

CAFÉ DU GÈNE

« Des gènes pour réparer l'homme »

19 octobre 2002, Mairie d'Évry

Avec **Olivier Danos**, directeur de recherche au CNRS, directeur scientifique de Généthon.

Un Café du gène animé par **Marie-Odile Monchicourt**, journaliste scientifique.

« En allumant la télévision ou en lisant le journal, nous sommes régulièrement interpellés par des questions relatives à la thérapie génique, lance Marie-Odile Monchicourt. Mais il est parfois assez difficile pour des néophytes de distinguer ce qui relève de la recherche fondamentale, de perspectives thérapeutiques ou de premiers essais d'application. »

« Il faut revenir d'abord un peu sur la notion de gène avant de parler de thérapie génique et de voir comment on pourrait "réparer" l'homme, propose Olivier Danos. Moi-même, j'essaie encore de comprendre ce qu'est le gène. Il est essentiel, parce que c'est lui l'unité de base de toute structure génétique. »

Une molécule composée de 3 milliards de pièces

Le gène est l'unité d'information qui donne les instructions nécessaires à nos cellules pour qu'elles produisent les protéines indispensables au fonctionnement de l'organisme. Les gènes sont composés d'éléments chimiques, ou nucléotides*, de natures différentes et que l'on désigne par les initiales de leurs noms chimiques (A, T, C, G). C'est uniquement avec ces 4 lettres que s'écrit la carte génétique, pourtant très complexe, propre à chaque individu !

Le génome est l'ensemble des gènes que possède tout être vivant (plante, animal ou humain). Il est organisé d'une certaine façon pour chacune des espèces (il y a un génome humain, un génome de la mouche, du maïs...). À l'intérieur de ces espèces, les gènes, transmis de génération en génération, codent les informations spécifiques qui font que chaque individu est unique. *« D'une certaine manière, le génome est un plan dont le gène est l'unité de base, lui-même composé de quelques centaines à plusieurs millions d'éléments chimiques »*, explique Olivier Danos. On estime ainsi que la carte génétique d'un humain est composée de 3 milliards de bases.

Penser la thérapie génique

L'aventure moderne de la génétique et de l'exploration de la cartographie du génome humain commence dans la seconde moitié du XX^{ème} siècle. En 1942, on démontre que l'ADN* (acide désoxyribonucléique) est bien la molécule, présente dans chaque cellule, qui contient les gènes et donc les informations transmissibles de génération en génération. Environ dix ans plus tard, en 1953, deux chercheurs proposent le modèle, aujourd'hui célèbre, de la structure tridimensionnelle de cet ADN. « *C'est le point de départ de la génétique moléculaire, de l'investigation de la génétique et de ses traductions dans des manifestations biologiques* », précise Olivier Danos.

On a ainsi peu à peu compris le rôle des gènes dans le bon fonctionnement de la cellule et de l'organisme. Puis, *a contrario*, ces recherches ont permis de montrer qu'il y avait un ou des gènes défectueux à l'origine de certaines maladies, dites « génétiques », comme les myopathies, la mucoviscidose, etc. Qu'une seule des lettres manque ou soit remplacée par une autre dans le codage du gène, et celui-ci peut devenir illisible, incompréhensible pour la cellule, qui ne parvient alors plus à produire correctement la protéine nécessaire. Depuis une trentaine d'années, on est parvenu à isoler des gènes, à les multiplier et à contrôler leur expression en laboratoire : c'est ce qu'on appelle le génie génétique.

« À partir de là, l'idée de pallier la déficience de certains gènes en apportant l'information qui manque pour essayer de guérir des maladies génétiques, a germé rapidement. Jusqu'alors, les médicaments étaient tous des molécules chimiques apportant un signal aux cellules. Avec la génétique moléculaire, on a commencé à imaginer des médicaments apportant une information susceptible de reprogrammer la cellule. On en est encore au tout début, rappelle Olivier Danos, parce qu'il existe une foule de maladies génétiques, certaines très simples, d'autres extrêmement complexes, mais tout cela a permis de concevoir la thérapie génique. »

Il s'agit bien évidemment de lutter contre les maladies génétiques transmises héréditairement, mais également contre toute maladie où les gènes sont en cause, soit parce qu'ils acquièrent des lésions qui finissent par déclencher une maladie (comme le cancer), soit parce que le terrain génétique est l'un des facteurs de développement d'une maladie ayant également des causes infectieuses ou environnementales (l'asthme, par exemple).

Premiers jalons pour l'expérimentation

« Nous avons les outils pour penser la thérapie génique, mais quels sont les moyens et les problèmes pour reprogrammer les gènes défectueux ? » demande un participant au débat.

Le séquençage du génome humain

On a quasiment achevé aujourd'hui le « séquençage » de la structure de l'ADN humain. Cela signifie que l'on connaît l'ordre de distribution des milliards de bases qui composent le génome et que l'on a identifié les séquences correspondant à des gènes. C'est donc une première étape : parmi les 30 000 à 35 000 gènes présents chez l'homme, on peut donc repérer, définir et analyser une anomalie génétique, et espérer agir sur elle. « *Ainsi, nous avons identifié à Généthon les gènes déficitaires en cause dans certaines maladies amyotrophiques* », explique Olivier Danos.

Des « vecteurs » pour introduire les gènes médicaments

La deuxième étape consiste à isoler le gène défectueux, à le reproduire en laboratoire pour le manipuler, le corriger et le réinjecter dans l'organisme. Or, si l'on parvient aujourd'hui à le faire chez la souris, cela ne fonctionne pas chez l'homme, du moins pas encore. En revanche, on sait introduire un gène (on l'appellera alors « gène médicament » ou « gène clé ») dans l'organisme humain à l'aide d'un « vecteur ». Ce vecteur est le plus souvent un virus, manipulé de telle sorte qu'il puisse transporter une molécule d'ADN codant l'information génétique destinée à corriger le déficit initial. Bien entendu, le virus est avant toute chose rendu inoffensif, selon des procédés sous haute surveillance. La raison du choix des virus tient à ce qu'ils présentent une capacité exceptionnelle à pénétrer à l'intérieur des cellules et qu'ils sont eux-mêmes porteurs d'ADN qu'ils peuvent transmettre à leurs cellules hôtes. On a donc eu l'idée de leur « greffer » une autre séquence d'ADN, qu'ils grefferaient à leur tour aux cellules de l'organisme¹.

Les choses se compliquent encore au moment de l'arrivée du vecteur dans l'organisme, car si l'on sait parfaitement où il faudrait qu'il se rende pour corriger le gène déficient, on ne sait pas le diriger. De fait, le vecteur dépose le gène médicament n'importe où dans le génome. Mais comme ce dernier comporte de très grands espaces qui ne contiennent pas de gène, le gène importé a toutes les chances de s'insérer sans que cela n'entraîne d'effets négatifs. Il existe néanmoins un risque pour que le gène importé s'insère dans un gène, ou à proximité, et altère son fonctionnement. Dans ce cas, plusieurs alternatives : le gène altéré peut être inactivé si la lésion est trop importante, entraînant la mort de la cellule, ce qui n'est pas très grave puisque d'autres sont là pour lui suppléer ; mais le vecteur peut aussi, en s'insérant, transférer des informations inadéquates au gène qu'il n'aurait pas dû toucher, pouvant du coup laisser craindre des effets secondaires inconnus.

Comment atteindre un nombre suffisant de cellules ?

« Si on parvient à atteindre le type cellulaire ciblé, le problème suivant est d'atteindre et de corriger un nombre suffisant de cellules pour que l'organisme dans son

¹ Quoique des virus restent les véhicules les plus courants pour transporter les gènes médicaments, des recherches sont en cours pour mettre au point d'autres moyens de transport, notamment les liposomes*.

ensemble arrive à pallier son défaut génétique et à produire les protéines nécessaires à son bon fonctionnement », poursuit Olivier Danos. Bien que cela soit variable de l'une à l'autre, la plupart des maladies génétiques, même si elles bénéficieraient d'une thérapie génique spécifique, nécessiteraient que l'on corrige environ 20 % des cellules défectueuses pour obtenir un effet bénéfique, ce qui est rigoureusement impossible aujourd'hui. C'est malheureusement le cas des maladies amyotrophiques, pour lesquelles il faudrait reprogrammer les cellules, muscle par muscle.

Le problème est que le vecteur, une fois « installé » au sein d'une cellule, n'en bouge plus. Les chercheurs travaillent donc à l'amélioration de ces vecteurs pour qu'ils soient un jour en mesure de partir coloniser d'autres cellules à partir de la première cellule corrigée.

« Est-ce que les fameuses cellules souches ne sont pas une autre piste pour pallier ce problème et augmenter la quantité de cellules corrigées ? », demande quelqu'un. « Effectivement, on en attend beaucoup, répond Olivier Danos. Il s'agit de cellules pouvant donner naissance à de multiples cellules aux fonctions différentes. Il y a bien longtemps que la potentialité de ces cellules est exploitée, dans les greffes notamment : par exemple, la peau greffée se reconstitue grâce aux cellules souches qui y sont présentes. Ce qui est nouveau, c'est la perspective d'exploiter ces cellules dans le cadre de la thérapie génique. Mais il faut savoir que les cellules souches prélevées chez une personne atteinte d'une maladie génétique présentent elles aussi ce défaut génétique. On espère donc les modifier génétiquement in vitro, avant de les injecter dans l'organisme, où elles se multiplieraient suffisamment pour guérir la pathologie. L'amélioration de la technique de thérapie génique viendra donc soit de l'augmentation du nombre de cellules reprogrammées, soit de l'exploitation des propriétés des cellules souches. »*

Comment pérenniser la correction génétique ?

La durée de vie de l'information apportée par thérapie génique dans les cellules n'est pas encore bien contrôlée. Certaines cellules peuvent ainsi bénéficier d'une parfaite correction de leur défaut génétique, mais seulement pendant un temps déterminé. C'est le cas notamment dans des essais de thérapie génique de l'hémophilie, où l'effet bénéfique disparaît après quelques semaines ou quelques mois. Il arrive également qu'une réaction immunitaire détruise les cellules génétiquement corrigées. Ces mécanismes immunologiques sont encore mal connus.

Des effets secondaires difficiles à circonscrire

Bien sûr, les technologies vont évoluer et se sophistiquer dans les prochaines années, mais l'évaluation des bénéfices et des risques oblige de toute façon à la prudence. En effet, les risques encourus à moyen ou long terme étant largement inconnus, la thérapie génique restera probablement très restreinte dans ses applications.

Il faut noter également que l'on écarte du champ d'action, pour l'instant et sans doute pour un moment encore, toutes les maladies génétiques polygéniques*, c'est-à-dire toutes celles qui sont dues à la combinaison de plusieurs déficits génétiques. En effet, celles-ci nécessiteraient autant de thérapies géniques que de gènes défectueux à corriger, limitant les chances de réussite et augmentant les risques d'effets secondaires. Pour quelques années encore, les essais de thérapie génique seront donc vraisemblablement réservés à quelques maladies monogéniques* très graves, pour lesquelles il n'existe pas de traitement satisfaisant. « *Si la thérapie génique devient un traitement, ce ne sera pas un traitement courant et il y aura encore moins de traitements dits "de confort"* », prédit Olivier Danos.

Première thérapie génique réussie

« Il y a néanmoins toute une série de maladies sur lesquelles les chercheurs progressent et pour lesquelles nous pensons pouvoir développer à l'avenir des thérapies géniques, continue Olivier Danos. Il n'est même pas toujours nécessaire de connaître le gène responsable pour agir : dans le cancer, par exemple, on devrait pouvoir reprogrammer les cellules surnuméraires dangereuses afin qu'elles meurent. Pour ce qui est des maladies génétiques, la première victoire d'une thérapie génique a été publiée en 2000 à propos d'un "enfant bulle" traité par l'équipe d'Alain Fischer à Paris. »

Les « enfants bulle » souffrent dès la naissance d'une maladie génétique rarissime, touchant quelques dizaines de bébés dans le monde chaque année, qui les prive de toute défense immunitaire. Sauf à bénéficier d'une greffe de moelle osseuse très hypothétique et présentant des risques graves de réaction immunologique², ces enfants sont condamnés à rester cloîtrés dans une bulle stérile qui les protège de toute attaque pathogène, même la plus minime. Dix enfants ont d'abord été traités avec succès à Paris (d'autres le sont en Grande-Bretagne, notamment). Depuis, ils ont pu quitter l'hôpital, vivre dans leur famille, aller à l'école, être vaccinés, ce qui représente indéniablement une victoire formidable.

Pourquoi la thérapie génique a-t-elle été possible pour cette pathologie et que peut-on en espérer pour d'autres maladies ? « *Ce déficit immunitaire génétique est une maladie monofactorielle –un seul gène est en cause, ce qui en fait d'emblée un bon candidat pour la thérapie génique. L'équipe de Necker a donc commencé par isoler le gène déficient, raconte Olivier Danos. Elle a ensuite mis au point un vecteur viral porteur du gène clé. Le second facteur de réussite tient à ce que les cellules sanguines qui composent le système immunitaire sont toutes issues de la moelle osseuse, où se trouvent de nombreuses cellules souches. Par conséquent on a "corrigé" quelques-unes des cellules souches, qui ont ensuite colonisé la moelle par un processus classique de division cellulaire. Rapidement, les jeunes patients ont donc à nouveau disposé de cellules sanguines saines et en nombre suffisant pour assurer leur défense immunitaire. Cette expérience de thérapie génique montre à la fois qu'il s'agit d'un mode d'intervention appelé à se développer considérablement et, en même temps, qu'elle requiert tout un ensemble de conditions préalables qui la*

² Il est impossible de trouver un donneur compatible dans un tiers des cas, et lorsqu'il y a greffe, celle-ci peut provoquer des lymphomes, entraînant le décès du malade dans 20 à 30 % des cas.

rendent aujourd'hui difficilement généralisable. Cela d'autant qu'on a vu récemment des problèmes survenir. »

Des interrogations qui subsistent

En effet, un cas de maladie grave a été malheureusement constaté au cours de l'été 2002 chez l'un des enfants traités à Paris. Suite à une varicelle, son système immunitaire a continué de produire en très grande quantité des lymphocytes, cellules sanguines chargées de la défense de l'organisme contre les agressions pathogènes. Cette prolifération anormale de lymphocytes présente des similitudes avec une leucémie. Ce problème a amené les agences de sécurité sanitaire européennes et américaines à suspendre l'essai clinique en cours, le temps de réfléchir à toutes les questions posées par cet accident. *« La première est de savoir si cette manifestation pathologique est ou non un effet secondaire de la thérapie génique, résume Olivier Danos. Il semble que l'intervention sur les cellules n'explique pas à elle seule toute la réaction. Néanmoins, nous avons des raisons de nous interroger sur ses effets. Pour qu'une cellule fonctionne normalement, différents gènes doivent s'exprimer selon un cycle précis. On peut penser que si ce cycle est perturbé (par l'insertion du vecteur du gène thérapeutique notamment), la cellule perd peu à peu le contrôle de sa multiplication et "s'emballe". »*

Une personne intervient : *« Les risques ne sont pas limités à la thérapie génique, il y en a avec tous les médicaments. Est-ce qu'il faut pour autant se priver d'un tel espoir dans le cas d'une maladie mortelle ? »*

« C'est vrai qu'il existe toujours des risques, reprend Olivier Danos, mais cela ne signifie pas qu'on doive les encourir systématiquement. L'histoire du sang contaminé a montré qu'on s'était trompé en évaluant d'emblée le rapport bénéfice/risque favorable. Aujourd'hui, on constate une plus grande exigence de transparence et une tendance à retirer du marché des médicaments ayant des effets secondaires graves, même rares. »

Les protocoles d'essais thérapeutiques sont aujourd'hui très encadrés. Ils exigent le consentement éclairé du patient, une surveillance stricte par les autorités de santé, le signalement de tout incident, et ils font l'objet d'échanges internationaux constants, à plus forte raison dans un contexte d'incertitude scientifique. Après réévaluation du rapport bénéfice/risque, les britanniques ont décidé de reprendre la thérapie génique sur les enfants bulle. Les américains et les français feront vraisemblablement de même.

« Ce qui me paraît très important à souligner, explique Olivier Danos, c'est que même si l'on dresse un bilan négatif concernant l'essai mené à Paris sur les enfants bulles, pour l'arrêter au final, cela signifiera uniquement la fin de cet essai-là, et non la fin de toute thérapie génique ; de la même manière qu'un médicament classique toxique ne nous fait pas renoncer à toute la pharmacologie chimique. D'ailleurs, alors que l'équipe d'Alain Fischer débutait son essai, les britanniques en mettaient un au point et profitaient des premières données parisiennes pour améliorer leur protocole. C'est comme cela que travaillent les scientifiques : par recherches, tâtonnements et

progrès successifs. Si un essai de thérapie génique n'est pas satisfaisant, il faut l'améliorer. »

Serons-nous génétiquement modifiés ?

« On comprend bien l'intérêt de la thérapie génique pour des maladies très graves, commente un participant. Mais, ne peut-on craindre que ces manipulations génétiques entraînent une modification, voire une dégénérescence, de l'espèce au fur et à mesure des reproductions ? C'est un des arguments des détracteurs des OGM qui est peut-être à prendre en considération. »

Si l'argument a une portée certaine concernant les OGM, en revanche, il n'en a pas concernant la thérapie génique. *« Dans le cas des OGM, précise Olivier Danos, on intervient sur les cellules germinales, c'est-à-dire, les cellules de la reproduction, dans le but de transformer l'espèce durablement, au-delà de la première génération manipulée. Dans le cas des thérapies géniques, on ne modifie que des cellules dites "somatiques", qui n'interviennent en aucune façon dans la reproduction. »* Si une personne atteinte d'un défaut génétique est soignée par thérapie génique, sa guérison n'empêchera donc pas qu'elle transmette éventuellement son défaut génétique à ses enfants.

« N'y a-t-il aucun risque-t-il de propagation accidentelle du gène médicament vers les cellules germinales ? » relance une personne.

Pour Olivier Danos, la réponse est très claire, et c'est non, *« dans la mesure où ce ne sont pas du tout les mêmes techniques qui permettent d'intervenir sur les cellules germinales et sur les cellules somatiques ; il ne peut pas y avoir de propagation accidentelle. »* Des contrôles stricts sont d'ailleurs organisés par les autorités sanitaires.

Une autre préoccupation s'exprime concernant la possibilité éventuelle d'intervenir sur l'intelligence ou l'obésité... Cette perspective semble relever davantage du fantasme que de la thérapie génique. *« Comprendre ce qu'est une brique comme le gène ne donne pas la clé de la construction du château »,* rappelle Olivier Danos. À plus forte raison en s'interdisant d'intervenir sur les cellules germinales...

Qui décide ?

On a choisi en France, comme dans les autres pays d'ailleurs, de ne pas faire de thérapie génique sur les cellules germinales pour des raisons éthiques. *« C'est un véritable choix de société, qui concerne tout le monde et pas spécialement les scientifiques, insiste Olivier Danos. En tant que chercheur, je n'ai pas besoin de non-spécialistes pour résoudre mes problèmes techniques. En revanche, les problèmes et les attentes des gens concernés font partie de mes préoccupations, parce que je fais de la recherche fondamentale destinée à aboutir à des applications. »*

Un participant au débat prend la parole pour dire son malaise devant le fait que la recherche française sur la thérapie génique soit largement subventionnée par des fonds privés, et non par les deniers de l'État. « *Certes, dans le cas de Généthon, il s'agit de fonds privés, dans la mesure où cet argent est collecté auprès du public par le biais du Téléthon, mais il s'agit bien de l'argent du public et l'État n'est pas absent non plus de ces financements, précise Olivier Danos. J'ai longtemps travaillé dans la recherche publique et je continue de penser que l'État répond très bien à certaines questions, notamment celles de santé publique touchant un grand nombre de personnes. Mais pour les maladies rares, il est très clair qu'il n'y aurait jamais eu de recherche telle qu'elle existe aujourd'hui sans la mobilisation de l'Association française contre les myopathies* (AFM) et du public. »*

Dans les années 1980-1990, les associations de personnes atteintes de maladies génétiques et celles de lutte contre le sida ont décidé de s'intéresser au monde de la science et montrer qu'elles pouvaient avoir un point de vue légitime sur l'orientation des recherches. Et Olivier Danos de conclure : « *Aujourd'hui, on ne peut plus tout organiser de manière pyramidale en pensant les choses d'en haut. »*

GLOSSAIRE

ADN

Abréviation d'« Acide désoxyribonucléique ». Molécule géante formée de l'assemblage linéaire de 4 petites molécules de base, ou nucléotides. C'est le principal composant des chromosomes et le support de l'hérédité. Les gènes sont des fragments de cette molécule.

Cellule souche

Cellule très peu ou pas spécialisée, capable de se reproduire pour assurer la permanence de sa lignée (sanguine, musculaire, etc.), mais également de se différencier pour donner des cellules spécialisées.

Liposome

Capsule grasseuse artificielle utilisée pour le transport de gènes. Son enveloppe, de composante similaire à celle de la membrane cellulaire, lui permet de fusionner avec celle-ci et de libérer le gène dans la cellule.

Monogénique (maladie)

Maladie qui résulte de l'altération d'un seul gène.

Multigénique (maladie)

Maladie qui résulte de l'altération de plusieurs gènes.

Nucléotide

Composant de base de la molécule d'ADN, formé de l'assemblage de molécules d'acide phosphorique, d'un sucre et d'une base (Adénine, Thymine, Cytosine ou Guanine).

POUR EN SAVOIR PLUS

- ***Bienvenue dans la thérapie génique.*** Olivier Danos. Collection Les enquêtes de Marie-Odile Monchicourt, Éditions Platypus Press, 2002.
- ***La médecine de demain : le gène apprivoisé.*** Olivier Révélat. Collections Les Essentiels, Éditions Milan, 2001.
- ***Le génome humain.*** Charles Auffray. Collections Dominos, Éditions Flammarion, 2002.
- ***La Thérapie Génique.*** Éditions TEC & DOC, 2001.
- ***Peut-on guérir le cancer avec des OGM ?*** Louis-Marie Houdebine. Collection Les petites pommes du savoir, Éditions Le Pommier, 2002.
- ***Thérapie génique : à portée de doigts.*** La Recherche n°341, avril 2001.
- ***Traitement du déficit immunitaire combiné sévère lié à l'X par transfert ex-vivo du gène gamma-c.*** Fischer & col. Médecine/Sciences, vol.16, n°5, p. 681-4, 2000.

Sites Internet

- www.genethon.fr
- www.afm-france.org
- www.inapg.inra.fr/ens_rech/bio/biotech/textes/presenta/thegenpres.htm
- www.cite-sciences.fr/webmag/decembre/webmagazine/une/fs_une.htm