Une approche par thérapie génique permet de guérir des souris atteintes de myopathie

Publié le 06.01.16 | Par Gilles Camus

Trois études indépendantes, publiées simultanément dans la revue Science du 31 décembre 2015, font état de la guérison de souris atteintes de myopathie par thérapie génique utilisant la technique CRISPR-Cas9. Ces résultats, s'ils sont très loin d'être directement transposables à l'être humain, constituent un important pas en avant dans la recherche d'un moyen de guérir les malades atteints de myopathie.

1. La myopathie de Duchenne

La myopathie de Duchenne est une maladie génétique évolutive touchant les muscles. Elle est causée par l'absence (délétion) ou la mutation ponctuelle du gène *DMD* (*Duchenne Muscular Dystrophy*), codant la dystrophine. Dans les deux cas cette protéine est alors absente des cellules musculaires.

Il existe également une forme moins grave de cette maladie, appelée myopathie de Becker, dans laquelle la nature de la mutation du gène *DMD* permet à la dystrophine d'être exprimée, même s'il s'agit d'une protéine tronquée. Cette protéine anormale conserve cependant en partie ses fonctionnalités, ce qui limite l'étendue des désordres.

La dystrophine est une protéine présente à la face cytoplasmique de la membrane des cellules musculaires. C'est un élément du cytosquelette sous-membranaire. Son absence désorganise ce cytosquelette, ce qui entraîne progressivement une dégénérescence des muscles.

Si la prise en charge des effets de la maladie a progressé, il n'existe actuellement aucun traitement pour la soigner, et les malades ont une espérance de vie réduite (le décès intervient généralement avant l'âge de 30 ans en raisons de difficultés cardio-respiratoires).

La myopathie est l'une des maladies génétiques les plus fréquentes chez l'homme (1 garçon sur 3 500 touchés à la naissance), pour plusieurs raisons. Tout d'abord le gène *DMD* est porté par le chromosome X. Comme pour toute maladie génétique liée à un gène porté par le chromosome X, les garçons sont beaucoup plus touchés que les filles. En effet la présence d'une anomalie portée par le gène *DMD* sur leur unique chromosome X ne peut pas être compensée puisqu'il n'y a pas de seconde copie. Par ailleurs la dystrophine est une protéine géante (427 kDa). Le gène *DMD* est donc également particulièrement grand (2,5 millions de paires de bases) de sorte que la probabilité qu'une mutation touche ce gène est plus importante que pour des gènes plus courts.

2. CRISPR-Cas9

Étant donné la grande taille du gène DMD, il était impossible d'envisager de traiter la maladie en apportant une version saine du gène aux cellules qui en ont besoin. Les auteurs des trois études ont donc utilisé une approche différente, en réparant l'allèle défectueux présent dans les cellules grâce à l'outil d'édition de génome CRISPR-Cas9.

Cet outil a été mis au point très récemment par la Française Emmanuelle Charpentier et l'Américaine Jennifer Doudna (l'article qui décrit pour la première fois l'utilisation possible de la technique remonte à 2012, voir ref. 1). Pourtant, son utilisation se développe à toute vitesse dans les laboratoires. Il permet en effet de modifier précisément le patrimoine génétique des cellules avec une facilité, une rapidité et un coût sans commune mesure avec les techniques utilisées jusqu'à présent. Cet outil comporte deux éléments :

1. une endonucléase (Cas9).
   Cette enzyme bactérienne est capable de couper les deux brins d'une molécule d'ADN. Elle n'est pas apportée sous forme de protéine mais sous la forme de son gène qui doit alors être exprimé dans les cellules dans lequel il a pénétré.
2. un ARN guide.
   Cette ARN guide Cas9 vers l'ADN cible. Pour cela, cet ARN doit posséder une séquence complémentaire d'une séquence de l'ADN cible, et un domaine de recrutement de Cas9. En se positionnant au niveau de l'ADN cible par hybridation spécifique, et en liant Cas9, cet ARN permet une localisation précise de Cas9 et donc de son action.

3. Guérison d'un modèle animal de myopathie par thérapie génique

Trois équipes de recherches ont donc choisi d'utiliser l'outil CRISPR-Cas9 pour tenter de réparer le gène *DMD* des cellules musculaires d'un modèle murin de myopathie de Duchenne, les souris *mdx* (voir ref. 2, 3 et 4).

Dans les trois cas l'approche s'est faite *in vivo* et en post-natal, ce qui correspond à des conditions parfaitement adaptées à une technique qui pourrait être utilisée chez l'être humain.
Chez ces souris *mdx*, le gène *DMD* n'est pas absent mais une mutation a provoqué l'apparition d'un codon stop précoce. La protéine ne peut donc pas être synthétisée. L'idée a été d'enlever l'exon contenant la mutation dans l'ADN des cellules musculaires de ces souris en utilisant CRISPR-Cas9, ceci afin de restaurer la synthèse d'une protéine presque complète. Pour cela il fallait choisir le lieu d'action de Cas9 sur le gène *DMD*, synthétiser l'ARN guide correspondant, et choisir le vecteur pour apporter les composants du système CRISPR-Cas9 aux cellules musculaires. Dans le cas présent il s'agit d'un virus.

Les trois équipes ont obtenu des résultats similaires : en apportant localement ou par voie systémique le virus contenant le système CRISPR-Cas9, les souris traitées ont vu leur état s'améliorer dans les jours, semaines et mois qui ont suivi. Cependant, toutes les cellules musculaires ne se mettent pas à exprimer de la dystrophine et, la protéine n'étant pas complète, elle n'est pas fonctionnelle à 100 %. Les souris ont tout de même montré une amélioration de leurs capacités musculaires. La maladie a donc été, au moins partiellement, guérie par cette approche de thérapie génique.

4. Perspectives

Ce résultat fait bien entendu naître l'espoir de la mise au point d'un traitement de la myopathie de Duchenne chez l'être humain, même si beaucoup reste à faire pour pouvoir transposer ce type de traitement. Il faut notamment s'assurer que le CRISPR-Cas9 ne modifie pas le génome en dehors de la cible prévue. Des modifications non contrôlées pourraient en effet provoquer d'autres désordres forcement imprévisibles et potentiellement inacceptables. Nul doute que beaucoup, à commencer par les auteurs de ces trois études, vont poursuivre ces travaux dans l'objectif de pouvoir un jour guérir la myopathie de Duchenne.

5. Bibliographie

1. A Programmable Dual-RNA–Guided DNA Endonuclease in Adaptive Bacterial Immunity. Martin Jinek, Krzysztof Chylinski, Ines Fonfara, Michael Hauer, Jennifer A. Doudna, Emmanuelle Charpentier. Science. 2012. 337:816-821.
2. Postnatal genome editing partially restores dystrophin expression in a mouse model of muscular dystrophy. Chengzu Long1,2,3,*, Leonela Amoasii, Alex A. Mireault, John R. McAnally, Hui Li, Efrain Sanchez-Ortiz, Samadrita Bhattacharyya, John M. Shelton, Rhonda Bassel-Duby, Eric N. Olson. Science. 2015. 10.1126.
3. In vivo genome editing improves muscle function in a mouse model of Duchenne muscular dystrophy. Christopher E. Nelson, Chady H. Hakim, David G. Ousterout, Pratiksha I. Thakore, Eirik A. Moreb, Ruth M. Castellanos Rivera, Sarina Madhavan, Xiufang Pan, F. Ann Ran, Winston X. Yan, Aravind Asokan, Feng Zhang, Dongsheng Duan, Charles A. Gersbach. Science. 2015. 10.1126.
4. In vivo gene editing in dystrophic mouse muscle and muscle stem cells. Mohammadsharif Tabebordbar, Kexian Zhu, Jason K. W. Cheng, Wei Leong Chew, Jeffrey J. Widrick, Winston X. Yan, Claire Maesner, Elizabeth Y. Wu, Ru Xiao, F. Ann Ran, Le Cong, Feng Zhang, Luk H. Vandenberghe, George M. Church, Amy J. Wagers. Science. 2015. 10.1126

CRÉDITS

AUTEUR(S)/AUTRICE(S) ET MISE EN LIGNE

Gilles Camus

Professeur agrégé de SVT. Il a été le responsable éditorial du site Planet-Vie de 2004 à 2016.

LICENCE DU TEXTE DE L'ARTICLE

VOIR MENTIONS LÉGALES