



Dossier de presse

**Téléthon 2007 : transformer les
essais en succès thérapeutiques**

Conférence de presse

19 novembre 2007

Presse Club de France, Paris

Contacts Presse : E. Assaf, D. Carvalho, G. Broudin - 01 69 47 12 78, eassaf@afm.genethon.fr

Réussir le grand virage des traitements

Dès la fin des années 1980, l'AFM dessinait le chemin du médicament et ses étapes : les premières cartes du génome humain, l'identification des gènes responsables de maladies, la preuve de concept pour des thérapies nouvelles... Stratégie payante : avec 40 essais cliniques en cours ou en préparation, l'AFM entre dans l'ère des traitements, 20 ans seulement après le premier Téléthon. Il s'agit aujourd'hui de transformer les essais en véritables succès thérapeutiques, un défi ambitieux et coûteux puisqu'un essai sur l'homme coûte plusieurs millions d'euros et que la mise au point d'un médicament nécessite plus de 10 ans.

En soutenant les équipes publiques de recherche, en engageant des partenariats avec les industriels, en développant des outils d'intérêt général, l'AFM n'a qu'un objectif : accélérer la mise au point des thérapeutiques pour guérir des maladies encore incurables. Du premier Téléthon en 1987 à aujourd'hui, la recherche scientifique et médicale a ainsi énormément progressé. Grâce à l'impulsion de l'AFM et au Téléthon, les pistes thérapeutiques et les essais cliniques se multiplient.

Pour en arriver là, 778 millions d'euros ont été engagés par l'AFM de 1988 à 2006 pour sa mission Guérir, dont 61 millions d'euros en 2006

Des cartes du génome aux premiers traitements

- **Identifier les gènes à l'origine de la maladie**

Avant le Téléthon, on ne connaissait qu'un seul gène à l'origine d'une maladie génétique neuromusculaire, celui de la dystrophine pour la myopathie de Duchenne. Grâce aux dons des premiers Téléthon, l'AFM a mis en place des outils d'intérêt général (cartes du génome notamment) qui ont permis d'accélérer l'identification de gènes en cause dans des centaines de maladies. Aujourd'hui, notamment par le biais des appels d'offres maladies rares (Institut des maladies rares et Agence Nationale de la Recherche), elle continue de financer des programmes dans ce domaine. Grâce à ces travaux, le diagnostic génétique est rendu possible pour de nombreuses maladies ainsi qu'une recherche approfondie sur les mécanismes physiopathologiques en cause. C'est dans ce sens que l'AFM est un des partenaires fondateurs de la Fondation Imagine (hôpital Necker-Enfants Malades) avec un apport financier à sa création de 2,8M€.

- **Comprendre les mécanismes moléculaires et cellulaires responsables des maladies**

Le soutien à cette recherche fondamentale a permis d'identifier de nombreuses cibles thérapeutiques. Cela passe aussi par la compréhension des mécanismes fondamentaux de la formation, la dégénérescence et la régénération du système nerveux central, du système

nerveux périphérique, du cœur ou les mécanismes de l'immunité. L'AFM s'est engagée dans le développement des thérapeutiques avec la volonté de ne négliger aucune piste. Elle encourage toutes les initiatives qui émergent des laboratoires, soutient les travaux précliniques et, lorsqu'une nouvelle piste prometteuse se confirme, s'attache à identifier les maladies rares potentiellement candidates à cette technique et à soutenir les essais cliniques sur les maladies « modèles ».

Aujourd'hui, au-delà du concept originel de gène-médicament (transfert d'un gène thérapeutique au cœur d'une cellule), des pistes nouvelles se dégagent (chirurgie du gène, greffes de cellules souches, pharmacologie agissant sur des voies biochimiques nouvelles) avec des applications potentielles pour de très nombreuses maladies rares ainsi que pour des maladies fréquentes (maladie de Parkinson, d'Alzheimer, insuffisance cardiaque, vieillissement, dégénérescence maculaire liée à l'âge).

- **Evaluer chez l'Homme les pistes thérapeutiques**

Les premiers essais cliniques des thérapies nouvelles développées avec le concours de l'AFM grâce aux dons du Téléthon ont débuté dès la fin des années 1990. Thérapie génique du déficit immunitaire combiné sévère lié à l'X (DICS-X, la maladie des « bébés-bulles »), thérapie cellulaire de l'infarctus du myocarde, thérapie cellulaire de la maladie de Huntington : dès l'année 2000, des premiers résultats prometteurs sont publiés. De nombreux essais concernant d'autres maladies sont lancés.

Les moyens mis en œuvre

- Des appels d'offres : 350 programmes de recherche et 60 bourses doctorales ou post-doctorales financés chaque année ; 80 projets scientifiques « maladies rares », soutenus via les appels d'offres de l'Agence Nationale de la Recherche et de l'Institut des maladies rares (en 2005 et 2006)
- Une véritable politique de sites et de plateformes : AP-HP (Necker, Cochin, Pitié-Salpêtrière...), pôle nantais, Ecole vétérinaire de Maisons-Alfort, Marseille-Nice, Genopole d'Evry
- Des programmes stratégiques : 17 projets de 500K€ à plusieurs millions d'euros par an pendant plusieurs années
- Des partenariats institutionnels : INSERM, CNRS, CEA, AP-HP, Universités, Ministère de la Recherche et Ministère de la Santé...
- Des partenariats industriels (biotechs et sociétés pharmaceutiques), toujours dans une logique de retour au malade
- Des partenariats associatifs : soutien financier à d'autres associations comme Vaincre la Mucoviscidose ou Rétina France ; création et financement d'Eurordis, association européenne réunissant 300 associations européennes de maladies rares ; consortium stratégiques avec d'autres associations internationales majeures comme la MDA (Muscular Dystrophy Association) ou Duchenne Parent Project ; Fondation Imagine (Necker) dont l'AFM est un partenaire fondateur
- Des actions auprès de la Communauté Européenne, par le biais d'Eurordis, ayant permis par exemple une réglementation particulière pour les médicaments orphelins (449 médicaments désignés orphelins depuis 1999, dont 33 autorisations de mise sur le marché pour le bénéfice potentiel d'1,6 million de malades en Europe)

De plain-pied dans l'ère des traitements

Aujourd'hui, l'AFM contribue financièrement à 40 essais cliniques en cours ou en préparation, pour des maladies neuromusculaires (environ 50%) et non neuromusculaires. Au total, ce sont près de 30 maladies concernées par ces essais :

- 15 maladies neuromusculaires
- 4 maladies neurologiques ou neurodégénératives : adrénoleucodystrophie, maladie de Huntington, ataxie de Friedreich, maladie de San Filippo (2 types différents)
- 3 maladies du sang : drépanocytose, bêta-thalassémie et porphyrie
- 3 déficits immunitaires : DICS-X, ADA et WASP
- 1 maladie de la peau : épidermolyse bulleuse (2 formes différentes)
- 1 maladie de la vision : Amaurose de Leber/rétinite pigmentaire (une forme de l'enfant, une forme de l'adulte)
- 1 maladie du vieillissement : progeria
- l'infarctus du myocarde

Ces essais sont répartis entre :

- la thérapie génique (45%) pour corriger la mutation génétique et produire la protéine manquante ou déficiente
- la thérapie cellulaire pour régénérer les tissus malades (15%)
- la pharmacologie classique (40%) avec des molécules déjà utilisées pour d'autres maladies mais susceptibles d'apporter un bénéfice pour les maladies neuromusculaires, ou des molécules nouvelles susceptibles de s'attaquer à la cause directement ou aux conséquences de l'atteinte génétique.

Voir en annexe le tableau complet des essais thérapeutiques soutenus par l'AFM à ce jour.

La thérapie génique aux portes du médicament

Demande d'AMM (Autorisation de Mise sur le Marché) en Italie pour une thérapie génique du déficit immunitaire en ADA

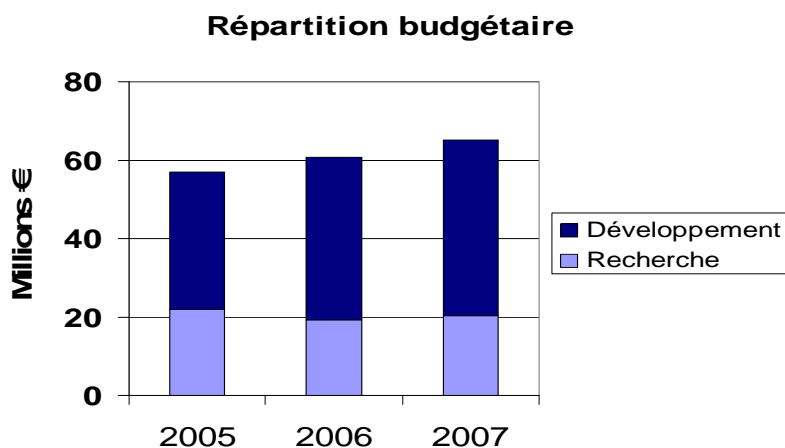
Depuis 2000, l'essai de thérapie génique dans le déficit immunitaire combiné sévère par déficit en adénosine désaminase (ADA-SCID), mené par l'équipe de Maria Grazia Roncarolo, à Milan, a permis de soigner 10 enfants. Ces résultats permettent aujourd'hui à l'équipe de déposer auprès des autorités réglementaires italiennes une demande d'AMM, Autorisation de Mise sur le Marché. La thérapie génique se trouve donc bien aujourd'hui aux portes du médicament.

En pratique, l'essai a été mené au sein du Tiget, laboratoire milanais créé et financé par le Téléthon italien avec le soutien du Téléthon français. L'essai a consisté à introduire le gène de l'ADA, l'enzyme dont l'absence est à l'origine de la maladie, dans des cellules souches de la moelle osseuse. Une fois corrigées, les cellules sont réinjectées au malade qui, dans le même temps, reçoit une légère chimiothérapie permettant de faire un peu de place à ces cellules.

« Sur les enfants traités, alors âgés de moins de 2 ans, on a constaté un bénéfice clinique chez la majorité d'entre eux avec, pour l'instant, une guérison de la maladie », relate Alessandro Aiuti, l'un des médecins de l'équipe italienne.

Comme pour le déficit immunitaire en ADA, la thérapie génique est devenue une réalité thérapeutique pour le déficit immunitaire combiné sévère lié à l'X (DICS-X), la maladie des « bébés-bulles ». Pour ces enfants, l'espérance de vie en l'absence d'une greffe de moelle osseuse est très courte. Avec la thérapie génique (essais menés en France et au Royaume-Uni), 17 bébés-bulles traités ont retrouvé une vie normale. Pour une grave maladie de la peau, l'épidermolyse bulleuse, la thérapie génique (ex vivo) a aussi commencé à faire ses preuves sur un patient : des cellules prélevées dans la paume du malade ont été traitées avec le gène-médicament, puis mises en culture et greffées sur ses jambes, dont l'épiderme a retrouvé son état normal. Aujourd'hui, les médecins envisagent de remplacer toute la peau du malade, étape par étape.

Preuve de son virage vers les traitements : l'AFM consacre depuis quelques années, dans son budget de R&D, une part de plus en plus importante au développement. Si la recherche, notamment fondamentale, reste nécessaire pour poursuivre la compréhension des mécanismes impliqués dans l'apparition et le développement des maladies, le développement des thérapies, dans leur phase préclinique et clinique, représente depuis deux ans plus de 60% (presque 70% du budget R&D en prévision pour 2007).



Trois bras armés pour mener le combat

- **Généthon : du génome au médicament**

Créé et financé par l'AFM depuis 1990, Généthon est un laboratoire unique au monde qui a su, depuis sa création, être un formidable accélérateur de la recherche génétique et un lieu d'innovation unique. Après la cartographie du génome humain, l'identification des gènes responsables de maladies, il s'est attaqué au développement des outils de thérapie génique, puis à la mise au point de traitements par thérapies génique et cellulaire.

Tout entier tourné vers les traitements, passé en moins de 20 ans de la recherche fondamentale sur le génome aux essais cliniques, Généthon illustre le chemin parcouru par l'AFM grâce aux dons du Téléthon. Il est ainsi le premier laboratoire non pharmaceutique à avoir reçu l'autorisation de produire des lots de vecteurs destinés aux essais chez l'homme dans son unité de production de vecteurs à usage clinique. Quatre essais sur l'homme sont actuellement au stade préclinique ou clinique, concernant des maladies neuromusculaires et un déficit immunitaire. Ainsi, en 2006, son premier essai a été lancé avec l'hôpital de la Pitié-Salpêtrière et l'Institut de Myologie. Il concernera à terme 9 patients atteints d'une maladie neuromusculaire, la gamma-sarcoglycanopathie (*cf. fiche spécifique*).

- 200 chercheurs
- Budget annuel supérieur à 20M€ (23,2M€ en 2006, financé à 89% par l'AFM)
- 10 000 m² de laboratoires
- Recherche et développement : transfert de gènes, physiopathologie de maladies neuromusculaires, cellules souches, réponse immunitaire
- Plateau technologique et services supports : banque d'ADN, production et contrôle de vecteurs, évaluation in vivo, affaires réglementaires
- Maître d'œuvre pour la création d'un centre de bioproduction de vecteurs de thérapie génique à grande échelle sur Genopole, à Evry

- **I-Stem : cap sur les cellules souches**

Inauguré en septembre 2007 par la Ministre de la Recherche et de l'Enseignement supérieur, I-Stem est l'Institut des cellules souches pour le traitement et l'étude des maladies monogéniques, dont l'AFM est l'un des fondateurs. Dirigé par Marc Peschanski, directeur de recherche à l'Inserm, il explore les potentiels thérapeutiques des cellules souches humaines, embryonnaires et adultes, dans les maladies rares d'origine génétique. Il est situé au sein du bioparc de la Genopole d'Evry et est issu d'une collaboration entre l'AFM, l'Inserm et l'Université d'Evry-Val-d'Essonne.

I-Stem a reçu début 2005 la toute première autorisation de l'Agence de la Biomédecine pour travailler en France sur les cellules souches embryonnaires humaines, à partir de lignées de cellules importées de l'étranger. En juin 2006, il a reçu l'autorisation de l'Agence de la Biomédecine pour construire une banque de lignées de cellules porteuses d'une mutation génétique, pouvant servir de modèles pour l'étude et la thérapie des maladies monogéniques.

Des premiers résultats ont été annoncés dès juin 2006 : des chercheurs d'I-Stem ont démontré que des cellules souches embryonnaires pouvaient se différencier en cellules cardiaques et régénérer le cœur déficient de rats. Un immense espoir pour le traitement des défaillances cardiaques, qu'elles soient dues à une cause fréquente comme l'infarctus ou à une maladie.

Grâce aux dons du Téléthon, l'AFM a financé le laboratoire I-Stem entre 2004 et 2006 à hauteur de 3,4 millions d'euros. En 2007, l'AFM devrait apporter un financement de 3,4 millions d'euros.

- 70 chercheurs (85 début 2008)
- Budget annuel (2007) : 6,8M€
- 1800 m² de laboratoires
- 5 pôles de recherche avec, pour chaque domaine, une cible précise : *Biotechnologie des cellules souches embryonnaires humaines* (production de cellules en masse, ingénierie génétique et criblage à haut débit), *Cardiomyopathies* (thérapie cellulaire, modélisation pathologique), *Maladies neurodégénératives* (thérapie cellulaire, modélisation pathologique de la maladie de Huntington), *Génodermatoses* (modélisation pathologique de la maladie de Clouston), *Maladies neuromusculaires* (modélisation pathologique de la myotonie de Steinert).
- Robot de criblage à haut débit capable de gérer en même temps et sans intervention humaine la culture de cellules disposées dans 40 000 puits (afin d'étudier à grande échelle l'efficacité de molécules sur des lignées de cellules modèles portant une mutation génétique caractérisée).

- **Institut de Myologie : le muscle a son centre d'expertise**

Créé en 1996 à l'initiative de l'AFM qui le finance aujourd'hui à hauteur de 6,2M€, il est le premier centre au monde dédié à la myologie (la science du muscle) et le centre d'expertise sur le muscle le plus complet en Europe. Il combine recherche fondamentale et clinique, prise en charge médicale et enseignement de la myologie.

Aujourd'hui, l'Institut de Myologie est un centre de référence pour le diagnostic, la prise en charge et le suivi des malades neuromusculaires.

L'Institut de Myologie est aussi un acteur de premier plan de la recherche clinique et fondamentale. 23 essais ou études cliniques y sont menés et, depuis 2006, le directeur médical et scientifique est Thomas Voit, neuropédiatre allemand spécialiste des maladies du muscle. L'Institut accueille également une nouvelle unité qui regroupe des chercheurs travaillant sur les cellules souches musculaires dirigée par David Sassoon, directeur de recherche à l'Inserm, chercheur américain spécialiste des cellules musculaires. Elle rassemble des compétences de pointe : Gillian Butler Browne, Vincent Mouly, Edgar Gomez, Frédéric Relaix...

- 150 chercheurs et personnel associé
- Budget annuel supérieur à 6M€
- 3000 m² de laboratoires
- 23 essais ou études menés en 2006-2007
- Près de 300 publications et communications scientifiques internationales par an
- Unité mixte de recherche Inserm/Paris VI dédiée aux cellules souches musculaires dirigée par David Sassoon, chercheur américain expert
- Plate-forme d'imagerie tournée vers les traitements : un second imageur spectromètre de nouvelle génération (3T « corps entier ») acquis en 2006 pour évaluer les résultats des essais cliniques

Des maladies modèles bénéficiant aux maladies fréquentes

Les thérapies nouvelles développées par l'AFM grâce aux dons du Téléthon sont aujourd'hui testées sur des maladies dites « modèles », pour la plupart rares. Premières candidates naturelles aux traitements, elles permettent de faire rapidement et efficacement la preuve de concept d'une thérapie. Une fois cette étape passée, la piste thérapeutique testée peut s'appliquer à d'autres maladies, rares ou fréquentes, relevant d'une même logique physiologique.

Ainsi, certaines des pistes thérapeutiques développées pourront être appliquées à des maladies non génétiques concernant l'ensemble de la population. Quelques exemples frappants :

- la greffe de cellules souches initialement déployée pour traiter le **cœur des malades neuromusculaires** est testée pour traiter **l'infarctus du myocarde**, problème de santé fréquent.

- le traitement pharmacologique de la **progeria** (maladie rare caractérisée par un vieillissement accéléré), qui touche moins de 10 enfants en Europe, pourrait avoir des retombées sur les problèmes liés au **vieillissement normal** touchant l'ensemble de la population mondiale.

- la thérapie génique de l'**amaurose congénitale de Leber**, une rétinite pigmentaire héréditaire rare, pourrait permettre de soigner la **dégénérescence maculaire liée à l'âge** (DMLA), qui concerne 20% de la population vieillissante.

- la mise au point de la thérapie génique des **maladies du système nerveux central** peut bénéficier à des maladies fréquentes telles que la **maladie de Parkinson** ou la **maladie d'Alzheimer** touchant plusieurs millions de personnes dans le monde.

La thérapie génique au secours de la vision

De l'amaurose congénitale de Leber à la rétinite pigmentaire

En 2006, une équipe de chercheurs français de Nantes a réussi à rendre la vue à des chiens touchés par une maladie génétique de la rétine, l'amaurose congénitale de Leber. L'équipe coordonnée par Fabienne Rolling (unité Inserm 649) a utilisé une technique de thérapie génique innovante : elle a recouru à une catégorie de vecteurs de type AAV (*adeno-associated virus*) qui ciblent précisément les cellules de la rétine à l'origine du dysfonctionnement visuel et limitent les risques de complications.

L'amaurose congénitale de Leber est une forme particulière de rétinite pigmentaire entraînant précocement une quasi-cécité chez l'enfant. D'un point de vue physiologique, la maladie s'explique par une mauvaise communication entre les cellules réceptrices de la lumière (les photorécepteurs) et l'épithélium pigmentaire rétinien. Plusieurs mutations touchant des gènes différents peuvent être responsables de l'amaurose congénitale de Leber. A ce jour, les chercheurs ont identifié huit gènes. Parmi eux, le gène *rpe65* qui code pour une protéine spécifiquement exprimée dans l'épithélium rétinien, dont la mutation concerne 100 à 200 personnes en France.

Si la piste de la thérapie génique était déjà explorée chez des chiens atteints par cette maladie, le vecteur utilisé auparavant ciblait non seulement l'épithélium rétinien mais aussi les photorécepteurs. Grâce au vecteur utilisé à Nantes, l'expression du gène a pu être dirigée uniquement dans l'épithélium rétinien, siège du dysfonctionnement, tout en épargnant les photorécepteurs.

Un essai sur l'Homme est aujourd'hui en préparation. Le vecteur AAV-4 contenant le gène humain *rpe65* a reçu de la part de la Commission Européenne la désignation de « médicament orphelin » pour l'amaurose congénitale de Leber. La même désignation est attendue pour la forme adulte de cette rétinite pigmentaire. L'essai clinique devrait démarrer courant 2008.

Une stratégie nécessairement européenne et internationale

Environ 25% des programmes financés par l'AFM sont menés par ou avec des partenaires étrangers. Parmi les plus importants, on retrouve l'essai clinique mené par la société Prosensa, en collaboration avec le Centre Médical de l'Université de Leiden, aux Pays-Bas, pour des jeunes malades atteints de myopathie de Duchenne (saut d'exon). Par ailleurs, l'AFM soutient également, depuis longtemps et de façon importante, le Pr Gideon Dreyfuss de l'université de Pennsylvanie (Etats-Unis) qui travaille sur les mécanismes physiopathologiques de l'amyotrophie spinale (une maladie neuromusculaire). Ce chercheur évalue actuellement à grande échelle, sur des cellules de patients, plus d'un million de molécules issues de la chimiothèque du laboratoire pharmaceutique Merck.

Parce que les maladies neuromusculaires sont des maladies rares, pour pallier la rareté des malades candidats aux essais cliniques, l'AFM a développé une stratégie de réseaux européens et/ou internationaux.

Parmi eux, le réseau européen TREAT-NMD, créé début 2007 sous l'impulsion de l'AFM et d'Eurordis. TREAT-NMD réunit 2 000 médecins et scientifiques de 11 pays européens et il est coordonné par les chercheurs de l'université de Newcastle (Kate Bushby et Volker Straub). Financé notamment par la communauté européenne, il a pour objectif d'accélérer la mise au point de traitements pour les maladies neuromusculaires.

A l'échelle internationale, une « Alliance Internationale pour une Recherche Coordinée sur la Myopathie de Duchenne » (DRCI) a été signée début 2007 par les principales associations

internationales de malades luttant contre la myopathie de Duchenne : l'Association Française contre les Myopathies (France), The Muscular Dystrophy Association (Etats-Unis), The Parent Project Muscular Dystrophy (Etats-Unis) et United Parent Project Muscular Dystrophy (Pays-Bas). Ce partenariat entre associations de malades, unique en son genre, a pour objectif de développer des stratégies communes, favoriser le partage des connaissances scientifiques et médicales et de stimuler la recherche et le développement. Il témoigne de la volonté d'une position commune face aux institutions, aux industriels et aux organismes de recherche pour parvenir plus vite aux traitements. Les partenaires, en particulier l'AFM et la MDA, souhaitent également étendre ce partenariat aux autres maladies neuromusculaires. Cette alliance pourrait servir de modèle à la mise en place de partenariats similaires pour d'autres maladies génétiques rares.

ZOOM SUR...

**Adrénoleucodystrophie liée à l'X
Greffe de cellules souches hématopoïétiques génétiquement corrigées
avec un vecteur lentiviral**

Nathalie Cartier-Lacave
Hôpital Saint-Vincent-de-Paul (AP-HP)
Inserm U745

Essai de phase I/II - Promoteur : Inserm

Un essai de thérapie génique par transfert de gène coordonné par Patrick Aubourg et Nathalie Cartier-Lacave (unité Inserm U745, hôpital Saint-Vincent-de-Paul, AP-HP), a débuté en septembre 2006 pour l'adrénoleucodystrophie liée à l'X, une maladie génétique neurodégénérative qui touche la myéline du cerveau des enfants. Les cellules souches hématopoïétiques, présentes dans la moelle osseuse, ont été prélevées chez deux enfants puis mises in vitro en présence d'un vecteur lentiviral dérivé du virus HIV et porteur du gène thérapeutique. Avec un recul de six mois et un an, les résultats sont prometteurs : le vecteur lentiviral a permis de faire exprimer le gène thérapeutique dans un grand pourcentage de toutes les cellules sanguines dérivées des cellules de moelle osseuse. Trois autres enfants doivent être traités d'ici 2009.

L'adrénoleucodystrophie liée à l'X est une maladie génétique neurodégénérative appartenant à la famille des leucodystrophies, dont elle est la forme la plus courante. Elle affecte le système nerveux central en détruisant la myéline (l'enveloppe des nerfs) au niveau du cerveau et de la moelle épinière. Liée à la mutation du gène *ALD* (ou *ABCD1*) situé sur le chromosome X, identifié en 1993 par Jean-Louis Mandel et Patrick Aubourg avec le soutien de l'AFM grâce aux dons du Téléthon, cette maladie est très lourdement invalidante chez les enfants comme chez les adultes.

La greffe de moelle osseuse, aujourd'hui unique solution thérapeutique pour les malades, se heurte souvent à un problème de rareté et d'incompatibilité de donneur, mais également de complications graves et parfois mortelles. C'est pourquoi les médecins explorent depuis plusieurs années la piste de la thérapie génique pour apporter une version normale du gène au cœur des cellules.

La thérapie génique est particulièrement intéressante dans le cadre des maladies affectant les cellules sanguines ou dérivées de la moelle osseuse : certains cancers (leucémies), la thalassémie, certaines maladies héréditaires du système immunitaire (les déficits en ADA, le déficit SCID lié à l'X) et certaines maladies neurodégénératives héréditaires telles que maladie de Hurler ou, comme ici, l'adrénoleucodystrophie liée à l'X. Pour ces maladies, l'expression du gène thérapeutique et donc de la protéine corrigée doit être obtenue de façon pérenne, pendant toute la vie du malade. Il est donc nécessaire de corriger les cellules souches hématopoïétiques, présentes dans la moelle osseuse, puisque ce sont elles qui donneront continuellement naissance aux différentes cellules sanguines (lymphocytes, globules rouges, granulocytes et macrophages dans le cerveau ou les autres tissus).

L'équipe de Patrick Aubourg et Nathalie Cartier-Lacave a bénéficié des avancées, en matière de transfert de gène thérapeutique dans des cellules de moelle osseuse avec des vecteurs viraux, de l'équipe de Marina Cavazzana-Calvo et Alain Fischer de l'hôpital Necker-Enfants malades (AP-HP, Inserm) à Paris sur les bébés-bulles (atteints d'une immunodéficience liée à

l'X). C'est d'ailleurs en collaboration avec eux que les médecins ont prélevé chez deux enfants des cellules appelées « CD34+ », une sous-population de cellules de moelle osseuse contenant des cellules souches hématopoïétiques.

Ces cellules ont été corrigées génétiquement *ex vivo* en utilisant un vecteur lentiviral dérivé du virus HIV-1 (virus du Sida) produit par une société californienne, Cell Genesys. C'est la première fois qu'un vecteur dérivé du virus HIV est testé sur l'Homme pour introduire un gène thérapeutique dans des cellules souches hématopoïétiques. D'après les études, ce type de vecteur semble particulièrement intéressant dans le cadre de ces maladies car il peut faire pénétrer dans le noyau de cellules qui ne se divisent pas ou très peu du matériel ADN et donc un gène thérapeutique. Et ce, en permettant d'intégrer ce nouveau matériel génétique dans les chromosomes des cellules afin d'obtenir une expression stable et définitive du gène thérapeutique.

Afin d'assurer une parfaite sécurité des cellules utilisés, celles-ci ont été contrôlés par une jeune biotech française spécialisée, Genosafe (créée par Généthon et l'AFM), à partir de tests développés par la société californienne, Cell Genesys et de tests développés au Généthon.

Avec un recul d'un an pour le premier malade traité, aucune complication n'a été constatée à ce jour. La reconstitution immunitaire est presque totale chez les deux patients et tous les tests évaluant la non-toxicité de la procédure (contrôlant notamment la non-toxicité du vecteur utilisé) s'avèrent jusqu'à présent négatifs. Les tests biologiques montrent quant à eux une expression stable et importante du gène thérapeutique à travers la production de la protéine déficiente et à un taux identique et important dans toutes les cellules sanguines dérivées de la moelle osseuse (lymphocytes, granulocytes, monocytes).

Un recul de 18 à 24 mois sera néanmoins nécessaire après le traitement pour déterminer si la thérapie génique a été suffisante pour stopper la maladie chez les enfants traités.

Si ces premiers résultats semblent prometteurs, des points restent encore à vérifier sur le long terme :

- la non toxicité du vecteur dérivé du virus HIV-1 et le risque de mutagenèse insertionnelle (comme avec les bébés-bulles en 2002 en France avec un vecteur rétroviral)
- la stabilité réelle à long terme (supérieure à 2 ans) du gène thérapeutique
- le pourcentage assez élevé de cellules corrigées par thérapie génique pour stopper la maladie chez les patients

Ces résultats devraient être publiés au printemps 2008, avec un recul d'un an pour les deux patients traités à ce jour.

Grâce aux dons du Téléthon, l'AFM soutient depuis 1988 les recherches concernant l'adrénoleucodystrophie menées par Patrick Aubourg à l'hôpital Saint-Vincent-de-Paul (INSERM) et Jean-Louis Mandel à Strasbourg (IGBMC). Au total, c'est plus de 1,6 millions d'euros qui ont été apportées au total pour permettre l'identification du gène responsable de la maladie (1993), la mise au point d'un modèle murin de la maladie (1997) et la mise au point de nouvelles thérapies, avec la thérapie génique et l'essai clinique démarré fin 2006. L'AFM devrait poursuivre son soutien à cet essai pour l'inclusion de 3 nouveaux patients.

Pour ces travaux, Nathalie Cartier-Lacave a reçu en octobre dernier **le Prix Biothérapie ThermoFisher Scientific**, créé en 1998 à l'initiative du leader mondial des équipements de laboratoire avec le soutien actif de l'Inserm et de la Société française de thérapie cellulaire et génique. Ce prix a pour vocation de récompenser un chercheur ou une équipe de recherche française proposant un projet innovant en thérapie génique, thérapie cellulaire ou immunothérapie. L'excellente réputation des membres du jury assure aujourd'hui une légitimité importante de ce Prix dans le monde scientifique.

**Gamma-sarcoglycanopathie
4 patients traités sur 9**

Serge Herson
Service de médecine interne,
Centre intégré de thérapie génique de la Salpêtrière
Hôpital Pitié-Salpêtrière (AP-HP)

Essai de phase I – Promoteur : Généthon

Généthon, le laboratoire de biothérapies français financé par les dons du Téléthon, a démarré fin 2006 un premier essai de thérapie génique chez l'homme pour une maladie neuromusculaire, la gamma-sarcoglycanopathie. Cet essai se déroule à l'hôpital de la Pitié-Salpêtrière à Paris (AP-HP), sous la responsabilité de Serge Herson, investigateur principal, et en collaboration avec l'Institut de Myologie. Il s'agit de tester l'injection d'un vecteur AAV porteur du gène de la gamma-sarcoglycane, produit par l'Etablissement de Thérapie Génique et Cellulaire de Généthon, pour en vérifier l'innocuité et la bonne tolérance chez les patients volontaires, sans pouvoir à ce niveau de développement présager d'un bénéfice thérapeutique. Quatre patients ont déjà été inclus sur les 9 prévus dans le protocole scientifique.

La gamma-sarcoglycanopathie fait partie de la famille des myopathies des ceintures et, parmi elles, celles liées à un déficit en sarcoglycane, les sarcoglycanopathies (LGMD 2C, LGMD 2D, LGMD 2E, LGMD 2F). D'origine génétique, elles se transmettent sur le mode autosomique récessif. On les retrouve dans plusieurs populations de par le monde, à des fréquences plus ou moins grandes. La gamma-sarcoglycanopathie (LGMD 2C) est particulièrement répandue dans le bassin méditerranéen et chez les populations tziganes résidant en Europe. Cette myopathie se traduit par un déficit moteur progressif des muscles des ceintures pelviennes et scapulaires. Dans les formes les plus graves, les premiers signes apparaissent dès l'âge de 3 ou 5 ans. Dans les formes les plus modérées, ils surviennent autour de 10 ans.

L'essai de thérapie génique débuté fin 2006 consiste à insérer dans un vecteur AAV1 (*adeno associated virus*) le gène fonctionnel codant la gamma-sarcoglycane et à délivrer ce gène thérapeutique aux cellules musculaires. Un tel traitement devrait permettre de rétablir durablement la fonction perdue suite à l'altération génétique : les chercheurs utilisent le muscle comme une « usine de production » qui va produire par elle-même « une protéine médicament ».

En pratique, les 9 malades retenus pour l'essai sont âgés de plus de 15 ans et porteurs de la mutation du gène *de/525T*. Trois doses croissantes de traitement sont testées, les patients étant répartis en trois groupes de trois patients chacun. Afin de garantir un maximum de sécurité, l'inclusion des malades est séquentielle : un délai est respecté entre deux patients d'une même cohorte, c'est-à-dire recevant la même dose, mais aussi entre deux cohortes avant de changer de dose. Un mois après l'injection, une biopsie de la zone traitée est réalisée pour être analysée. Les patients sont suivis régulièrement pendant six mois, notamment pour identifier d'éventuels effets secondaires et pour étudier les réactions immunitaires susceptibles d'être déclenchées par le produit injecté, c'est-à-dire le vecteur associé au gène-médicament. Les chercheurs recherchent aussi la présence ou non de la protéine exprimée par le gène thérapeutique, la gamma-sarcoglycane, et sa répartition dans la zone traitée, le tout en fonction des doses injectées.

Quatre patients, âgés de 17 à 28 ans, ont été traités à ce jour. Ils ont reçu le traitement par injections intramusculaires dans le muscle radial de l'avant-bras, le muscle responsable de l'extension du poignet.

L'Institut de Myologie, autre bras armé de l'AFM (créé en 1996 et financé grâce aux dons du Téléthon), joue un rôle essentiel dans cet essai. Apportant son expertise sur cette maladie neuromusculaire, il assure avec ses cliniciens le recrutement et la sélection des patients. C'est aussi à l'Institut de Myologie qu'ont lieu les examens d'imagerie par résonance magnétique (IRM) et les évaluations très spécifiques de la force musculaire. Les prélèvements musculaires, injections du produit de thérapie génique, surveillance des patients sont réalisés dans les locaux sécurisés et habilités du Centre Intégré de Thérapie Génique et Cellulaire, au sein du service de médecine interne de l'hôpital de la Pitié-Salpêtrière.

Avec le démarrage de cet essai, Généthon entre de plain-pied dans les essais cliniques. En plus de cet essai, le laboratoire prépare 3 autres essais sur l'homme concernant 2 autres maladies neuromusculaires (myopathie de Duchenne et calpaïnopathie) et un déficit immunitaire (syndrome de Wiskott-Aldrich). Les quatre essais en cours ou en préparation de Généthon explorent trois stratégies thérapeutiques différentes (remplacement du gène déficient, exon skipping, thérapie génique ex vivo) et utilisent deux types de vecteurs (AAV et lentivirus). Tous ont déjà obtenu de la Commission européenne la désignation de « médicament orphelin ».

Fer de lance de la stratégie de l'AFM, créé en 1990, Généthon s'est adapté à chaque nouvelle étape du chemin du médicament. Après la cartographie du génome humain, l'identification des gènes responsables de maladies génétiques puis le développement des vecteurs nécessaires à la thérapie génique, Généthon est devenu, en 2005, le premier laboratoire non pharmaceutique à recevoir l'autorisation de produire des lots de vecteurs ou de cellules pour les essais sur l'homme. En moins de 15 ans et grâce aux dons du Téléthon, Généthon est donc passé avec succès de la recherche fondamentale aux essais chez l'homme pour des maladies rares, longtemps restées inaccessibles à la médecine et à la science.

Infarctus du myocarde Les promesses des cellules souches embryonnaires

Michel Pucéat
I-Stem (Evry)
Inserm/UEVE/AFM U861

Philippe Ménasché
Hôpital européen Georges Pompidou (AP-HP)
Inserm U633

Les cellules souches constituent un espoir thérapeutique pour de nombreuses pathologies, et notamment pour les cas de déficience cardiaque, afin de régénérer les tissus endommagés du cœur. L'équipe AVENIR de l'Inserm dirigée par Michel Pucéat, au sein du laboratoire I-stem (unité Inserm/UEVE/AFM 861, à Evry), est une des premières équipes françaises à avoir été autorisée à travailler sur les cellules souches embryonnaires humaines dans l'hexagone. En collaboration avec Philippe Menasché, chirurgien cardiaque à l'hôpital Européen Georges Pompidou (AP-HP, Université Paris 5) et directeur de l'Unité Inserm 633 « Thérapie cellulaire en pathologie cardiovasculaire », l'équipe de Michel Pucéat a montré que des cellules souches embryonnaires humaines peuvent se différencier en cellules cardiaques au sein de cœurs défaillants de rats.

Les cellules souches sont à l'origine de tous les tissus biologiques, elles jouent un rôle très important dans le développement et la régénération de l'organisme. Ces cellules indifférenciées sont en effet capables de se différencier en un type de cellule donné et donc de restaurer des organes. Elles font l'objet de beaucoup de recherches actuellement. Les chercheurs espèrent ainsi pouvoir exploiter cette capacité pour développer des thérapies cellulaires afin de régénérer des tissus endommagés, voire de créer de toute pièce des organes.

Les cellules souches sont présentes chez l'embryon, mais aussi chez l'adulte. Néanmoins, elles sont beaucoup plus rares dans l'organisme adulte et moins pluripotentes : les cellules souches adultes ne peuvent pas, en général, donner un autre type de tissus que le leur.

Les travaux coordonnés par Michel Pucéat sont les premiers en France portant sur des cellules souches embryonnaires humaines, l'équipe ayant été une des premières en France à avoir été autorisée à travailler sur ce type de cellules.

Les chercheurs se sont intéressés aux cellules souches embryonnaires pour régénérer le tissu endommagé du cœur dans les cas de défaillance de sa contractilité. Cette pathologie, dont l'origine est multifactorielle (infarctus, cardiopathies ou dystrophies musculaires d'origine génétique...) est une des principales causes de mortalité dans la plupart des pays développés, y compris la France. Dans un cœur défaillant, une partie du muscle cardiaque (myocarde) est endommagée, le tissu sain est remplacé par du tissu fibrotique et non contractile. Le myocarde perd donc de son élasticité, il ne se contracte plus correctement et ne peut plus remplir pleinement sa fonction. Pour les patients souffrant de défaillance cardiaque, la pharmacologie reste plutôt limitée.

Etant donné la faiblesse des capacités de régénération du cœur et le manque de donneurs pour les transplantations cardiaques, l'utilisation des cellules souches embryonnaires se présente comme un excellent moyen de restaurer un myocarde malade.

De nombreuses expérimentations ont été ou sont réalisées avec des cellules souches adultes (myoblastes, cellules souches hématopoïétiques ou mésenchymateuses), mais la preuve de

leur différenciation en cellules cardiaques (cardiomyocytes) n'a jusqu'ici pas été apportée. Par contre, sur les animaux, des études ont montré que les cellules souches embryonnaires animales pouvaient se différencier en cellules cardiaques et régénérer les tissus endommagés. L'équipe de Michel Pucéat a donc tenté l'expérience avec des cellules souches embryonnaires humaines.

Pour cela, elle a exposé des lignées de cellules souches embryonnaires humaines à un facteur de croissance (BMP2) leur permettant de se préparer à une éventuelle différenciation. Les cellules souches ainsi « orientées » ont ensuite été implantées au niveau des tissus cardiaques endommagés de rats immunodéprimés et victimes d'un infarctus. Au bout de deux mois, les chercheurs ont constaté que des cellules cardiaques humaines s'étaient développées dans la zone endommagée. Dans cet environnement propice, non seulement les cellules souches « orientées » se sont bien différenciées en cardiomyocytes et les tissus cardiaques ont commencé à se régénérer, mais la fonction cardiaque s'est même améliorée*. Enfin, les chercheurs n'ont détecté ni tumeurs (tératomes), ni inflammation, effets secondaires indésirables fréquents après ce genre de transplantation.

Bien que des études biologiques supplémentaires soient encore nécessaires pour améliorer le protocole d'expérimentation et sécuriser la différenciation des cellules, c'est-à-dire éviter que les cardiomyocytes ne redeviennent des cellules indifférenciées, ces résultats prometteurs ouvrent la voie à l'utilisation des cellules souches embryonnaires dans le traitement de la déficience cardiaque quelle que soit son origine.

* Résultats observés dans une étude récente non encore publiée.

Ataxie de Friedreich Essai thérapeutique basé sur la déféripone

Arnold Munnich
Hôpital Necker-Enfants malades (AP-HP)
Inserm U781

Un essai thérapeutique de phase I/II mené par l'équipe d'Arnold Munnich (unité Inserm 781, Hôpital Necker-Enfants malades, AP-HP), en collaboration avec l'Université Hébraïque de Jérusalem, a obtenu des résultats prometteurs dans le traitement des atteintes neurologiques de l'ataxie de Friedreich, une maladie neurodégénérative. Sous l'effet de la *déféripone*, une molécule qui piège le fer accumulé de façon anormale dans certaines régions du cerveau, la coordination des mouvements, la parole ainsi que certains troubles sensitifs se sont améliorés chez des malades âgés de 14 à 23 ans. Des résultats qui offrent des perspectives thérapeutiques à court terme pour cette maladie gravement invalidante.

L'ataxie de Friedreich est une maladie neurodégénérative et la plus fréquente des ataxies héréditaires : elle touche 1 personne sur 50 000 en Europe. Un Européen sur 120 serait porteur de l'anomalie génétique à l'origine de cette affection transmise sur le mode récessif. Cette anomalie a été identifiée en 1996, avec le soutien de l'AFM grâce aux dons du Téléthon et grâce aux cartes du génome humain produit par Généthon. Il s'agit d'une expansion importante du triplet GAA (100 à 2 000 répétitions) dans un gène situé sur le chromosome 9 codant pour une protéine appelée « frataxine ». Due à l'atteinte de certaines cellules du système nerveux, elle se traduit avant tout par des troubles de l'équilibre et de la coordination des mouvements volontaires (ataxie). Une atteinte cardiaque (cardiomyopathie), des troubles ostéo-articulaires (scoliose, pieds creux) et un diabète sont parfois associés.

En 1997 et toujours avec le soutien de l'AFM grâce aux dons du Téléthon, l'équipe d'Arnold Munnich a mis en évidence le mécanisme de la maladie : un déficit de protéine conduisant à une accumulation anormale de fer dans les mitochondries, sièges de la respiration cellulaire et de la production d'énergie. Ce trop-plein de fer conduit à la formation de radicaux libres d'oxygène, toxiques pour la cellule. En 1999, un premier essai clinique financé et promu par l'AP-HP, grâce notamment au programme hospitalier de recherche clinique (PHRC) a été mené par cette équipe. Basé cette fois sur l'administration de l'*idébénone*¹, il avait débouché sur des premiers résultats encourageants, en réduisant la cardiomyopathie. Ce traitement n'avait cependant pas eu d'effet sur les atteintes neurologiques. Les chercheurs ont donc tenté de les réduire à l'aide d'une molécule qui élimine le surplus de fer, un chélateur de fer.

Grâce à une séquence d'imagerie par résonance magnétique (IRM) mise au point pour mesurer la quantité de fer en un point précis, les chercheurs ont pu mettre en évidence l'accumulation anormale de fer au niveau du cervelet, le centre nerveux régulateur de la fonction motrice. Forts de cette information, ils ont donc opté pour un chélateur de fer qui traverse la barrière séparant le cerveau de la circulation sanguine : la *déféripone*.

Pendant 6 mois, chaque malade a absorbé quotidiennement deux doses de *déféripone*. Au terme de l'essai, pour 8 des 9 patients, les troubles neurologiques se sont améliorés du fait de la diminution de quantité de fer dans le cervelet. Ces améliorations ont d'abord concerné des troubles sensitifs et sphinctériens, comme l'incontinence ou la constipation, puis l'exécution des mouvements et la parole, et enfin les déplacements ainsi que l'équilibre. Le reste du cerveau n'ayant pas été affecté, cela confirme l'action ciblée de la *déféripone*.

¹ Cette molécule aurait une action anti-oxydante en neutralisant les radicaux-libres libérés par les mitochondries.

Des résultats très positifs qui n'étaient pas attendus à ce stade si précoce de l'essai clinique mais qui doivent être complétés par des études à plus long terme contre placebo. Grâce à l'AP-HP, au-delà de la promotion et de l'organisation de cet essai clinique, la valorisation industrielle des résultats de cette phase I/II a d'ores et déjà été engagée.

Pour valider définitivement les résultats obtenus, un essai randomisé multicentrique en double aveugle a démarré sur le plan international, en coopération avec la firme canadienne Apo Pharma. Il concerne cette fois 40 enfants et 40 adultes.

En raison de sa capacité à rediriger le trop-plein de fer dans les zones du corps qui en manquent, la *défériprone* pourrait à l'avenir être utilisée dans le traitement d'autres pathologies plus communes, comme les anémies dues à des maladies inflammatoires chroniques ou d'autres maladies du cerveau beaucoup plus communes, mais également complexes : Alzheimer et Parkinson.

ANNEXES

