

La thérapie génique

Christophe Lalanne

Juin 2009

1 Introduction

Depuis les premiers essais de thérapie génique (TG) dans les années 80, cette technique s'est imposée comme une alternative aux thérapeutiques classiques visant plutôt à soulager la douleur et les effets consécutifs de la maladie qu'à traiter celle-ci dans ses fondements mêmes. La TG offre la possibilité d'agir au niveau des cellules directement grâce au transfert de vecteurs viraux contenant des gènes recombinants. Elle ouvre également la voie à de nouvelles formes de vaccination. ces deux aspects – curatif et préventif – ont très tôt fait naître des espoirs qui n'ont malheureusement pas tous été suivis du succès escompté, en particulier dans le domaine des maladies d'origine génétique.

Après avoir rappelé brièvement le principe général de la TG et ses modalités de mise en œuvre, nous présentons quelques exemples d'applications biomédicales, tout en soulignant le rôle de la bioinformatique dans les recherches afférentes à la TG.

2 Le point sur la thérapie génique

2.1 Qu'est-ce que la thérapie génique ?

La TG consiste à introduire du matériel génétique dans les cellules pour compenser l'action de gènes fonctionnant anormalement [22]. La présence d'un gène mutant peut en effet avoir pour conséquence de mettre en défaut la création ou le fonctionnement d'une protéine importante sur le plan biologique fonctionnel. Les conséquences peuvent aller jusqu'à la genèse d'une pathologie mais peuvent également être à l'origine de maladies héréditaires telle que la mucoviscidose. Dans ce cas, l'introduction au moyen de techniques de TG d'une copie normale du gène précurseur peut permettre de restaurer la fonction originale de la protéine en question. L'inactivation d'un gène, c'est-à-dire le blocage de son expression, peut quant à elle se faire par la technique d'[interférence ARN](#). Les applications dans le domaine biomédical, en particulier en immunologie et pharmacologie, sont alors évidentes : lutte contre le cancer, traitement des patients infectés au VIH, maladies auto-immunes et monogéniques,

etc. Les avancées de la génomique offrent depuis plusieurs années un regard nouveau sur le traitement des maladies chroniques, non seulement par la mise en évidence des réseaux fonctionnels impliqués dans la genèse ou l'évolution d'une maladie, mais également par le développement de nouvelles techniques de génie génétique qui permettent d'agir directement au coeur de la cellule pour « réparer » les gènes. Ce ne sont plus des molécules de synthèse mais le gène lui-même qui apparaît comme « le » médicament.

Évidemment, cette possibilité de « manipuler le code génétique humain » soulève des questions éthiques, en particulier si on la replace dans la perspective d'une population vieillissante (dans les pays développés) et de la recherche de thérapeutiques palliatives ou reconstructives. Ce débat est à ajouter à celui grandissant des manipulations génétiques animales ou végétales, voire de la possibilité de cloner des embryons humains. D'un autre côté, l'encadrement de ces travaux de recherche par les autorités sanitaires, et le recours à des essais cliniques contrôlés garantissent tout de même une utilisation scientifique de ces techniques et des avancées que l'on espère à terme significatives pour les patients [17, pour une discussion récente de l'exploitation des résultats de TG issus d'essais cliniques].

2.2 Que permet la thérapie génique en pratique ?

Dès le début des années 80, la TG devait permettre le traitement des maladies génétiques rares engageant le pronostic vital à court ou moyen terme. Une maladie d'origine génétique se définit comme une maladie causée soit par la présence d'un gène *variant* supplémentaire, soit par l'altération d'un gène ou d'un groupe de gènes (*mutation*), avec une possible transmission héréditaire ([transmission mendélienne](#)). Les maladies les plus connues du grand public sont sans doute celles qui concernent une anomalie dans l'organisation des allèles des chromosomes, comme la trisomie 21 par exemple. Le projet *Héritage mendélien chez l'Homme* (OMIM, [Online Mendelian Inheritance in Man](#)) inclut une base de données recensant les maladies identifiées jusqu'à présent pour lesquelles le phénotype, voire la séquence complète du gène, sont connus [19].

Toutefois, les applications de la TG ne se limitent pas aux maladies monogénétiques mais s'orientent de plus en plus vers les maladies chroniques telles que le cancer ou les infections au VIH.

L'idée est donc bien de guérir à la fois des maladies acquises mais aussi des troubles hérédités ou résultant d'une mutation génétique spontanée avant la naissance. À l'aspect palliatif s'ajoute les possibilités ouvertes par la TG dans le domaine de la vaccination, que nous ne développerons pas dans cette revue.

2.3 Le principe général de la thérapie génique

On a vu que la thérapie génique consiste à modifier le matériel génétique d'un sujet, ce qui suppose d'être en mesure d'agir au niveau de la cellule elle-même puisque c'est au coeur de celle-ci que se déroulent les mécanismes de transcription et de production des protéines régulatrices. D'où l'idée d'utiliser un *vecteur de transfert* permettant l'insertion du gène recombinant dans la cellule, soit *in vivo* (injection dans le système sanguin), soit *in situ* (insertion directement au niveau du tissu ou de la cellule cible). Il existe même des possibilités de travailler directement *ex vivo*. Dans ce cas, on extrait des cellules (le plus souvent des cellules sanguines) pour les manipuler en laboratoire, puis celles-ci sont réinjectées au patient.

Les vecteurs les plus utilisés sont le plus souvent des rétrovirus (8 kb maximum) ou des adénovirus (35 kb) puisque ceux-ci sont capables d'intégrer leur matériel génétique (ARN ou ADN) dans les chromosomes d'une cellule humaine ou dans le noyau de la cellule, respectivement [28]. Dans le cas d'un rétrovirus cytopathogène, c'est le processus de transcriptase inverse qui permet la transcription de l'ARN en ADN. La Figure 1 illustre les deux principales étapes dans l'élaboration d'un vecteur rétroviral à partir d'un virus parental : un plasmide auxiliaire encode les gènes des protéines nécessaires à la réplication et un plasmide code la séquence génomique du vecteur lui-même ; les protéines structurales du virus et les protéines nécessaires à la réplication de l'ADN du vecteur peuvent ensuite s'exprimer et le génome du vecteur ainsi répliqué permet la création des particules virales. À l'inverse, les vecteurs adénoviraux incorporent directement de l'ADN double brin dans le noyau (Figure 2) ; ceci se fait indépendamment du cycle mitotique, donc le gène n'est pas intégré directement dans le chromosome. Les lentivirus constituent une autre famille de rétrovirus qui possèdent la capacité d'infecter des cellules qui ne se divisent pas [2, 8]. C'est ce type de virus qui entraîne l'immuno-dépression des porteurs du VIH où un taux de $CD4 < 200$ cellules/mm³ ouvre la voie aux maladies opportunistes.

Le taux d'expression du gène thérapeutique est généralement plus élevé dans le cas des vecteurs adénoviraux bien que ceux-ci soient également associés à un taux de réactions immunitaires plus élevé. Le principe de fonctionnement est le même que celui des virus : ceux-ci sont en effet capables d'utiliser les processus de réplication de la cellule et favoriser ainsi la prolifération de nouveaux virions. Dans le cas des vecteurs viraux, on distinguera les virus lytiques, dont le cycle de vie est limité, des virus non-lytiques, à action prolongée.

On notera que les virus ne sont pas les seuls à pouvoir servir de vecteur de transfert mais que des études sont en cours pour travailler avec d'autres types de vecteurs, malgré le plus faible taux de transduction [16, 34, pour une revue]. Du côté des vecteurs non-viraux, il s'agit principalement de l'ADN plasmidique (délivré par injection intra-musculaire), par exemple l'ADN nu, et des oligonucléotides (simple ou double brin) de synthèse. La démarche consiste à injecter des cellules produisant un vecteur viral non pathogène pour éviter son inactivation trop rapide par le complément. Ces cellules sont appelées *cellules transcomplémentantes*, ou cellules d'encapsidation, et elles produisent des virus non pathogènes par suppression des gènes nécessaires à leur

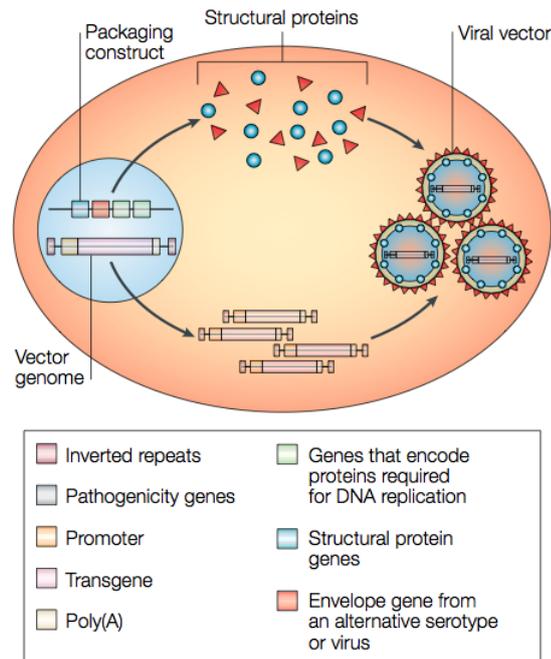


Figure 1: Transformation d'un virus en vecteur de transport. (Reproduit de [28], Figure 1b, p. 348)

réplication, à la place desquels on insère la séquence voulue ainsi que des éléments régulateurs.

Les oligonucléotides simple brin ont par exemple été utilisés pour cibler directement un polymorphisme nucléotidique sur un gène mutant [23]. Ces travaux sur l'ADN nu s'inscrivent dans une optique préventive (vaccination), l'idée étant que les populations à risque pourraient être traitées en utilisant un fragment d'ADN qui contiendrait le gène d'une protéine spécifique du VIH, associé à une séquence promotrice capable de déclencher l'expression de ce fragment d'ADN [6].

2.4 Les limites de l'utilisation des rétro- et adénovirus en thérapie génique

Les limites de cette approche, sur le plan thérapeutique, sont essentiellement dues au problème de ciblage précis de cellules, aux risques de mutagenèse, en particulier pour les vecteurs rétroviraux [28], à la taille limitée des gènes incorporables (cas des rétrovirus) ou à la durée d'expression (cas des adénovirus). L'efficacité du transfert est dans tous les cas relativement faible (environ 10 à 15 % des cellules). Le problème de ciblage est particulièrement gênant dans les essais thérapeutiques de lutte contre le cancer puisque le vecteur peut infecter des cellules saines ou le gène peut se retrouver inséré à un mauvais endroit dans la séquence ADN, avec pour principale conséquence la possibilité de créer de nouvelles mutations. Dans les cas extrêmes, ce type

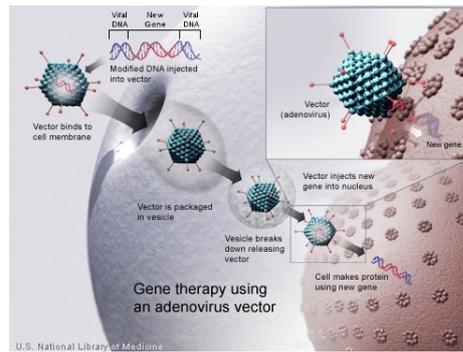


Figure 2: *Illustration du fonctionnement de la thérapie génique par adénovirus.* Le vecteur contenant une séquence ADN modifiée se lie dans un premier temps à la membrane de la cellule et se retrouve transporté à l'intérieur d'une vésicule jusqu'au noyau de la cellule. Une fois libéré de la vésicule, le gène passe dans le noyau et les mécanismes de transcription permettent la création d'une protéine. (Reproduit de [National Library of Medicine](#))

de technologie peut avoir l'effet inverse et être la source même du développement d'un cancer.

Un autre danger lié à l'introduction de virus ou de liposomes pour modifier le matériel génétique des cellules provient de ce que l'ADN ainsi introduit pourrait pénétrer dans les cellules reproductrices, augmentant ainsi les risques de transmission d'une possible mutation à la descendance directe du patient.

Finalement, les gènes transférés peuvent se retrouver sur-exprimés et entraîner une sur-production de protéines allant jusqu'à une réponse immunitaire ou inflammatoire. À l'extrême, cette réaction du système immunitaire peut se traduire en transmission virale dans l'environnement.

3 Applications de la thérapie génique

3.1 Organisation des essais cliniques

La thérapie génique peut être utilisée dans le traitement des maladies rares, p. ex. la maladie de Duchenne, ou les immunodéficiences précoces [25], mais également des troubles plus complexes comme le cancer ou le VIH, ces derniers constituant un domaine de recherches très actif comme en témoigne la littérature [27, 7, 32, 3, entre autres].

Les études de TG sont réalisées au travers d'essais randomisés contrôlés, comme dans toute approche épidémiologique. Évidemment, le nombre de patients inclus dans les études peut varier d'une étude à l'autre, en fonction de la prévalence de la maladie étudiée mais surtout de la lourdeur du dispositif d'études. Ce type d'expérimentation

est naturellement encadré par des règles éthiques et méthodologiques très strictes, suivant les recommandations des autorités sanitaires internationales (p. ex. FDA ou EMEA) et les lois en vigueur sur l'expérimentation humaine (ex-loi Huriot, Comité de protection des patients, etc.). On notera que la majorité des essais cliniques relève du domaine de l'oncologie¹ (cancer du sein, du système gastro-intestinal) alors que les études sur les maladies monogéniques (hémophilie, mucoviscidose ou myopathies) restent plus limitées dans leur ampleur (nombre de patients à l'inclusion, nombre de centres de test, nombre de cohortes). La raison en est assez simple : on dispose généralement de beaucoup plus de patients dans les services de cancérologie, ce qui augmente la portée généralisante des résultats observés sur les cohortes tout en offrant la possibilité de tester plusieurs bras de traitement vs. un traitement de référence. En revanche, l'application de la TG sur les maladies monogéniques nécessite que les gènes transférés s'expriment de manière stable et durable dans le temps pour observer un effet significatif.

Nous nous proposons dans les paragraphes suivants de présenter quelques-unes des approches suivies dans le domaine de la TG pour le traitement des troubles acquis, et nous développerons plus spécifiquement les avancées de la TG pour le traitement des cancers et des infections au VIH. Pour des revues de questions plus approfondies, le lecteur intéressé pourra consulter [21] et [14]. Nous effectuerons ensuite un survol des maladies d'origine génétique que l'on peut approcher par TG.

3.2 Tour d'horizon des maladies acquises traitables par TG

Parmi les maladies acquises, on peut globalement considérer 6 classes dont la dernière, les cancers, sera traitée plus en détails à la section suivante. On distingue donc :

- les infections (VIH, hépatites B ou C),
- les troubles neurologiques (maladie de Parkinson),
- les troubles cardiaques (infarctus du myocarde),
- les troubles arthritiques,
- les troubles endocrines ou le diabète

Comme on le voit, de nombreuses cibles moléculaires ont été identifiées offrant *de facto* une éventuelle offre thérapeutique alternative. Par exemple, Yenari & Sapolsky [33] ont montré qu'il est possible d'utiliser des vecteurs de transfert basés sur le virus de l'herpès pour traiter certains troubles neuro-génératifs, sans que cette technique soit pour l'heure réellement envisageable pour traiter des patients.

3.3 Cancérologie

Dans le traitement du cancer, on distingue deux approches : soit on cible des cellules saines afin d'augmenter leur capacité à lutter contre le cancer, soit on travaille directement sur les cellules cancéreuses afin de limiter leur prolifération, ou bien tout

1. Une simple requête sur Medline avec les mots clés « gene therapy » + « cancer » fournit plus de 1500 résultats (25/06/2009).

simplement les éliminer. Par exemple, dans les traitements standards actuels des cancers pulmonaires dits non à petites cellules, le Tarceva provoque sélectivement la mort des cellules cancéreuses tandis que l'Avastine permet de bloquer le développement de vaisseaux sanguins irriguant et nourrissant le cancer. Du côté de la TG, les recherches s'orientent vers la manière d'augmenter la réponse immunitaire en stimulant les défenses naturelles de l'organisme. À partir d'un prélèvement sanguin, les gènes sont transférés dans les globules blancs (lymphocytes T) et réintroduits chez le patient. Ceci permet de produire des protéines appelées TCR (*T-cell receptor*) qui se fixent sur la membrane externe des globules blancs. Ces récepteurs sont capables de reconnaître et de fixer certaines molécules que l'on trouve à la surface des cellules tumorales et de provoquer en retour l'activation des globules blancs, provoquant la destruction de ces cellules infectées. Une autre approche consiste à améliorer les chimiothérapies actuelles en augmentant la sensibilité des cellules tumorales au traitement ou en diminuant les effets secondaires du traitement.

Enfin, une dernière manière d'agir sur la tumeur cancéreuse consiste à introduire des gènes dits *suicide* dans les cellules tumorales [31]. Ceux-ci présentent la particularité d'entraîner la mort de la cellule par apoptose², leur activation étant généralement réalisée grâce à la [protéine p53](#). Le patient se voit ensuite administrer un médicament aux propriétés toxiques mais sous une forme inactive. Celui-ci ne s'active que dans les cellules contenant les gènes-suicide qui sont alors détruites (Figure 3). Cette approche présente également l'avantage de réduire le risque de métastases.

3.4 Infection au VIH

Un bref survol de la littérature concernant le traitement du VIH par TG met en lumière deux pistes de recherches : soit on décide de travailler directement au niveau des cellules souches hématopoïétiques, soit au niveau de leurs cellules filles, les cellules CD4 [15]. Ces dernières sont impliquées dans la réponse immunitaire à l'infection et sont celles qui sont détruites lors de la prolifération du virus dans l'organisme infecté. Les rendre plus résistantes ou augmenter leur nombre permettrait donc de limiter la dépression immunitaire. Au contraire, travailler directement à partir de cellules souches génétiquement modifiées permettrait d'engendrer une descendance hématopoïétique différenciée, résistante à l'infection ou à l'infection virale [30].

Il est possible de produire des cellules CD4 résistantes au VIH, en utilisant les vecteurs de transfert de type lentivirus décrits précédemment (page 3) visant un gène appelé HIV *antisense*. Des résultats plus récents [9, 18] suggèrent qu'il est possible de réduire la charge virale en utilisant des cellules souches (issues du patient lui-même) dans laquelle ont été introduites une molécule active détruisant le virus HIV. Une autre équipe cherche quant à elle à bloquer l'entrée du virus dans les cellules en utilisant le gène M87ORRE transporté par le vecteur *myeloproliferative sarcoma virus*. On notera que

2. On notera que ce type de mort cellulaire semble également mis en œuvre dans la maladie du SIDA, et viserait en l'occurrence les lymphocytes qui assurent la réponse immunitaire. Bien entendu, le rôle des virions et leur attaque ciblée des CD4 reste primordial mais ce phénomène d'apoptose semblerait agir en parallèle [13].

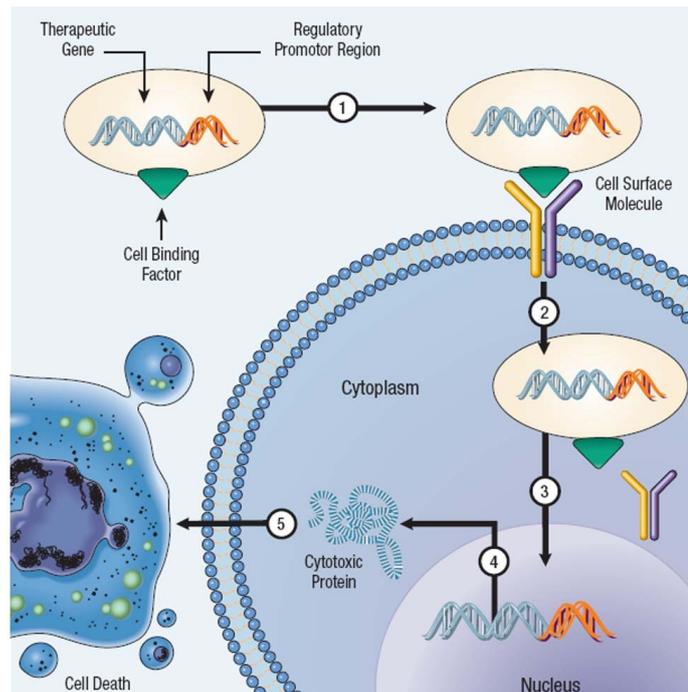


Figure 3: Utilisation de gènes-suicide pour la destruction sélective de cellules tumorales.

dans les deux cas, le nombre de patients inclus dans l'essai est relativement limité (< 20).

Enfin, l'équipe de Mitsuyasu [20] a récemment isolé des cellules souches CD34+ qui sont capables de produire des globules blancs de tout type, dont les cellules CD4+ visées par le virus HIV. L'idée consiste ensuite à utiliser un vecteur rétroviral pour insérer dans les cellules souches un gène permettant de créer un **rybozyme**, qui en retour produit un gène appelé **tat**. Lorsque les cellules altérées sont réintroduites dans l'organisme du patient, elles se développent dans les globules blancs qui ont survécu à l'attaque virale et l'empêchent de se multiplier et d'infecter de nouvelles cellules. Le système immunitaire développe alors une certaine résistance au VIH puisque ces cellules sont les seules survivantes. Les résultats de [20] montrent que les patients ayant un taux plus élevé de ce type de cellules modifiées ont une charge virale plus basse et un nombre de CD4 plus élevé.

3.5 Maladies d'origine génétique

Parmi les maladies d'origine génétique susceptibles d'être traitées par TG, on peut mentionner :

- les *dysfonctionnements congénitaux de métabolisme*, souvent liés à des déficiences au niveau de l'activité enzymatique, comme par exemple dans le cas des encéphalopathies métaboliques congénitales où l'activité enzymatique déficiente peut causer

- un dysfonctionnement du cerveau aboutissant à l'accumulation du substrat, à une formation réduite de produit, ou à provoquer le métabolisme par des voies alternatives ;
- les *hémoglobinopathies*, qui ont trait à la formation de l'hémoglobine, survenant suite à des déficits génétiques variables de la synthèse des chaînes *a*, respectivement *b*, et on distingue les **hémoglobinopathies quantitatives** (thalassémies) ou **structurelles** (anémie falciforme) ;
 - les troubles de coagulation ou *hémophilie*, empêchant l'homéostasie (recouvrement de la paroi endommagée d'un vaisseau sanguin par un caillot de fibrine permettant de stopper l'hémorragie) ;
 - les *maladies pulmonaires* ou la déficience Alpha-1 (α_1 -antitrypsine ou **protéine AAT**), pouvant entraîner des emphysèmes ;
 - les *hyperlipidémies*, qui constituent un trouble dans le fonctionnement et l'utilisation des lipoprotéines (lipides associés à des protéines) à l'intérieur de l'organisme et qui sont susceptibles d'entraîner la survenue de pathologie du muscle et du squelette ;
 - les *dystrophies musculaires*, qui se traduisent par une détérioration progressive des muscles (myopathie), engendrant faiblesse et invalidité musculaires ; elles se déclinent en plusieurs types : la dystrophie pseudo-hypertrophique infantile de Duchenne, la dystrophie musculaire pseudo-hypertrophique de Becker, la myotonie, la myopathie des ceintures, et la myopathie facio-scapulo-humérale de Déjerine-Landouzy.

D'autres maladies génétiques mériteraient d'être mentionnées. Par exemple, un déficit en Adénosine désaminase (ADA) provoque un *déficit immunitaire combiné sévère* (DICS). Il se manifeste habituellement dans les premiers mois de vie par des infections graves (bactériennes, virales, mycosiques). C'est une maladie récessive autosomique, qui représente environ 20 à 30% des DICS non liés à l'X. Si l'enfant n'a pas été transfusé, le diagnostic se fait par la mesure de l'activité ADA érythrocytaire. Le traitement se fait par greffe de moelle osseuse ou un traitement substitutif par l'enzyme couplé au polyéthylène-glycol. Plusieurs tentatives de thérapie génique ont été effectuées lors des 15 dernières années, mais une correction durable du déficit est difficile à obtenir. Une étude récente réalisée chez 10 enfants tend à suggérer que la TG offre une voie de traitement efficace pour pallier les déficits en ADA : 8 enfants sur les 10 n'ont pas nécessité de thérapie enzymatique de remplacement et leurs cellules sanguines continuaient d'exprimer l'ADA après 4 années de suivi [1]. Toutefois, plusieurs complications viennent ternir le tableau médical, en particulier le développement d'hépatite ou d'hypertension.

4 La thérapie génique et la bioinformatique

4.1 Séquençage et ciblage

Comme on l'a vu dans les paragraphes précédents, le rôle de la bioinformatique apparaît primordial dans les recherches de nouvelles thérapeutiques à base de gènes recombinants. D'une part, il est primordial de bien comprendre les mécanismes de régula-

tion des gènes impliqués dans la maladie étudiée, comme par exemple le cancer [12, 4]. Les produits d'expression des gènes ne doivent opérer que dans certaines cellules ou certains tissus, et uniquement lorsque leur action est requise par les fonctions biologiques ou certains facteurs de pression environnementale. Les réseaux d'interaction et les processus de régulation doivent être décrits très précisément et archivés dans des bases de connaissance (p. ex. sous la forme d'ontologies). D'autre part, l'étude de tels mécanismes de régulation appelle en retour le développement de méthodes *in silico* efficaces pour la prédiction des facteurs de transcription, des sites de reconnaissance et des processus de co-régulation lors de la transcription.

Par exemple, on sait que la mucoviscidose, maladie monogénique récessive (cf. § 3.5) qui consiste en une accumulation de mucus perturbant le fonctionnement des canaux respiratoires mais également du circuit pancréatique ou de l'intestin grêle, est liée à une mutation du gène *cftr* (230 kb, 27 exons) localisé sur le chromosome 7 en position 7q31. La protéine CFTR est composée de 1480 acides aminés (5 domaines) et constitue un canal chlore. On sait qu'il existe 6 classes de mutation qui peuvent affecter le gène *cftr*. Ces différentes mutations peuvent entraîner : une non-expression de la protéine, un problème de synthèse, une mauvaise régulation, une altération de la conduite ionique ou une sous-production de la protéine. Ici, la TG consiste à utiliser un vecteur capable d'infecter de manière durable les cellules sans être détruit par le système immunitaire. En revanche, la relation entre le déficit de la protéine CFTR et les affections respiratoires est relativement complexe et sa compréhension repose largement sur les études transcriptomiques.

4.2 Recherche de facteurs de risque

Les données génomiques et protéomiques participent elles aussi à l'identification de nouveaux biomarqueurs [5, 26] qui pourront sans doute faciliter le traitement des maladies complexes. Depuis le séquençage du génome humain, de nombreuses études d'association portant soit sur la séquence ADN elle-même, au travers des polymorphismes nucléotidiques (Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs) soit sur les produits d'expression de gènes (transcriptomique), ont été lancées afin de mieux identifier les déterminants génétiques de certaines maladies et des facteurs de risque associés [11, 24, pour des revues sur les études d'associations]. Ces études ne visent pas directement des applications en TG, mais elles pourraient permettre de mieux comprendre les relations entre certains facteurs d'exposition (génétiques ou environnementaux) et le développement d'une maladie résultant de mutations simples ou complexes au niveau d'un ou plusieurs gènes. Le projet [HapMap](#) recense parmi les gènes connus associés aux maladies humaines les variations significatives au niveau de la séquence ADN. De nombreuses études épidémiologiques sont actuellement en cours [11], et les résultats déjà acquis sont soumis à des méta-analyses (portant le nombre de sujets analysables à plusieurs milliers) dans un souci de robustesse. L'approche épidémiologique, amplement documentée dans [29], combine à la fois la génétique des populations et les études d'association, ce qui permettra sans doute d'arriver à une compréhension plus fine des mécanismes de transmission des maladies génétiques ou des

risques familiaux associés aux maladies chroniques.

5 Conclusion

La thérapie génique offre des perspectives thérapeutiques très intéressantes mais soulève également des défis technologiques particuliers. Les modèles expérimentaux utilisés, par exemple le rat, sont parfois trop éloignés de l'homme pour s'assurer de la généralisabilité des résultats ou de la stabilité à long terme de l'effet bénéfique. De même, il est nécessaire de limiter la toxicité de ces interventions (réactions inflammatoires notamment) lors des essais cliniques ou dans la pratique médicale. Le rapport risque/bénéfice devient alors un facteur déterminant dans le choix thérapeutique.

Enfin, les maladies auto-immunes posent d'autres problèmes dans la mesure où leur prévalence est relativement faible (< 10% dans la population) et leur genèse est le fruit de composantes à la fois génétique et environnementale [10]. Ce dernier point rend l'approche par TG plus délicate du fait même de ces interactions gène-environnement encore mal maîtrisées.

Références

- [1] A. Aiuti, F. Cattaneo, S. Galimberti, U. Benninghoff, B. Cassani, L. Callegaro, S. Scaramuzza, G. Andolfi, M. Mirolò, I. Brigida, A. Tabucchi, F. Carlucci, M. Eibl, M. Aker, S. Slavin, H. Al-Mousa, A. Al Ghonaium, A. Ferster, A. Duppenhaler, L. Notarangelo, U. Wintergerst, R. H. Buckley, M. Bregni, S. Markt, M. G. Valsecchi, P. Rossi, F. Ciceri, R. Miniero, C. Bordignon, and M.-G. Roncarolo. Gene therapy for immunodeficiency due to adenosine deaminase deficiency. *N Engl J Med*, 360(5) :447–58, Jan 2009.
- [2] R. Amado and Y. S. Chen. Lentiviral vectors—the promise of gene therapy within reach? *Science*, 285(5428) :674–676, 1999.
- [3] J. Barnor, Y. Habu, N. Yamamoto, N. Miyano-Kurosaki, K. Ishikawa, N. Yamamoto, and H. Takaku. Inhibition of HIV-1 replication by long-term treatment with a chimeric RNA containing shRNA and TAR decoy RNA. *Antiviral Research*, 83(2) :156–64, Jul 2009.
- [4] J. T. Chang, C. Carvalho, S. Mori, A. H. Bild, M. L. Gatz, Q. Wang, J. E. Lucas, A. Potti, P. G. Febbo, M. West, and J. R. Nevins. A genomic strategy to elucidate modules of oncogenic pathway signaling networks. *Mol Cell*, 34(1) :104–14, Apr 2009.
- [5] M. Ferrer-Alcón, D. Arteta, M. J. Guerrero, D. Fernandez-Orth, L. Simón, and A. Martínez. The use of gene array technology and proteomics in the search of new targets of diseases for therapeutics. *Toxicol Lett*, 186(1) :45–51, Apr 2009.

- [6] J. Fukushima, K. Hamajima, Y. Asakura, H. Bukawa, T. Tsuji, K. Xin, K. Nishioka, B. Cullen, and K. Okuda. Efficacy of a DNA vaccination to induce neutralizing antibody and cytotoxic cells against *hiv-1*. In *International Conference on AIDS*, volume 11, page 6, 1996.
- [7] P. Galante, D. Sandhu, R. de Sousa Abreu, M. Gradassi, N. Slager, C. Vogel, S. de Souza, and L. Penalva. A comprehensive in silico expression analysis of rna binding proteins in normal and tumor tissue : Identification of potential players in tumor formation. *RNA Biol*, 6(4), Sep 2009.
- [8] M. Goldman, P. Lee, J. Yang, and J. Wilson. Lentiviral vectors for gene therapy of cystic fibrosis. *Human Gene Therapy*, 8 :2261–2268, 1997.
- [9] L. M. Humeau, G. K. Binder, X. Lu, V. Slepushkin, R. Merling, P. Echeagaray, M. Pereira, T. Slepushkina, S. Barnett, L. K. Dropulic, R. Carroll, B. L. Levine, C. H. June, and B. Dropulic. Efficient lentiviral vector-mediated control of HIV-1 replication in CD4 lymphocytes from diverse HIV+ infected patients grouped according to CD4 count and viral load. *Mol Ther*, 9(6) :902–13, Jun 2004.
- [10] P. Invernizzi. Future directions in genetic for autoimmune diseases. *J. Autoimmun.*, 33(1) :1–2, Jul 2009.
- [11] J. Ioannidis, G. Thomas, and M. Daly. Validating, augmenting and refining genome-wide association signals. *Nature Genetics Review*, 10 :318–329, 2009.
- [12] R. Laubenbacher, V. Hower, A. Jarrah, S. Torti, V. Shulaev, P. Mendes, F. Torti, and S. Akman. A systems biology view of cancer. *Biochim Biophys Acta*, Jun 2009.
- [13] J.-D. Lelièvre, D. Arnoult, F. Petit, and J. Estaquier. Infection par le VIH-1 et apoptose lymphocytaire T CD4. *La Revue de médecine interne*, 24(8) :522–529, 2003.
- [14] F. Lemoine, D. Klatzmann, and S. Herson. Thérapie génique de l’infection par le VIH. *Virologie*, 3(3) :217–226, 1999.
- [15] J. Levy. Traitements du SIDA : recherche de nouveaux médicaments et élaboration de thérapies géniques. *Médecine/Sciences*, 7 :830–841, 1991.
- [16] C. Liu and N. Zhang. Pharmaceutical strategies enhancing cell penetration efficiencies of non-viral gene delivery systems. *Curr Gene Ther*, Jul 2009.
- [17] P. Lowenstein. Clinical trials in gene therapy : Ethics of informed consent and the future of experimental medicine. *Current Opinion in Molecular Therapy*, 10(5) :428–430, 2008.
- [18] X. Lu, Q. Yu, G. K. Binder, Z. Chen, T. Slepushkina, J. Rossi, and B. Dropulic. Antisense-mediated inhibition of human immunodeficiency virus (HIV) replication by use of an HIV type 1-based vector results in severely attenuated mutants incapable of developing resistance. *J Virol*, 78(13) :7079–88, Jul 2004.
- [19] V. McKusick. *Mendelian Inheritance in Man ; A Catalog of Human Genes and Genetic Disorders*. Baltimore, MD : The Johns Hopkins University Press, 2004.
- [20] R. T. Mitsuyasu, T. C. Merigan, A. Carr, J. A. Zack, M. A. Winters, C. Workman, M. Bloch, J. Lalezari, S. Becker, L. Thornton, B. Akil, H. Khanlou, R. Finlayson, R. McFarlane, D. E. Smith, R. Garsia, D. Ma, M. Law, J. M. Murray, C. von Kalle, J. A. Ely, S. M. Patino, A. E. Knop, P. Wong, A. V. Todd, M. Haughton, C. Fuery,

- J. L. Macpherson, G. P. Symonds, L. A. Evans, S. M. Pond, and D. A. Cooper. Phase 2 gene therapy trial of an anti-HIV ribozyme in autologous CD34+ cells. *Nat Med*, 15(3) :285–92, Mar 2009.
- [21] R. Mulherka. Gene therapy for cancer. *Current Science*, 81(5) :555–560, 2001.
- [22] E. Nichols. *Human Gene Therapy*. Cambridge, Massachusettes : Harvard University Press, 1998.
- [23] P. Olsen, M. Randol, L. Luna, T. Brown, and S. Krauss. Genomic sequence correction by single-stranded DNA oligonucleotides : role of dna synthesis and chemical modifications of the oligonucleotide ends. *Journal of Gene Medicine*, 7(12) :1534–1544, 2005.
- [24] L. Rodriguez-Murillo and D. A. Greenberg. Genetic association analysis : a primer on how it works, its strengths and its weaknesses. *Int J Androl*, 31(6) :546–556, Dec 2008.
- [25] Z. Romero, M. Toscano, J. Unciti, I. Molina, and F. Martín. Safer vectors for gene therapy of primary immunodeficiencies. *Curr Gene Ther*, Jul 2009.
- [26] J. Seto, M. P. Walsh, P. Mahadevan, A. Purkayastha, J. M. Clark, C. Tibbetts, and D. Seto. Genomic and bioinformatics analyses of hadv-14p, reference strain of a re-emerging respiratory pathogen and analysis of b1/b2. *Virus Res.*, 143(1) :94–105, Jun 2009.
- [27] M. Terai, Y. Tamura, V. Alexeev, E. Ohtsuka, D. Berd, M. J. Mastrangelo, and T. Sato. Human interleukin 10 receptor 1/IgG1-Fc fusion proteins : immunoadhesins for human IL-10 with therapeutic potential. *Cancer Immunol. Immunother.*, 58(8) :1307–17, Jul 2009.
- [28] C. Thomas, A. Ehrhardt, and M. Kay. Progress and problems with the use of viral vectors for gene therapy. *Nature Genetics Review*, 4 :346–358, 2003.
- [29] D. Thomas. *Statistical Methods in Genetic Epidemiology*. Oxford University Press, 2004.
- [30] J. van Griensven, E. De Clercq, and Z. Debyser. Hematopoietic stem cell-based gene therapy against HIV infection : promises and caveats. *AIDS Rev*, 7(1) :44–55, 2005.
- [31] G. Vassaux and P. Martin-Duque. Use of suicide genes for cancer gene therapy : study of the different approaches. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 4(4) :519–530, 2004.
- [32] M. Waldner and M. Neurath. Gene therapy using IL 12 family members in infection, auto immunity, and cancer. *Curr Gene Ther*, Jul 2009.
- [33] M. Yenari and R. Sapolsky. Gene therapy in neurological disease. *Methods in Molecular Medicine*, 104 :75–87, 2004.
- [34] F. T. Zohra, E. H. Chowdhury, and T. Akaike. High performance mrna transfection through carbonate apatite-cationic liposome conjugates. *Biomaterials*, 30(23-24) :4006–13, Jul 2009.

Glossaire

hémoglobinopathies quantitatives Les thalassémies sont un groupe de maladies héréditaires autosomales récessives caractérisées par la diminution ou l'absence de production des chaînes de globine b (thalassémie b) ou a (thalassémie a). Ces maladies sont liées à des mutations de la région régulatrice de l'ADN appelée LCR (locus control region). 9

hémoglobinopathies structurelles Les modifications héréditaires structurelles de chaînes isolées d'hémoglobine, sont liées à des mutations des gènes correspondants. L'hémoglobinopathie la plus fréquente est la forme homozygote de la drépanocytose (maladie Hb-SS). Elle est due à une mutation ponctuelle du gène de la globine-b situé sur le chromosome 11p15.4. Il s'en suit le remplacement de l'acide glutamique par de la valine, en position 6 de la chaîne b. L'HbS ainsi constituée a tendance à se polymériser lorsqu'elle est désoxygénée pour former des agrégats appelés « tactoïdes ». Ces agrégats déforment la membrane des érythrocytes et produisent leur forme caractéristique en faucille. Ces formes rigides d'érythrocytes sont séquestrées essentiellement dans la rate et sont responsables en outre d'occlusions vasculaires. 9

interférence ARN La technique d'interférence ARN consiste à utiliser un acide ribonucléique simple ou double-brin qui, grâce à ces interactions spécifiques avec un ARN messager, va conduire à sa dégradation et à la diminution de sa traduction en protéine. 1

liposomes Les liposomes sont des vésicules artificielles formées par des bicouches lipidiques concentriques, emprisonnant entre elles des compartiments aqueux. Ils sont obtenus à partir d'une grande variété de lipides amphiphiles, dont les plus couramment utilisés sont les phospholipides. Lorsque de tels composés sont mis en présence d'un excès de solution aqueuse, ils s'organisent de manière à minimiser les interactions entre leurs chaînes hydrocarbonées et l'eau. 5

protéine AAT Chez les sujets sains, le foie contient une enzyme appelée élastase qui digère les cellules en dégénérescence ou endommagées ainsi que les bactéries au niveau des poumons. Cependant, ces enzymes ne savent pas quand il faut s'arrêter et peuvent de ce fait s'attaquer au tissu sain. La protéine α_1 -antitrypsine, ou AAT, est produite par le foie et elle assure un rôle de régulation en détruisant ces enzymes avant qu'elles ne s'attaquent aux poumons. Lorsque celle-ci n'est pas produite en quantité suffisante, les tissus pulmonaires continuent d'être attaqués entraînant des troubles respiratoires chroniques. 9

protéine p53 La protéine p53 est une phosphoprotéine de 393 acides aminés de poids moléculaire 53 kDa. On la trouve en très petite quantité dans les cellules normales, mais en grande abondance dans les cellules transformées en culture ou dans les tumeurs humaines. Pour être active, elle doit agir sous forme de tétramère. Aussi, une simple lésion sur une des protéines constitutives suffit à supprimer ou diminuer sa fonction. 7

rybozyme Molécule d'ARN possédant la propriété de catalyser une réaction chimique spécifique, tout comme les enzymes. Les propriétés catalytiques des ribozymes sont liées à la capacité de l'ARN de se replier pour former une structure compacte bien définie, qui, comme dans le cas des protéines, permet la formation de cavités formant des sites de fixation de ligands. Des groupements réactifs précisément orientés réalisent alors la catalyse proprement dite. 8

transmission mendélienne Les lois de transmission génétique décrites par G. Mendel au 19ème siècle (ségrégation des traits et indépendance) définissent la manière dont les gènes se transmettent de génération en génération. 2

Table des matières

1	Introduction	1
2	Le point sur la thérapie génique	1
2.1	Qu'est-ce que la thérapie génique?	1
2.2	Que permet la thérapie génique en pratique?	2
2.3	Le principe général de la thérapie génique	3
2.4	Les limites de l'utilisation des rétro- et adénovirus en thérapie génique	4
3	Applications de la thérapie génique	5
3.1	Organisation des essais cliniques	5
3.2	Tour d'horizon des maladies acquises traitables par TG	6
3.3	Cancérologie	6
3.4	Infection au VIH	7
3.5	Maladies d'origine génétique	8
4	La thérapie génique et la bioinformatique	9
4.1	Séquençage et ciblage	9
4.2	Recherche de facteurs de risque	10
5	Conclusion	11