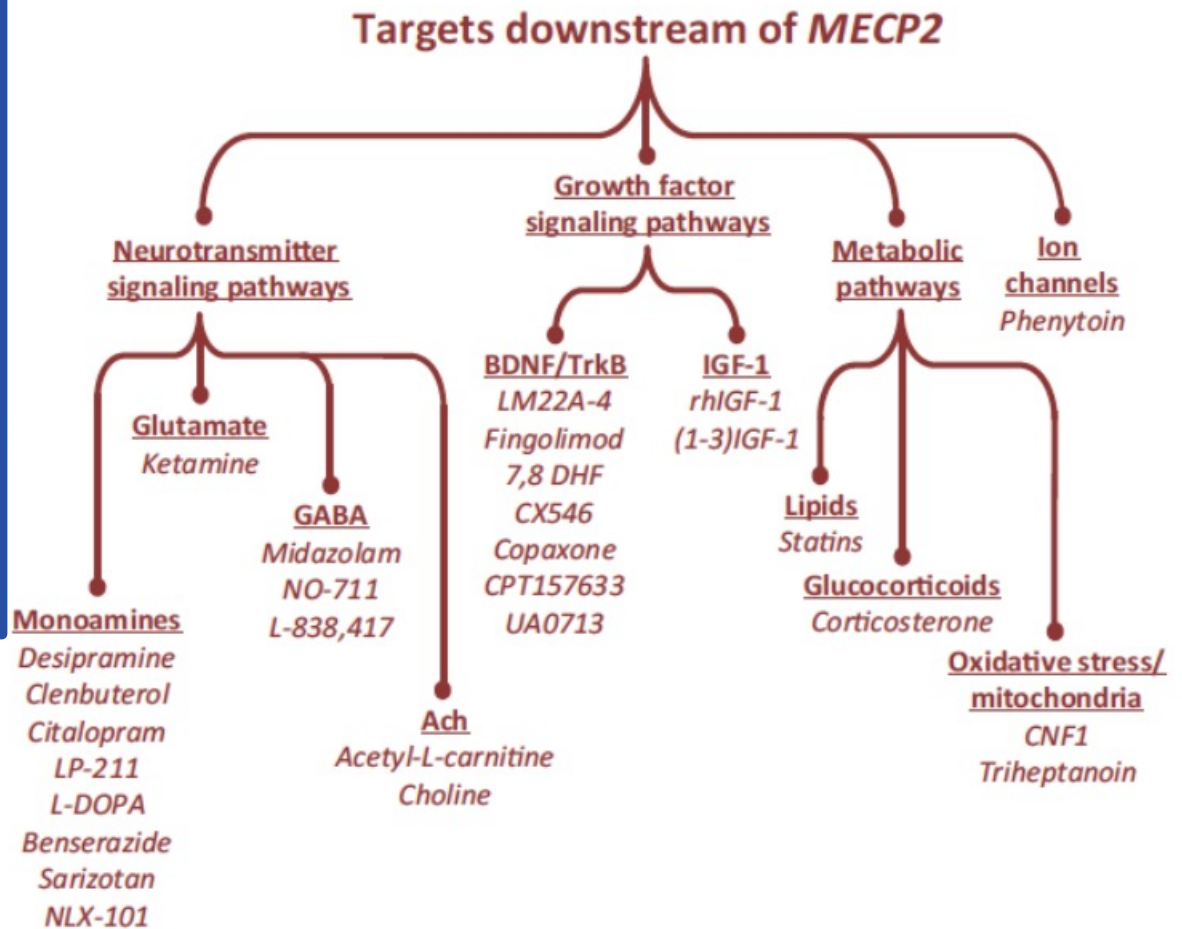
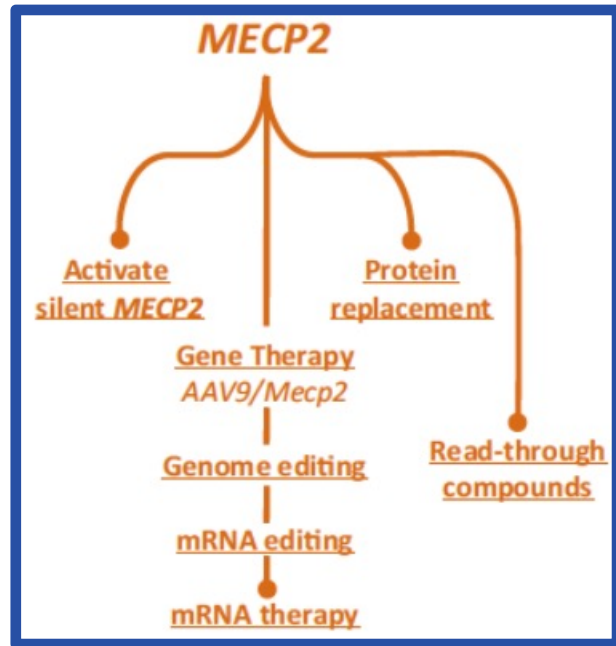
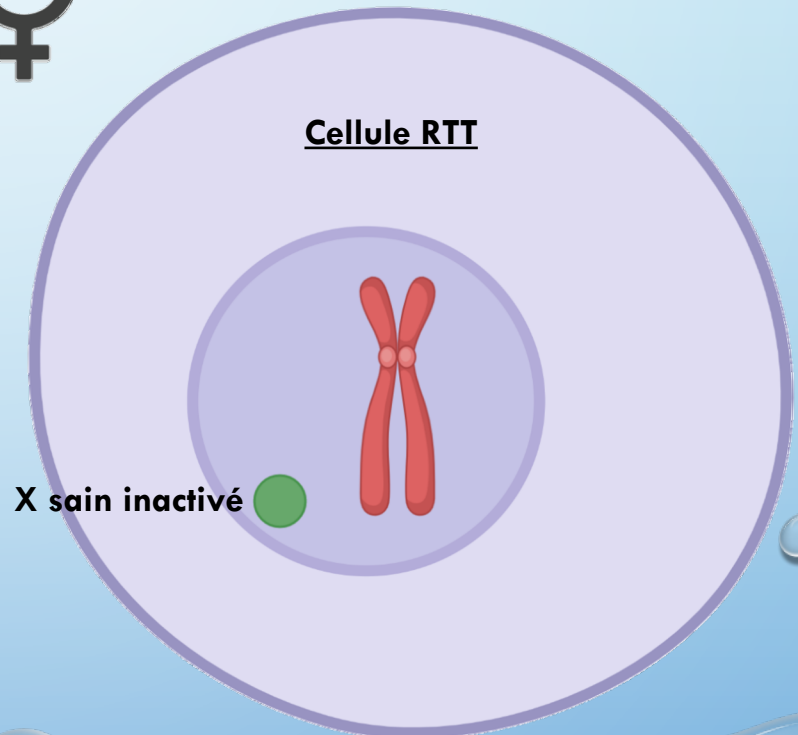
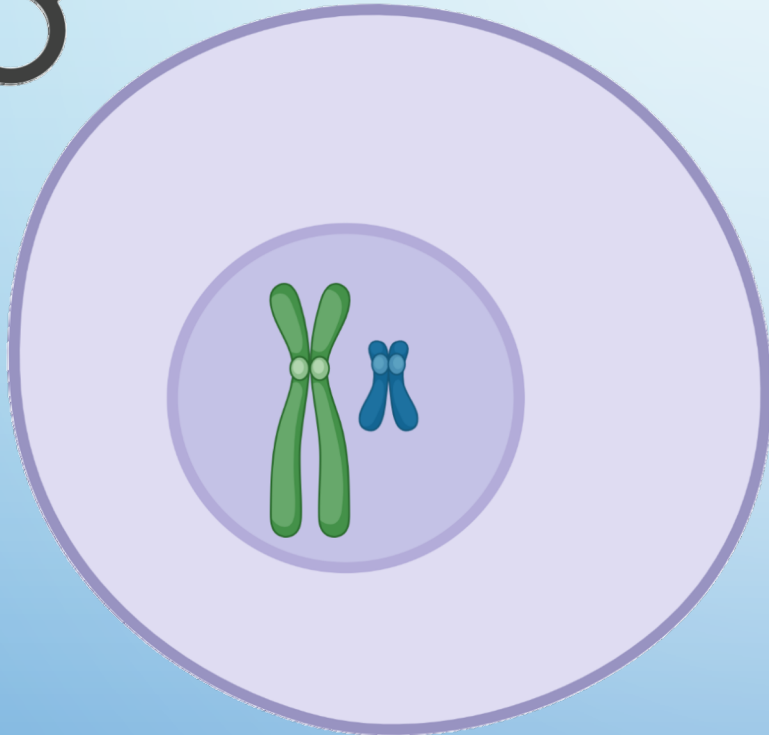


Thérapie alternatives dans le syndrome de Rett

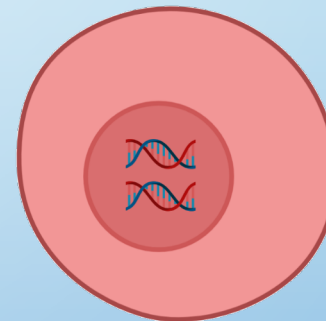
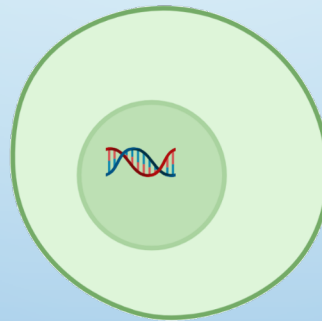
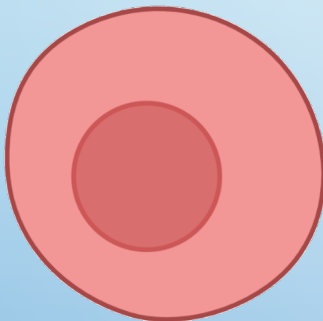
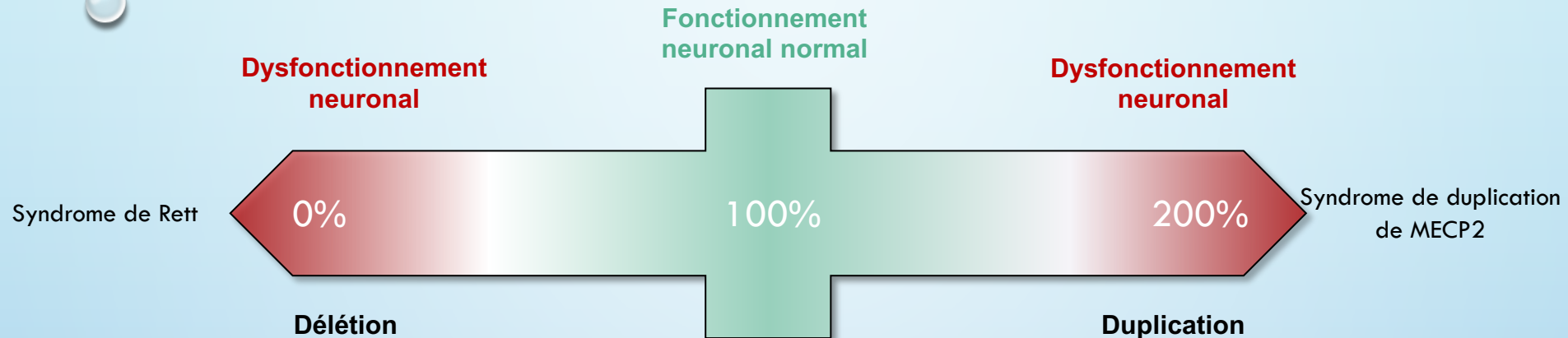


Mecp2 est localisé sur le Chromosome X

- ❖ MECP2 porté par le chromosome X
- ❖ Mutation induit la production d'une protéine défailante ou l'absence complète de Mecp2
- ❖ Phénomène d'inactivation aléatoire du chromosome X

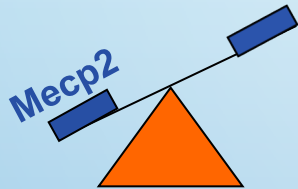


Mutations dans MECP2 causent un grand nombre de pathologies neurologiques

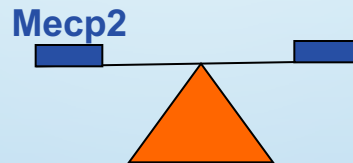


Thérapie génique dans le syndrome de RETT

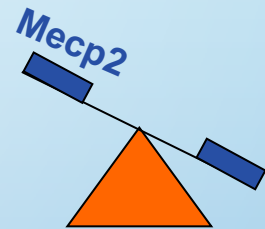
- ❖ Un dosage excessif en MECP2 est délétère pour les neurones.
- ❖ Duplications pour MECP2 causent de sévères troubles neurologiques.
- ❖ Le taux de MECP2 dans chaque cellule doit être contrôlé finement.



Troubles neurologiques
(pas assez de MECP2)



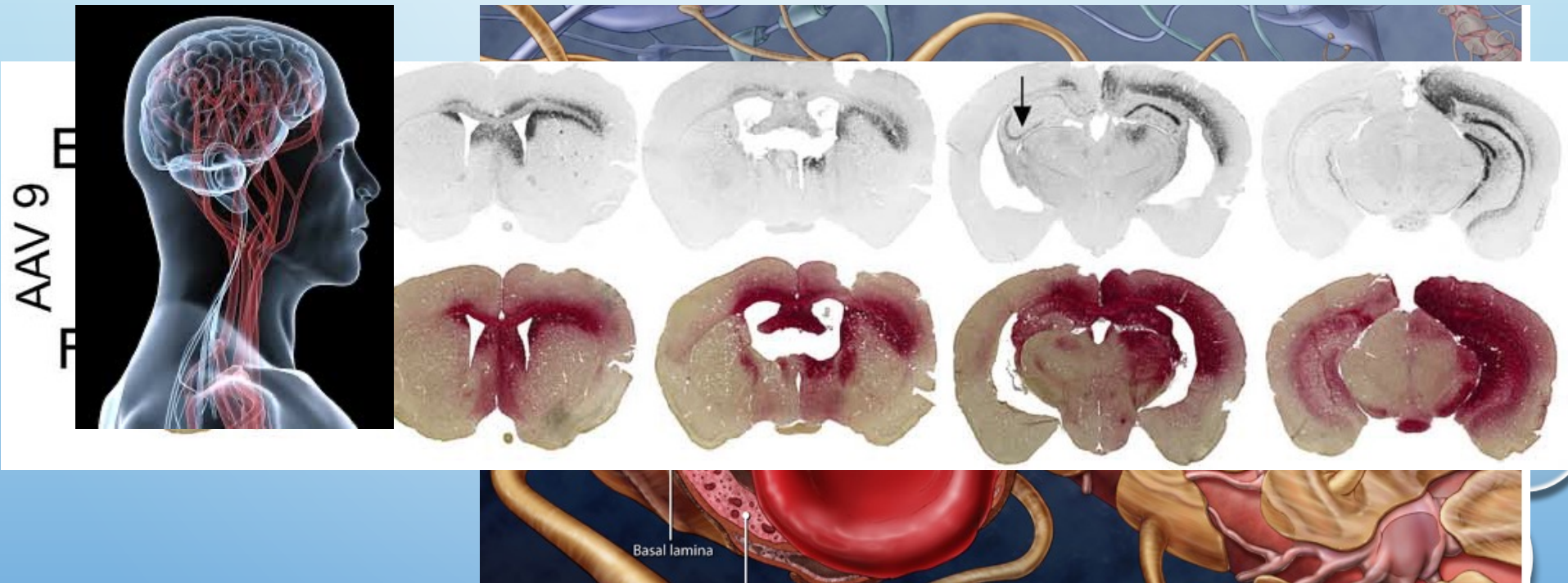
Situation normale



Troubles neurologiques
(trop de MECP2)

Les vecteurs thérapeutiques ont besoin d'infecter le cerveau.

- ❖ La pénétration est importante dans le cerveau si l'administration est faite directement au niveau du CNS.
- ❖ Doit passer la Barrière hémato-encéphalique si l'administration est intraveineuse.
- ❖ 95 % des molécules pharmacologique se heurte au passage de la barrière.



Les vecteurs thérapeutiques ont besoin d'infecter le cerveau.

❖ Problèmes spécifique pour le syndrome de Rett

- ✓ *Les femmes affectées (XX) et possèdent un chromosome X normal et un chromosome X muté.*
- ✓ *50% de leurs cellules expriment une quantité normale de la protéine MECP2.*

Les vecteurs thérapeutiques ont besoin d'infecter les bonnes cellules.

❖ Problèmes spécifique pour le syndrome de Rett

- ✓ *Les femmes affectées (XX) et possèdent un chromosome X normal et un chromosome X muté.*
- ✓ *50% de leurs cellules expriment une quantité normale de la protéine MECP2.*



Difficultés de la thérapie génique dans le syndrome de RETT

- ❖ Infection du cerveau
- ❖ Infecter les bonnes cellules
- ❖ Fournir un bon dosage



University of
Edinburgh

Sauvetage du phénotype des souris Mecp2 déficientes

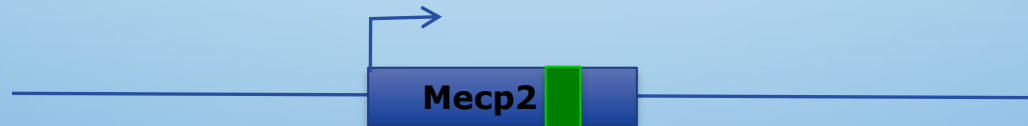
Rett Syndrome mouse model
before reversal



Rett Syndrome mouse model
after reversal



*Réactivation Mecp2
(même animal)
inductible*



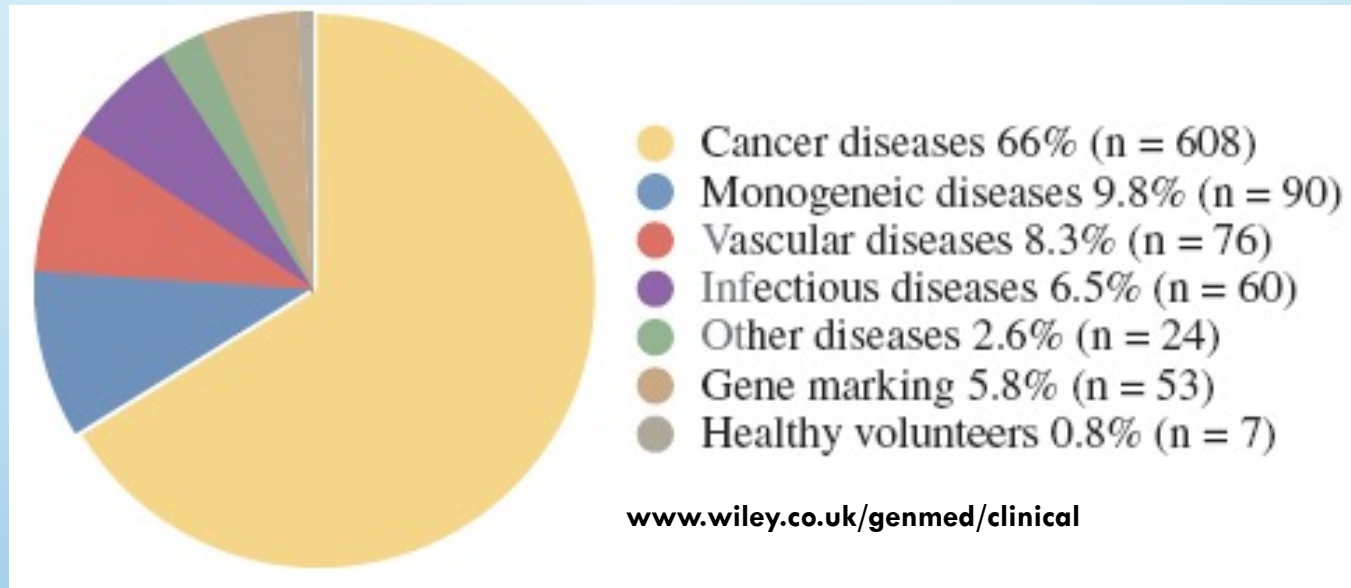
Réversible presque totale à un stade avancé

(Guy et al., Science, 2007, 315:1143-)

Thérapie génique

- ❖ Peut-être définie comme une méthode thérapeutique visant à introduire des acides nucléiques dans des cellules, dans le but d'altérer l'évolution d'une condition médicale ou d'une maladie.
- ❖ Nous ne parlerons ici que de Thérapie génique somatique, i.e. d'altérations génétiques n'affectant pas les cellules germinales et donc, non-transmissibles aux générations subséquentes.

Thérapie génique



Thérapie génique

Thérapie

Type

**Qu'est ce que
c'est?**

Fonction

**Effets secondaires
?**

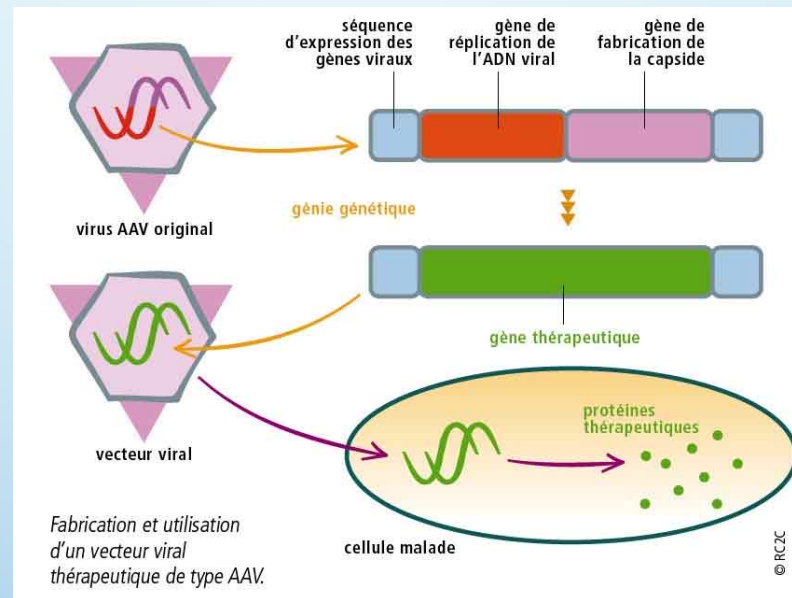
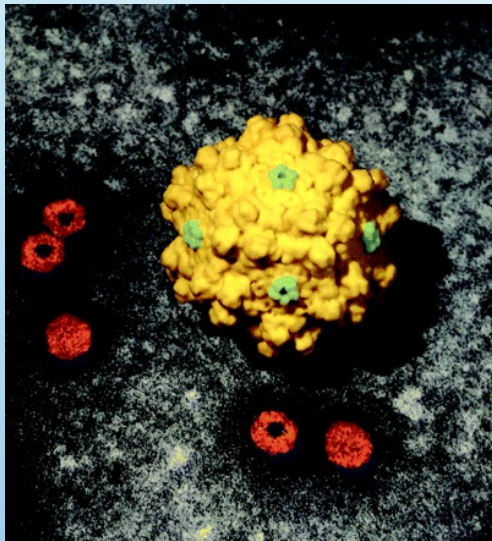
Vecteur non viral

Vecteur viral

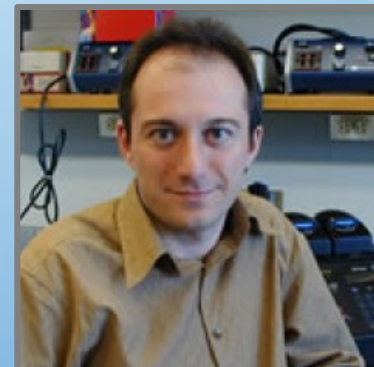
Thérapie génique dans le syndrome de RETT



JC Roux, hopital de la Timone, Marseille



Jude Samulski, Gene Therapy Center University of Florida



Brian Kaspar, Ohio State University

❖ AAV=Virus adeno-associé

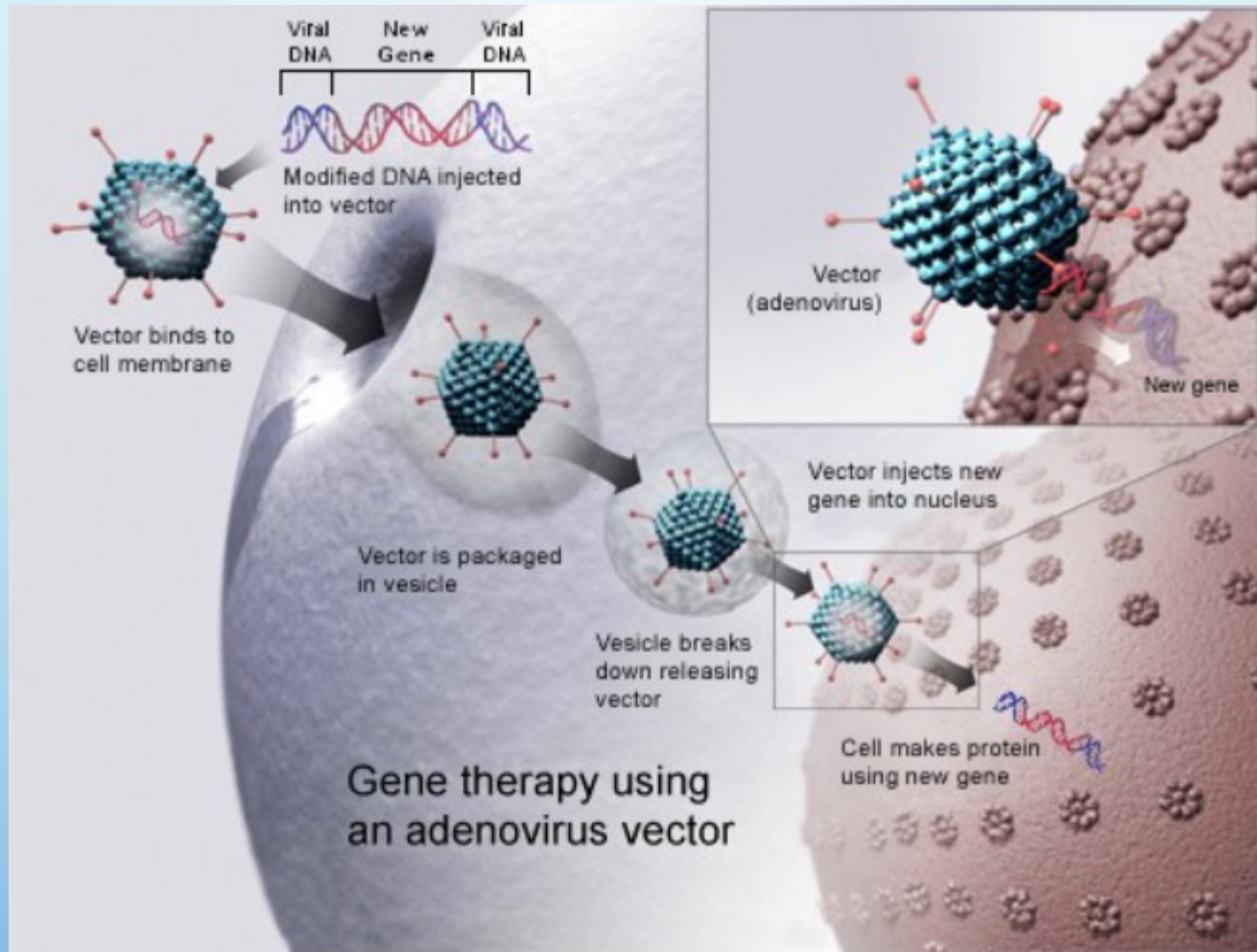
Il ne provoque pas de maladie

Il ne s'intègre pas

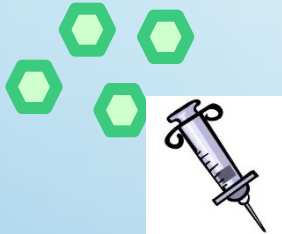
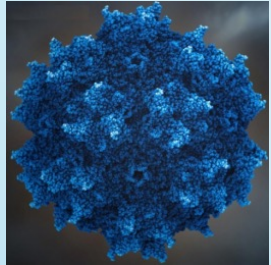
Il entraine une faible réponse immunitaire

Difficulté: la taille embarquée et toxicité hépatique

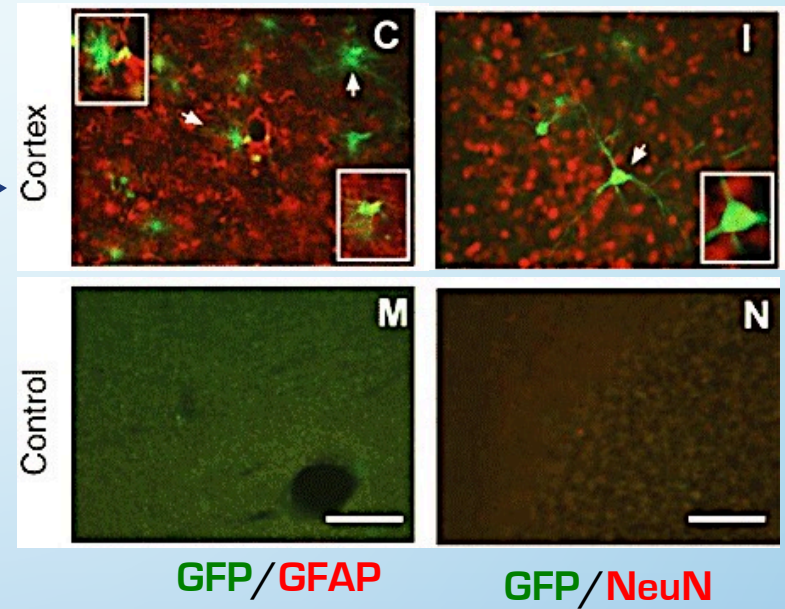
Les vecteurs thérapeutiques ont besoin d'infecter le cerveau.



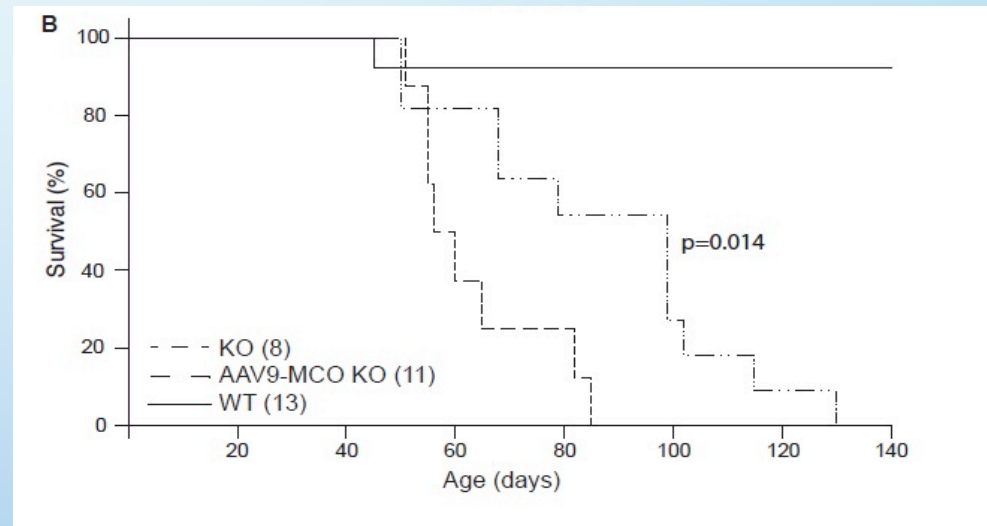
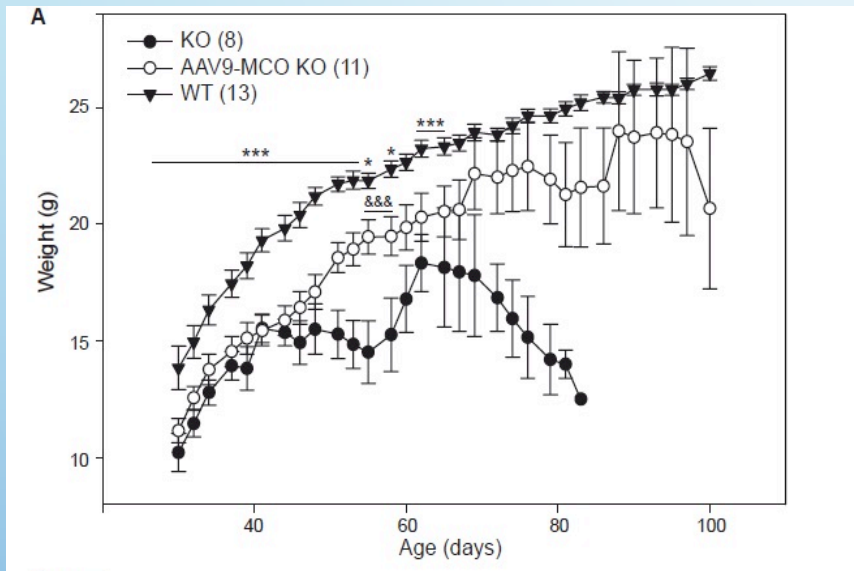
Les vecteurs thérapeutiques ont besoin d'infecter le cerveau.



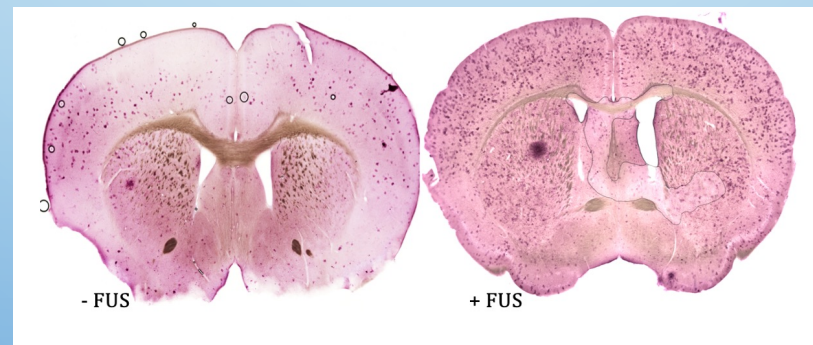
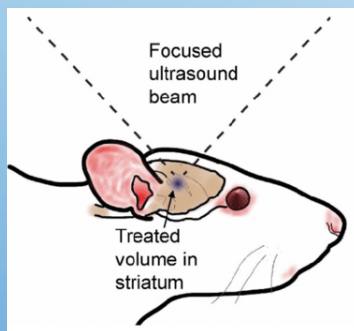
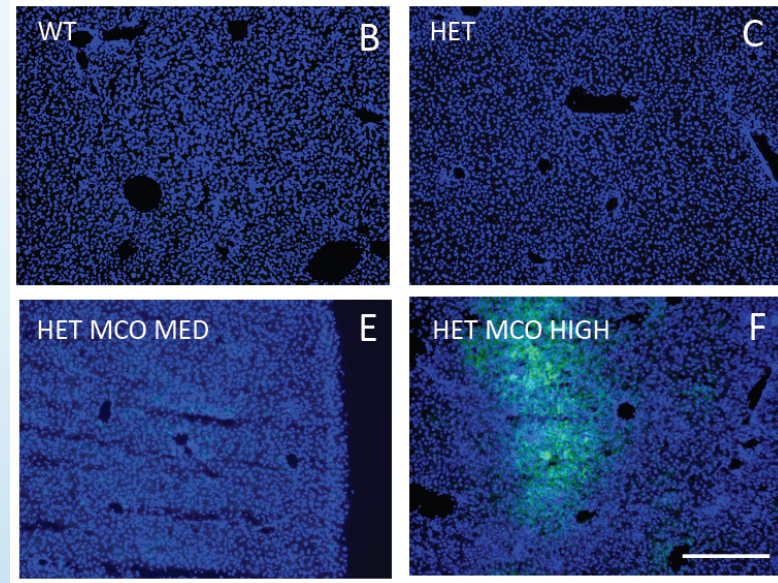
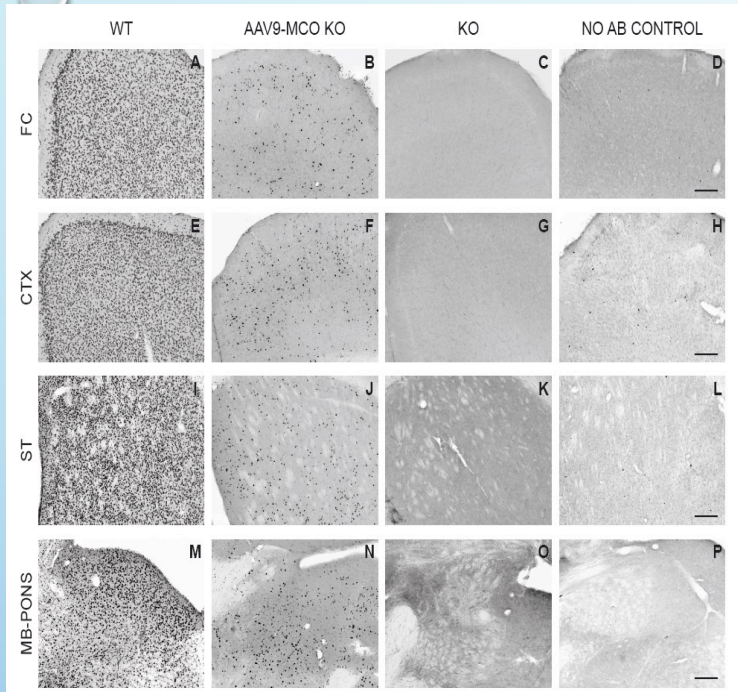
Examen post-mortem (28j post-injection)



Les vecteurs thérapeutiques ont besoin d'infecter le cerveau.

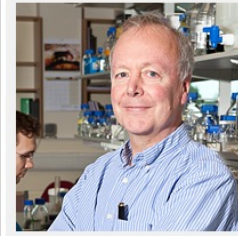


Les vecteurs thérapeutiques ont besoin d'infecter fortement le cerveau et éviter d'infecter le foie.



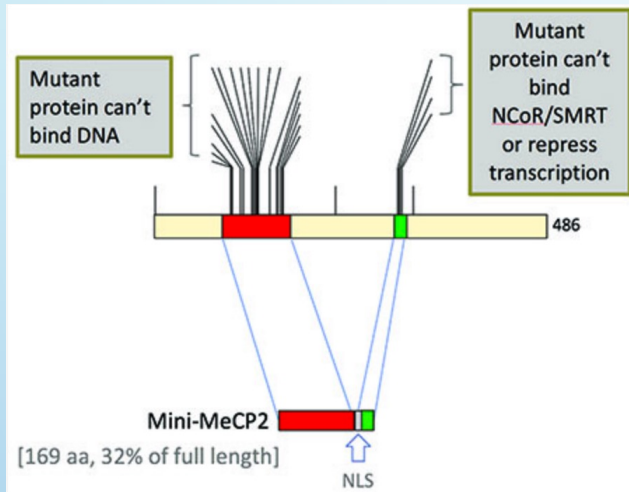
Thérapie génique dans le syndrome de RETT

- ❖ Les différentes études montrent des améliorations motrices, la respiration le maintien du poids chez les souris modèles.
- ❖ L'efficacité d'infection des virus est très bonne si on injecte dans le cerveau mais faibles au niveau de la circulation sanguine.
- ❖ En revanche le virus crée une toxicité hépatique.
- ❖ Il y a donc une nécessité à augmenter la capacité d'infection du virus et à éviter la toxicité hépatique.
- ❖ Intérêt de l'utilisation d'un vecteur plus petit



Wellcome Trust,
University of
Edinburgh

Forme tronquée de la protéine MeCP2



Nature. Author manuscript; available in PMC 2018 April 11.

Published in final edited form as:

Nature. 2017 October 19; 550(7676): 398–401. doi:10.1038/nature24058.

Radically truncated MeCP2 rescues Rett syndrome-like neurological defects

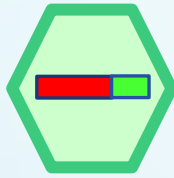
Rebekah Tillotson¹, Jim Selfridge¹, Martha V. Koerner¹, Kamal K. E. Gadalla^{2,3}, Jacky Guy¹, Dina De Sousa¹, Ralph D. Hector², Stuart R. Cobb², and Adrian Bird^{1,4}

¹The Wellcome Centre for Cell Biology, University of Edinburgh, Michael Swann Building, King's Buildings, Max Born Crescent, Edinburgh, EH9 3BF, UK

²Institute of Neuroscience and Psychology, College of Medical, Veterinary and Life Sciences, University of Glasgow, Glasgow, G12 8QQ, UK

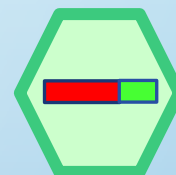
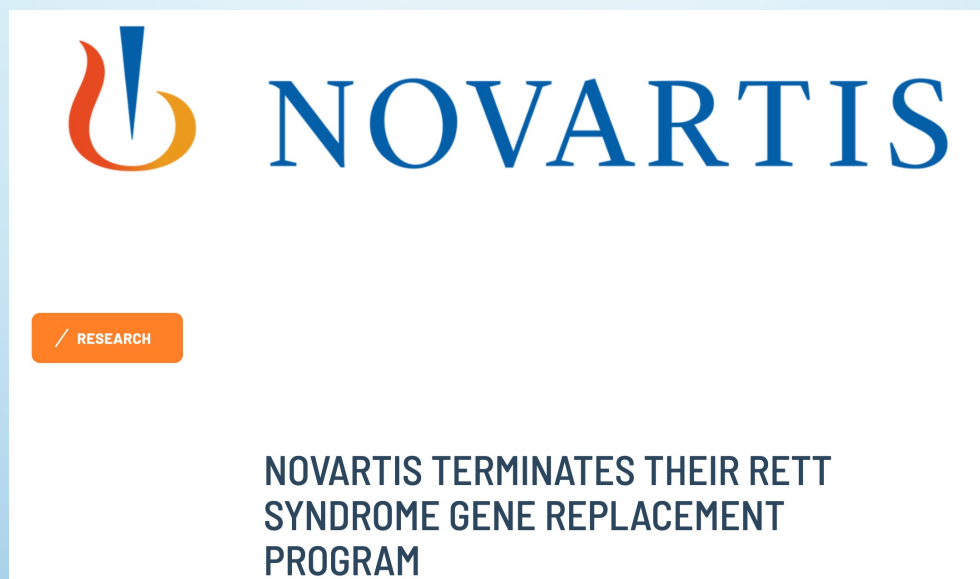
³Pharmacology Department, Faculty of Medicine, Tanta University, Tanta 31527, Egypt

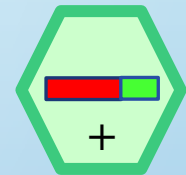
Thérapie génique dans le syndrome de Rett: Essai clinique



- ❖ AAV9
- ❖ Les études précliniques chez la souris à l'aide de l'AVXS-201 ont mené à la souris Rett la plus longue durée de vie à ce jour avec une réduction des symptômes.
- ❖ Les études sur les primates utilisant l'AVXS-201 ne montrent aucun signe d'effets indésirables ou de surexpression du MECP2.
- ❖ La production de l'AVXS-201 de qualité d'essai clinique est en cours.
- ❖ Phase 1 pour 4 patient SMA avec AVXS-101 (21 patients SMA seront rajoutés)
- ❖ Phase 3 pour la SMA
- ❖ Pour le Syndrome de Rett un essai prévu initialement en 2019...puis 2021

- ❖ Cependant, tous les tests précliniques étant désormais terminés, la société a décidé que les données ne permettaient pas de faire passer l'OAV201 en test clinique sur des participants humains. Les données spécifiques qui ont conduit à cette décision n'ont pas été divulguées.





- ❖ Projet un peu équivalent mais avec un produit différent.
- ❖ Taysha reçoit la désignation de médicament orphelin de la Commission européenne pour TSHA-102 pour le traitement du syndrome de Rett



Thérapie génique dans le syndrome de Rett: correction des anomalies ou « editing » de l'ADN (Crispr cas9)

Emmanuelle
Charpentier



Jennifer
Doudna



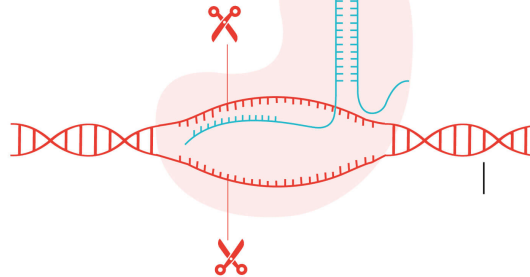
Institut Max-Planck,
Berlin, Allemagne

Université de
Californie, à
Berkeley, USA

UNE TECHNIQUE QUI DÉCOUPE L'ADN POUR MIEUX LA RÉPARER

1. Les "ciseaux" sont constitués d'un brin d'ARN (un acide nucléique à une seule branche) contenant une séquence (CRISPR) qui va venir se fixer sur l'ADN à un endroit précis

2. Une enzyme (Cas9) va ensuite découper l'ADN



3. Le système permet alors d'inactiver un gène, de le remplacer ou de modifier son expression

ADN
étranger

Réparation

Source : CNRS / Schéma adapté de Intérial Mutuelle.



- ❖ L'idée est de corriger la mutation plutôt que d'apporter une nouvelle copie fonctionnelle.
- ❖ Pour réaliser ce travail il faut utiliser des ciseaux moléculaires et un guide (copie normale).

Thérapie génique dans le syndrome de Rett: correction des anomalies ou « editing » de l'ADN

Emmanuelle
Charpentier

Jennifer
Doudna



Institut Max-Planck,
Berlin, Allemagne



+

En théorie on peut corriger des mutations ponctuelles qui représentent plus de 50% des mutations dans le syndrome de Rett. Dans des tubes cette technologie fonctionne parfaitement.

—
Sur des organismes vivant c'est plus compliqué car :

1. Crispr:Cas9 doit être embarqué dans deux vecteurs viraux

Le taux de co-infection est très faible.

2. Les effets secondaires sont importants

Thérapie génique dans le syndrome de Rett: correction des anomalies ou « editing » de l'ARN

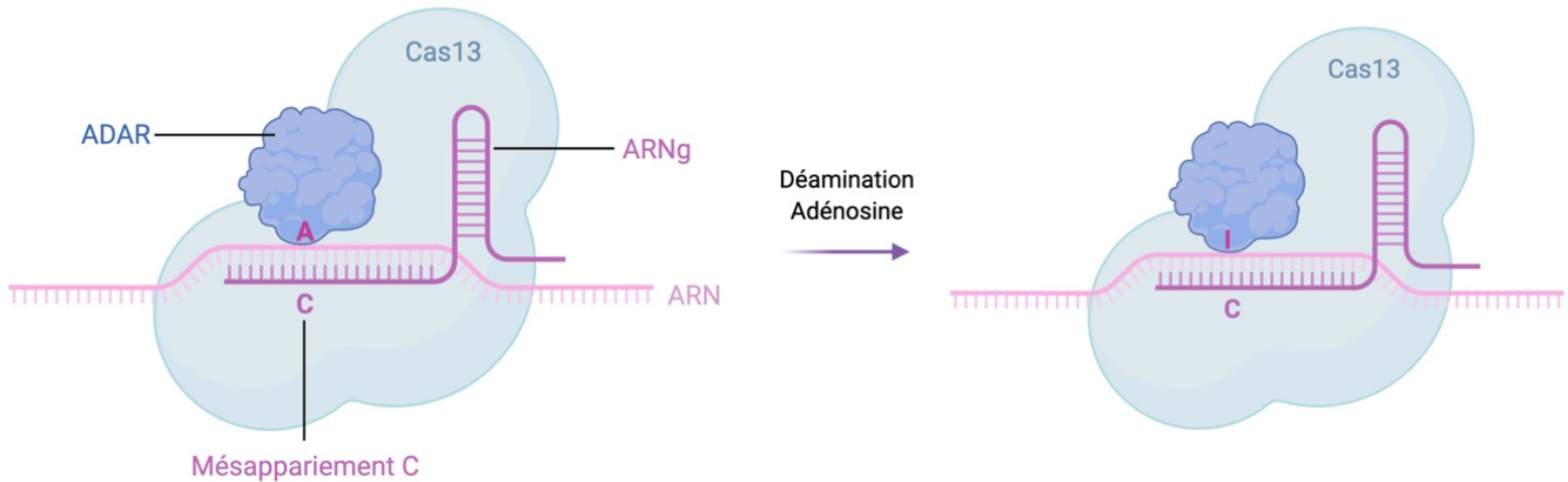


Figure 25 : Schéma du mode d'action des enzymes ADAR fusionnées à la protéine Cas13 afin d'éditer l'ARN d'un gène d'intérêt, ciblé grâce à un ARNg. Les éditases ADAR déaminent les adénosine (A) en inosine (I) et, au moment de la traduction en protéine, l'inosine est reconnue comme une guanine.

Réactivation du 2ème Chromosome X



Michael Green,
University of
Massachusetts,
USA



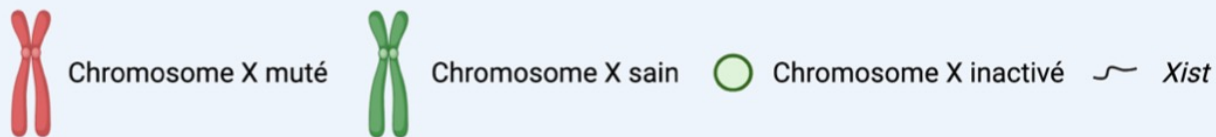
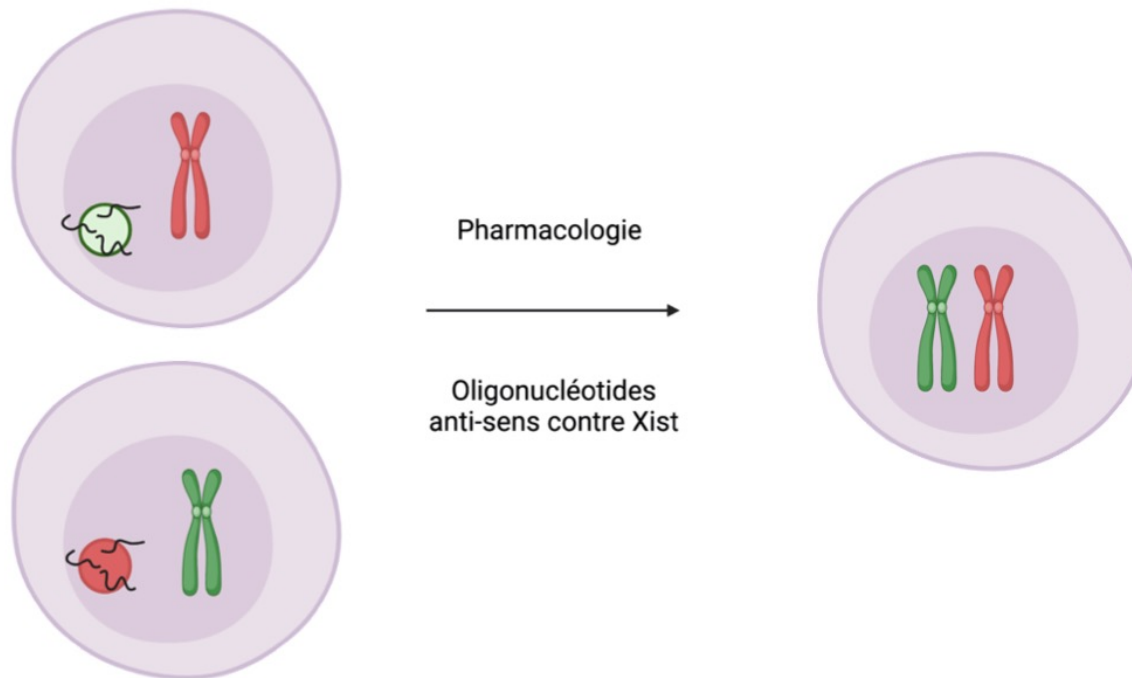
Jeanine Lee,
Harvard
University, USA



Edith Heard,
Collège de
France



Joost Gribnau,,
Rotterdam



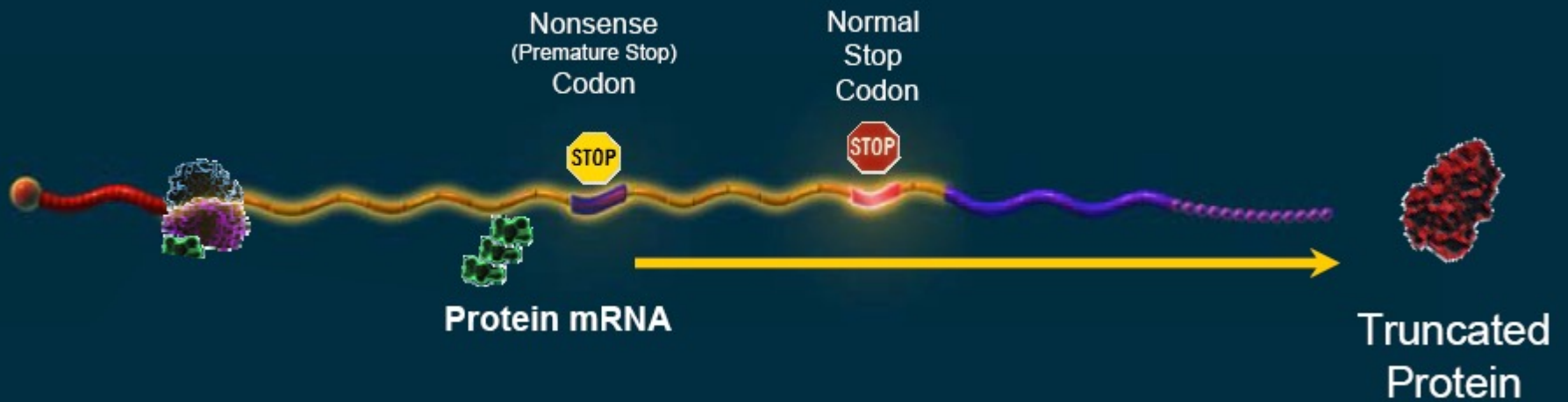
Passage des codons stops dans le syndrome de RETT

- ❖ On estime que 60% des patientes Rett sont associés à des mutations non-sens.
- ❖ Le PTC124 est un nouveau composé utilisé dans le traitement des maladies génétiques dues à des mutations non-sens.
- ❖ Ce codon-stop entraîne ensuite l'arrêt du processus de traduction et par conséquent provoque la synthèse d'une protéine nettement plus courte et non fonctionnelle par rapport à la normale.
- ❖ Le PTC124 a la capacité de passer à travers ces codons stop prématurés, on parle volontiers de "lecture forcée", et de restaurer ainsi la production d'une protéine entière et fonctionnelle. (essais clinique concluant Phase I dans la myopathie de Duchenne)

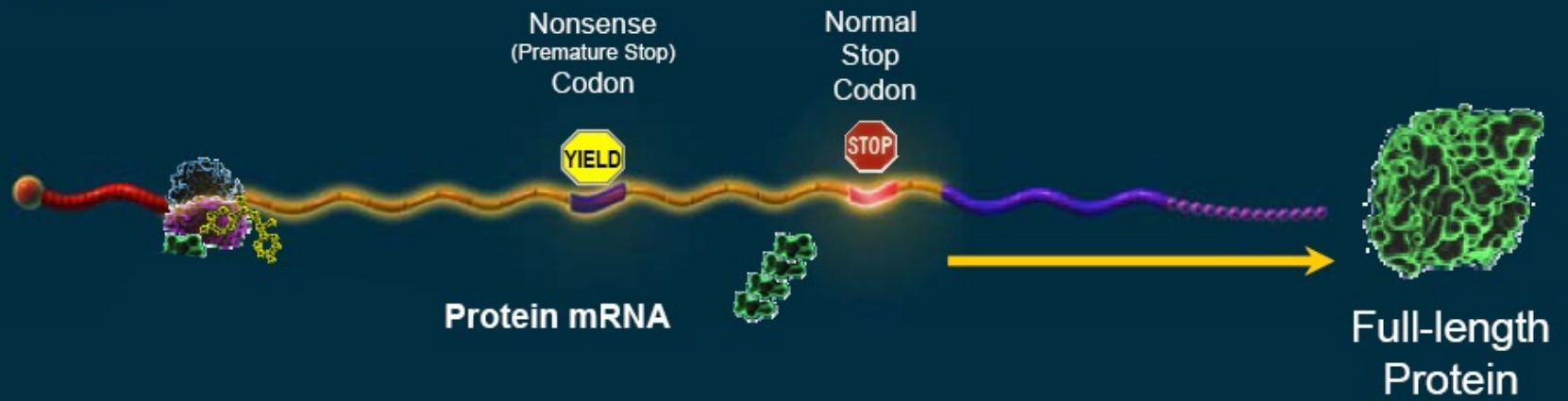
Normal Translation



Premature Termination



PTC124



Actuellement, un essai clinique aux états unis

Bilan

- ❖ Beaucoup d'essais précliniques (souris, IPS).
- ❖ Beaucoup d'essais cliniques pour une maladie rare.
- ❖ Pour l'instant il n'y a pas de traitement ayant une forte efficacité.
- ❖ Les bases de données vont être indispensables.
- ❖ Les associations de malades sont aussi très importantes.



