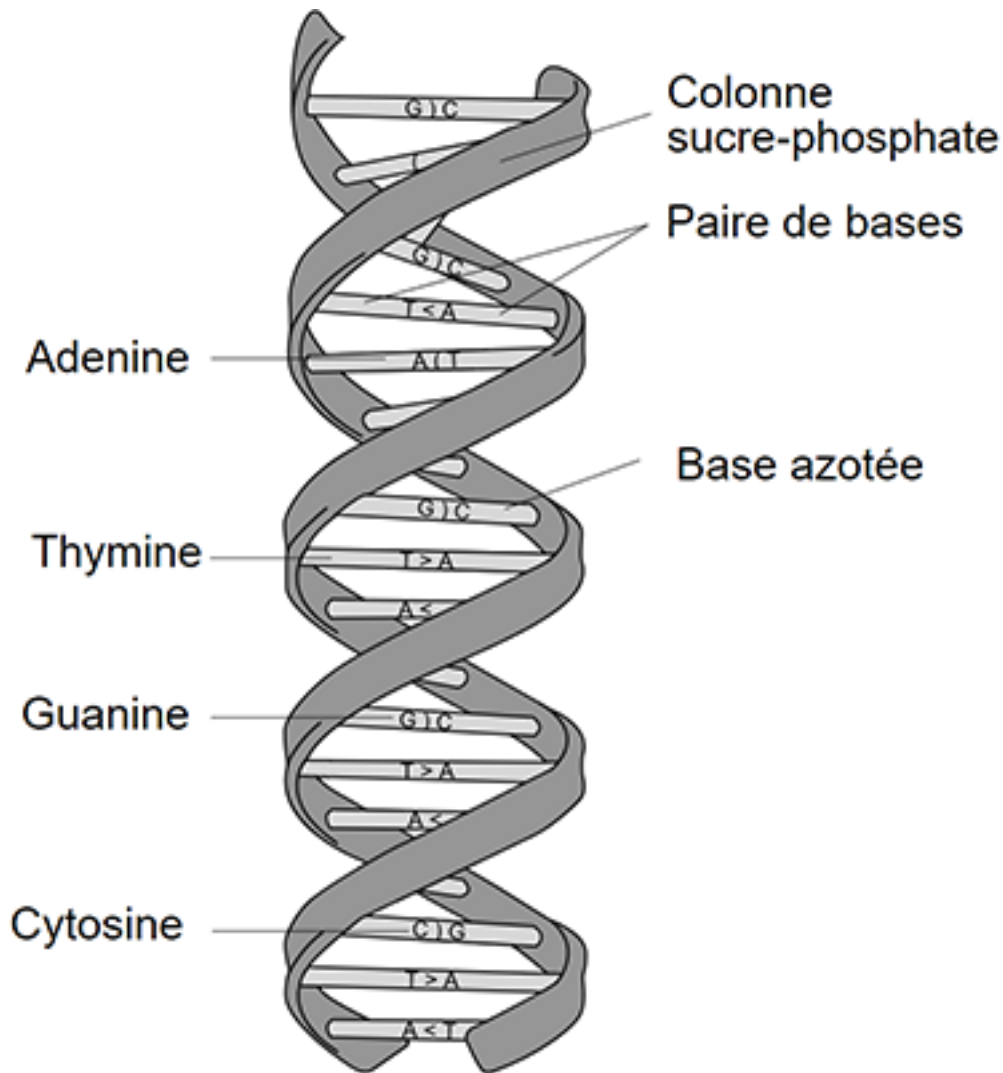


FIGURE 2.4. – La structure de l'ADN (wikipedia)

### Structure de l'ADN

L'ADN est composé de deux brins qui s'entremêlent pour former cette structure en double hélice dont nous avons déjà parlé. Les brins sont composés de sucres (ou *oses*) et de phosphates, d'où l'appellation « colonne sucre-phosphate » sur le schéma. Cette double hélice constitue, en quelque sorte, le squelette de l'ADN mais l'information génétique en elle-même est située au centre. Elle est portée par ce que l'on appelle des **nucléotides**. Il en existe 4 types : l'adénine, la guanine, la thymine et la cytosine (il y en a également un cinquième : l'uracile, spécifique à l'ARN, il y remplace la thymine qui n'existe que dans l'ADN).



## 2. Modifier le génome

La nucléotide est une partie d'une structure un peu grande que l'on appelle la **base azotée**. Une base azotée comprend un nucléotide plus la portion de la double hélice qui lui est liée. Les bases azotées vont toujours par deux: une portée par un brin et l'autre portée par le brin qui lui fait face. Ces deux bases sont liées entre elles au milieu. La structure formée par deux bases azotées l'une face à l'autre est appelée **paire de bases**. La longueur des gènes est mesurée en paires de bases (ou *bp* en anglais pour *bases pairs*).

L'ADN contient des **gènes**. Certains gènes sont des plans de construction d'une protéine. Ces gènes sont appelés *gènes codants pour des protéines*<sup>5</sup>footnote:1.

Des protéines (oui, encore: elles sont partout!), que l'on appelle les *ARN polymérases*, scannent le génome et quand elles repèrent un gène codant pour une protéine, elles vont synthétiser une version de ce gène sous forme d'**ARN** (Acide Ribonucléique) qui n'est constitué cette fois-ci que d'un simple brin. Il existe plusieurs types d'ARN qui ont des fonctions différentes, celui qui porte l'information génétique en dehors du noyau est appelé ARN messager ou **ARNm**. Cette étape s'appelle la **transcription**.

L'ARN sort ensuite du noyau direction une région précise de la cellule qui s'appelle le *ribosome*. Ici, l'ARN va être lu et à partir des informations qu'il contient, le ribosome va synthétiser une protéine. Cette étape s'appelle la **traduction**.

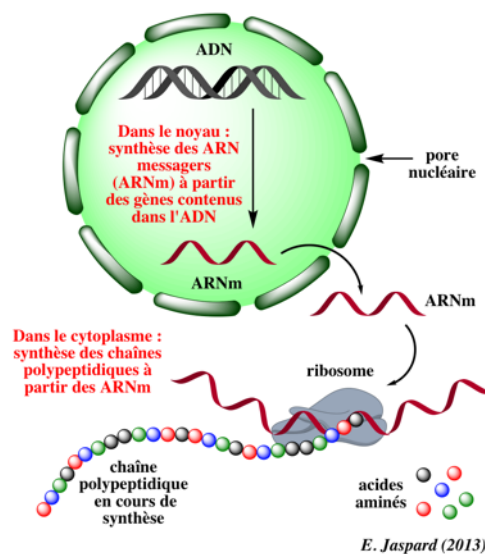


FIGURE 2.5. – Synthèse d'une protéine

*i*

Comme on l'a vu un peu plus haut, l'ADN est formé d'une chaîne sans fin de quatre nucléotides: la *guanine*, la *cytosine*, la *thymine* et l'*adénosine* (GCTA). Ces quatre nucléotides constituent les briques de base de l'ADN, un peu comme 0 et 1 le sont pour l'informatique. Trois nucléotides mis ensemble forment un *codon* (exemple: GAG, GCA, TAG, etc.) - l'équivalent informatique serait un octet. À chaque codon correspond un acide aminé (il existe également un codon stop qui permet de signifier au ribosome que la protéine se termine ici). En associant les acides aminés en fonction des codons rencontrés, on parvient à reconstituer la protéine.

## 2. Modifier le génome

i

Vous pouvez aller voir la liste complète des codons et de leurs acides aminés associés sur [Wikipedia](#) [↗](#), si vous le souhaitez. Notez que, la conversion se faisant depuis l'ARN et non l'ADN, le quatrième nucléotide est l'uracile (noté U) qui remplace la thymine de l'ADN.

Tout ceci est une mécanique bien huilée, mais il peut arriver pour des raisons diverses et variées que le génome subisse une modification au niveau d'un gène, que l'on appelle une **mutation génétique**. Il en existe plusieurs types différents, plus ou moins embêtantes. Certaines n'ont pas d'impact, d'autres vont déformer une protéine la rendant moins efficace, d'autres encore sont si graves que la protéine formée est dans l'incapacité totale de remplir son rôle et peut se dégrader.

Mais comment guérir une maladie quand c'est l'ADN lui-même qui est corrompu? Eh bien tout «simplement» (entre guillemets car ça n'a absolument rien de simple), en modifiant l'ADN: c'est ce que l'on appelle les **thérapies géniques**.

### 2.2. Accéder au génome

Le premier problème et pas des moindres, c'est d'accéder au génome. En effet, celui-ci est dans un noyau qui lui-même est dans une cellule. La cellule et le noyau sont tous les deux constitués d'une membrane qui est spécifiquement conçue pour ne pas être facilement franchissable (surtout celle du noyau) et ne laisser passer que certains éléments très précis.

Il existe cependant des organismes spécialistes pour ce qui est de pénétrer à l'intérieur des cellules: les **virus**. Un virus est micro-organisme constitué d'un peu de matériel génétique et de quelques protéines virales à l'intérieur d'une enveloppe (ou *capside*). Contrairement à une bactérie, le virus n'est pas capable de se répliquer par lui-même: il va envahir une cellule, y déverser son matériel génétique et pirater le système de synthèse protéique de la cellule pour qu'au lieu de produire des protéines cellulaires, elle se mette à produire des protéines virales en série. Les protéines se regroupent, des capsides se forment autour et voilà de nouveaux exemplaires de notre virus prêts à aller infecter d'autres cellules.

Il existe une très grande diversité de systèmes de répllication virale: la plupart des virus se contentent de déverser leur matériel génétique dans le ribosome qui va aussitôt produire des protéines virales. Mais certains virus plus complexes sont capables d'injecter leur matériel génétique dans le noyau d'une cellule, celui-ci s'intègre au génome de la cellule puis suit le cycle classique de synthèse de protéine (transduction en ARN messenger puis traduction en protéine dans le ribosome).

C'est le mode de fonctionnement de certains virus de la famille des *lentivirus* (famille à laquelle appartient le tristement célèbre VIH qui donne le SIDA). Ce sont donc souvent ces lentivirus rendus inoffensifs que l'on utilise en tant que **vecteurs viraux** pour injecter le matériel génétique qui nous intéresse au cœur des cellules (mais ce ne sont pas les seuls vecteurs viraux).

### 2.3. Les ciseaux moléculaires

Bon, on sait comment atteindre le génome. Le problème c'est que les lentivirus que l'on utilise ce sont des bourrins: à l'état naturel ils prennent leur matériel génétique et l'insèrent un peu

## 2. Modifier le génome

n'importe où dans le génome cible. Pour nous qui souhaitons au contraire réparer un gène bien précis, ce n'est guère intéressant. Il faut trouver un moyen de cibler la modification.

Ce moyen s'appelle **CRISPR-Cas9** («crispeure-casse-naïne»). CRISPR-Cas9 est une protéine qui nous vient d'une bactérie (*Streptococcus pyogenes* si vous voulez tout savoir) et qui est capable de couper le génome à un endroit très précis. CRISPR-Cas9 utilise un **guide ARN** qui lui permet de savoir où couper (elle coupe la séquence ADN correspondant au guide ARN). Il suffit donc de modifier le guide pour que CRISPR-Cas9 puisse couper où l'on veut dans le génome.

CRISPR-Cas9 a été découverte par une chercheuse française, Emmanuelle Charpentier, en collaboration avec une chercheuse américaine, Jennifer Doudna. Cette découverte leur a octroyé le prix Nobel de chimie en 2020.

CRISPR-Cas9 est une découverte révolutionnaire, probablement l'une des plus importantes du 21<sup>e</sup> siècle. Avant ça, les outils d'édition de génome étaient beaucoup moins efficaces, beaucoup moins précis (et donc beaucoup plus risqués) et surtout, beaucoup plus chers. En effet, jusque là, à chaque fois que l'on voulait couper le génome à un endroit précis, on était obligés de modifier la protéine utilisée (ce qui est relativement complexe et coûteux). Avec CRISPR-Cas9, il suffit de modifier le guide ARN.

Une fois l'ADN coupé, il est réparé. Pour cela il existe plusieurs techniques. L'une d'elle permet de réparer l'ADN en recollant simplement l'extrémité avant la séquence supprimée avec l'extrémité d'après (c'est ce qu'on appelle la **jonction d'extrémités non homologues**). Cette technique permet de retirer un gène. Une autre technique permet de remplacer la séquence coupée par une séquence fournie (et cela se nomme la **recombinaison homologue**).

*i*

La découverte de CRISPR-Cas9, aussi prometteuse soit-elle, est encore très récente. Il n'existe pour le moment que peu de thérapies géniques au stade de l'essai clinique qui l'utilisent: beaucoup d'autres techniques peuvent être employées.

### 2.4. Quels espoirs pour la myopathie de Duchenne ?

Tous les espoirs sont permis, y compris celui - à terme - de guérir cette maladie. Mais pour l'heure, nous n'y sommes pas encore: la recherche médicale avance, mais elle avance lentement.

Il existe globalement trois types de traitements complémentaires pour la myopathie de Duchenne:

- permettre aux cellules musculaires de produire de la dystrophine. Il existe pour cela plusieurs techniques, l'une d'elles est la **thérapie génique**.
- régénérer les muscles grâce à des **cellules souches** qui sont ensuite capables de former des fibres musculaires saines.
- traiter les symptômes annexes (fibrose qui devient nécrose, inflammation...) pour limiter les conséquences liées à la destruction de la protéine.

## 2. Modifier le génome

### 2.4.1. La thérapie génique

L'un des médicaments qui fait le plus parler de lui ces derniers temps (car l'essai international a démarré en avril 2021) est développé par la société Généthon et sobrement baptisé GNT-004.

L'idée c'est d'insérer dans l'organisme le code génétique d'une version fonctionnelle de la dystrophine permettant à la cellule d'en produire. Problème: le gène qui code pour la dystrophine est immense (2,3 millions de paires de bases). En raison de sa taille, il est pour le moment impossible d'insérer la séquence correcte en entier <sup>6</sup>footnote:2.

Pour contourner cette difficulté, on utilise une protéine qui s'appelle la micro-dystrophine: c'est une version de la dystrophine beaucoup plus petite mais à peu près fonctionnelle. C'est en observant les différentes formes de la dystrophie de Becker (la version allégée de la dystrophie de Duchenne, dans laquelle la dystrophine est seulement altérée et non pas absente) que les chercheurs ont réussi à déterminer quelles étaient les séquences de la protéine indispensables à son fonctionnement et devaient former la micro-dystrophine.

Ce médicament utilise un vecteur viral qui est un adénovirus modifié. En revanche, il ne fait pas appel à la technologie CRISPR-Cas9: l'approche est différente et consiste à entourer l'ADN délivré d'une séquence particulière que l'on appelle un **promoteur** et qui permet d'ordonner à la cellule de fabriquer la protéine associée au code génétique.

Le premier patient concerné par cet essai clinique est un français qui a reçu l'injection à l'hôpital Trousseau à Paris, courant avril 2021. Il est bien entendu encore beaucoup trop tôt pour s'avancer sur une quelconque efficacité, il faudra pour cela attendre la publication des résultats.

Il existe d'autres molécules avec le même principe qui en sont à des stades d'avancement à peu près similaires.

### 2.4.2. Le saut d'exon

Le saut d'exon est une autre technique qui n'est *stricto sensu* pas une technique de thérapie génique mais plutôt de modification de l'expression du gène: le code génétique de la protéine ne change pas, mais on va changer la façon dont la cellule le comprend et l'interprète.

Les médicaments qui exploitent cette technique agissent au niveau de l'ARN messager qui est synthétisé à partir du gène codant pour la dystrophine (DMD). DMD est composé de plusieurs séquences que l'on appelle des **exons**. Le principe du saut d'exon est d'injecter un ARN qui va interagir avec l'ARNm et faire en sorte que lors de la synthèse protéique, l'exon dysfonctionnel soit sauté, donnant ainsi une protéine plus courte mais fonctionnelle (un peu comme la micro-dystrophine).

À l'heure actuelle, il existe des essais cliniques prometteurs. Un médicament utilisant cette approche, l'*Eteplirsén*, est actuellement en essai (il vise l'exon 51 de la protéine). En phase II il a montré un effet de détérioration moins important de la fonction respiratoire, mais malgré ça, les résultats restent encore trop modestes pour conclure à un effet significatif.

### 2.4.3. Et CRISPR-Cas9 dans tout ça ?

Tous les thérapeutiques d'édition génomique ne font pas usage de CRISPR-Cas9 et de façon plus générale, toutes les techniques de thérapie génique ne font pas forcément appel à l'édition génomique. (GNT-004 dont nous avons parlé un peu plus haut par exemple est une thérapie génique mais avec une autre approche.)

Toutefois, étant donné les promesses associées à cette nouvelle technologie, il est légitime de se demander s'il existe des recherches concernant la myopathie de Duchenne dans ce champ. Et c'est le cas! CRISPR-Cas9 étant très récente, les essais sont encore en phase préclinique (sur des modèles cellulaires puis animaliers), mais les résultats sont impressionnants: on parle de guérisons partielles.

## Conclusion

Les thérapies géniques sont des techniques permettant de modifier le génome avec toutes les utilisations problématiques que l'on peut imaginer étant donné que le génome définit en grande partie qui l'on est. C'est pour cela qu'il est évidemment nécessaire que cette technologie soit accompagnée d'un débat éthique et d'une réglementation stricte.

Mais à l'heure actuelle, bien avant d'être une menace sur laquelle il faut garder un œil, les thérapies géniques sont surtout un espoir formidable pour des millions de patients atteints de maladies génétiques incurables.

Un grand merci à @Arius pour la validation!

## 3. Sources

### GNT-004

- [Généthon annonce le traitement d'un premier patient dans le cadre de son essai clinique de thérapie génique pour la myopathie de Duchenne](#) ↗ (20 avril 2021)

### Eteplirsén

- [Essai de phase IIb de l'Eteplirsén](#) ↗ (12 patients sur un suivi de 3 ans, 2016)

### CRISPR-Cas9

- [Étude préclinique d'une édition génomique sur un modèle murin de dystrophie de Duchenne](#) ↗ (2016)

---

1. <sup>7</sup>footnote:1 Il existe toute une partie du génome ne codant pas pour des protéines. En effet, la partie des gènes qui codent pour des protéines est d'environ 2% de la totalité du génome et elle est appelé exome. Le reste du génome a des rôles complexes et pas encore tous élucidés.

2. <sup>8</sup>footnote:2 En réalité, sur les 2,3 millions de paires de bases, seules 11000 codent réellement pour la protéine (le reste à d'autres rôles). Mais même 11000 c'est beaucoup trop gros pour être inséré en entier.

# Liste des abréviations

**ARNm** ARN messenger. 7, 10