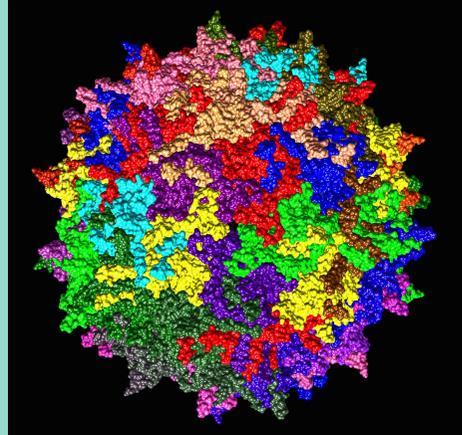


# L'espoir d'une Thérapie génique dans le syndrome de Rett



- Jean-Christophe ROUX, PhD
- Aix Marseille Université, INSERM, MMG, U1251 Marseille France
- <http://www.germaco.net>

# Thérapies dans le Syndrome de Rett

## ➤ Traiter les symptômes

Pharmacologie (court-terme)

## ➤ Traiter les causes du syndrome de Rett – mutations MECP2

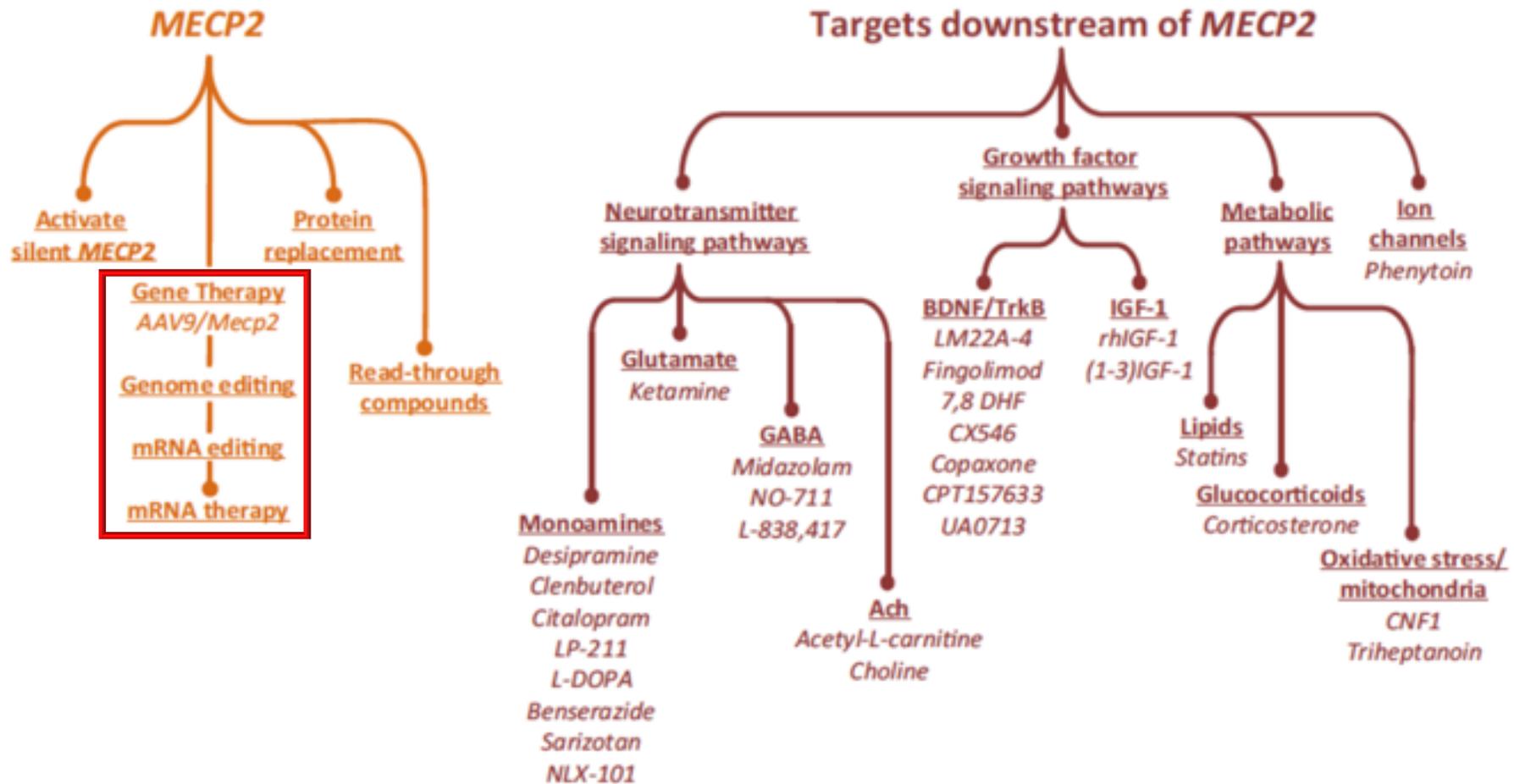
Thérapie de passage forcé du codon stop

Réactivation du chromosome X

Thérapie de substitution

- Thérapie génique virale et non virale (long-terme)

# Thérapies dans le Syndrome de Rett



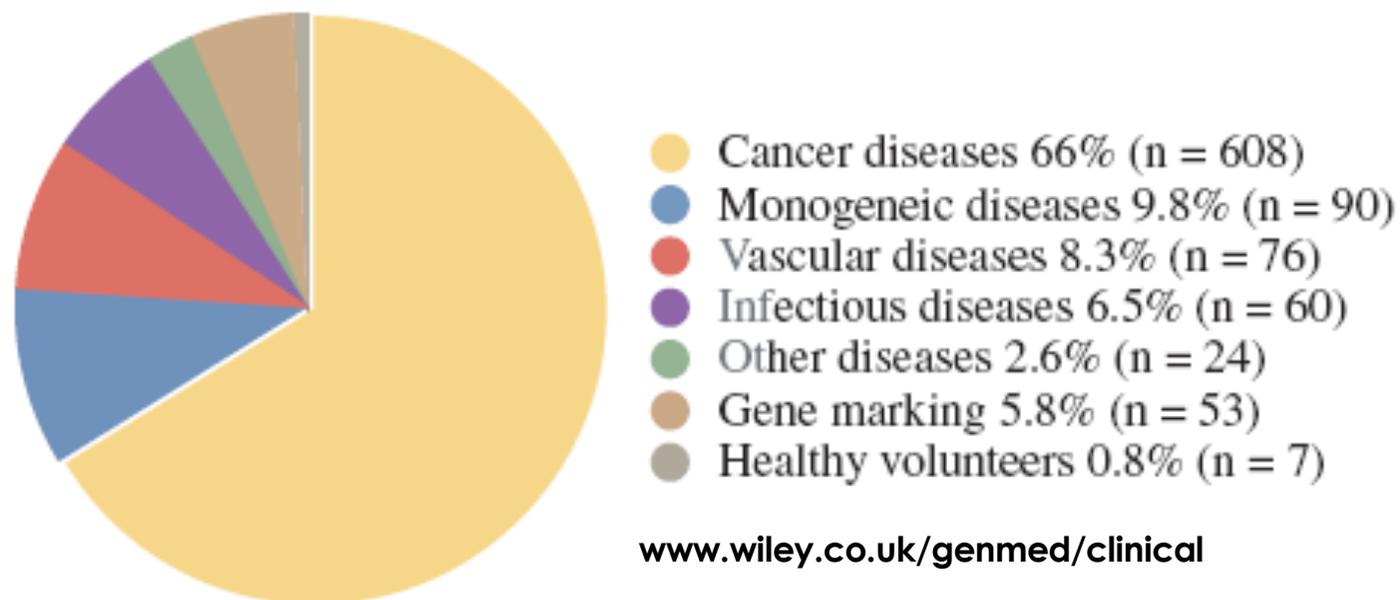
# Traitement des causes du syndrome de Rett: Thérapie génique

## Qu'est ce que la 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.

# Traitement des causes du syndrome de Rett: Thérapie génique



# Traitement des causes du syndrome de Rett: Thérapie génique

Thérapie

Vecteur non viral

Vecteur viral

Type

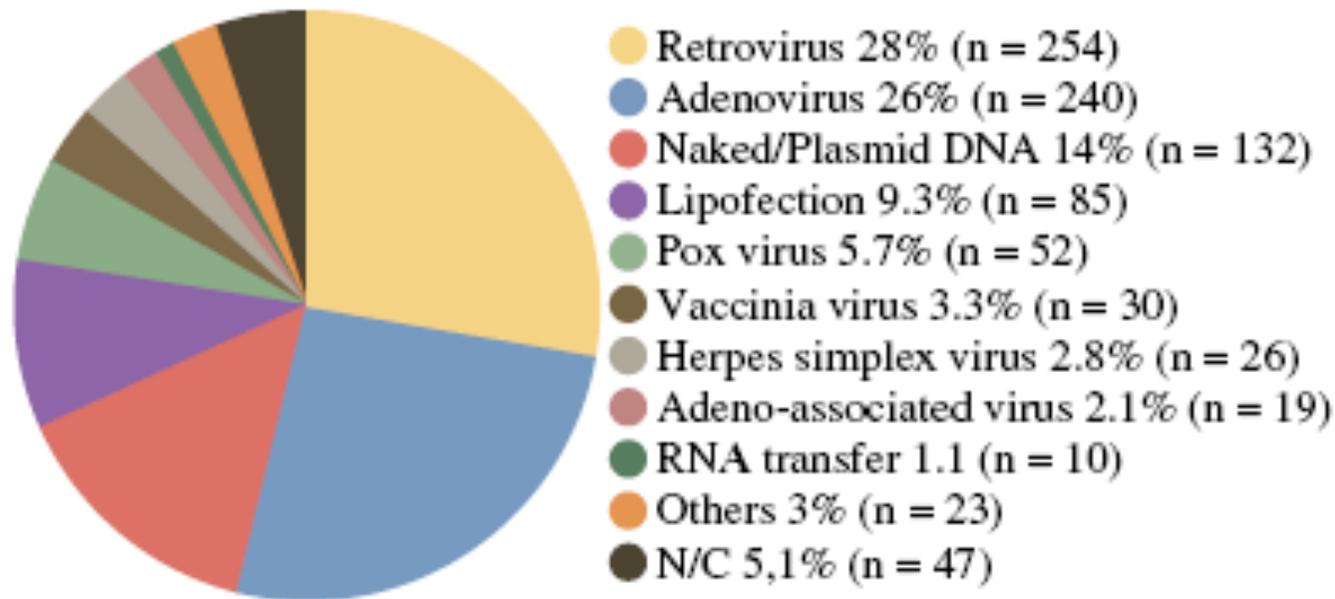
Quest ce que  
c'est?

Fonction

Effets  
secondaires ?

# Traitement des causes du syndrome de Rett: Thérapie génique

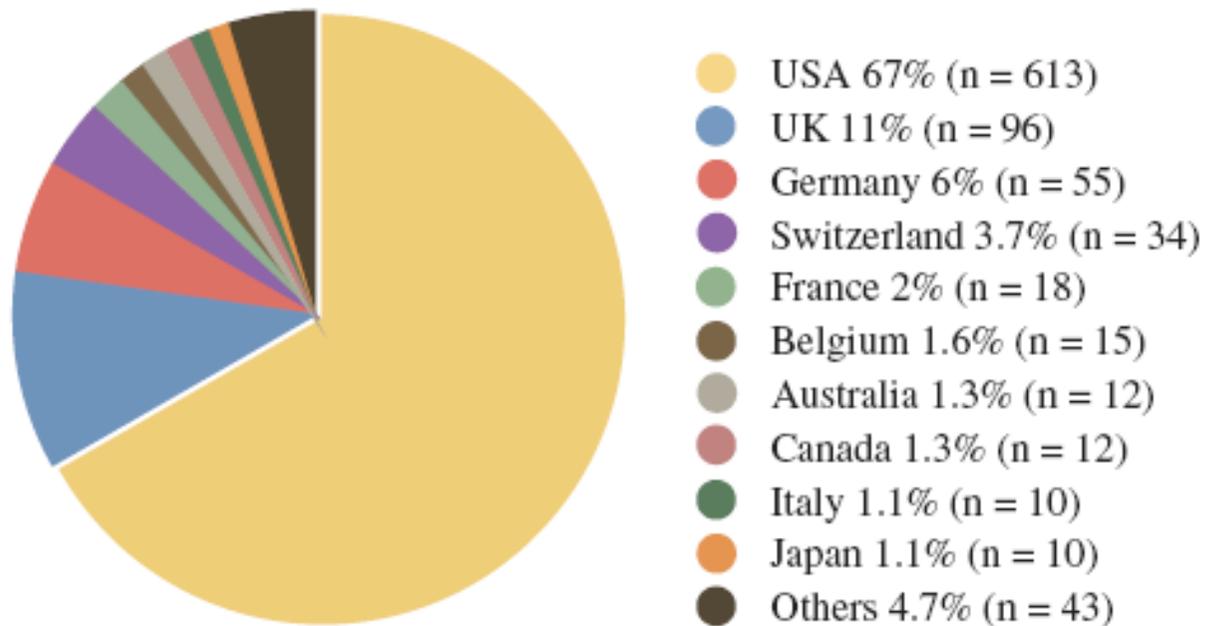
## Vecteurs viraux



[www.wiley.co.uk/genmed/clinical](http://www.wiley.co.uk/genmed/clinical)

# Traitement des causes du syndrome de Rett: Thérapie génique

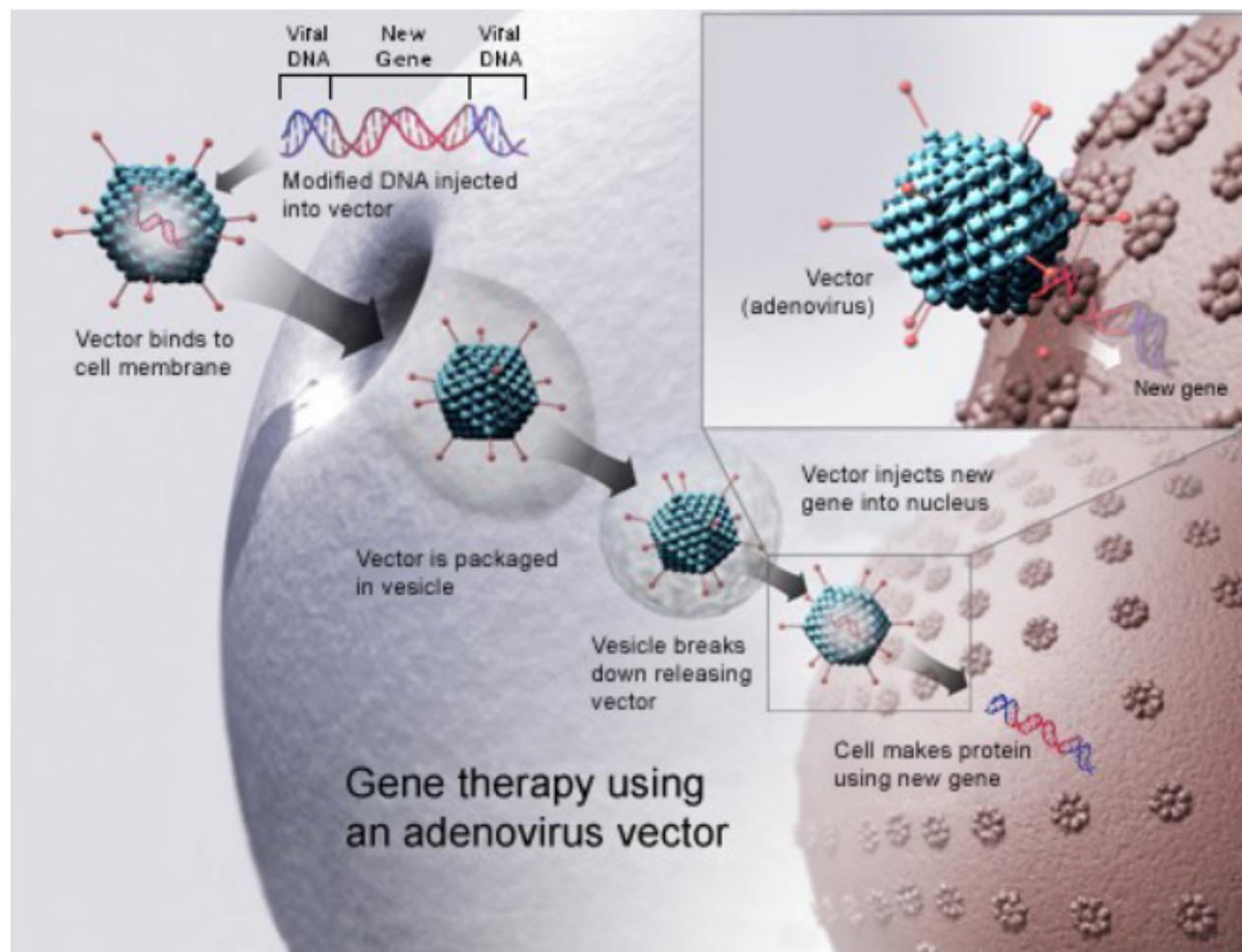
## Vecteurs viraux



[www.wiley.co.uk/genmed/clinical](http://www.wiley.co.uk/genmed/clinical)

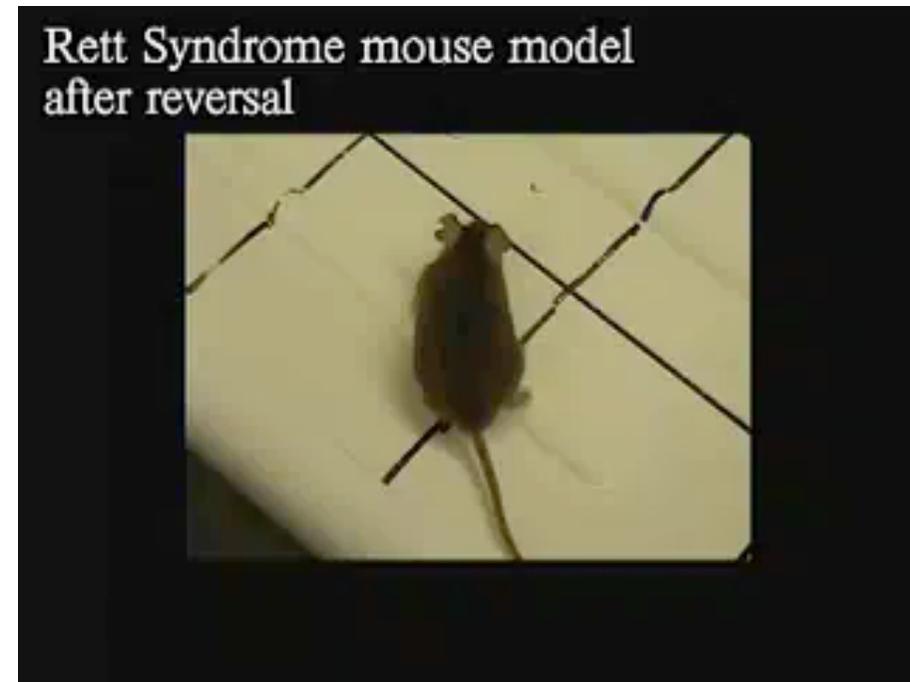
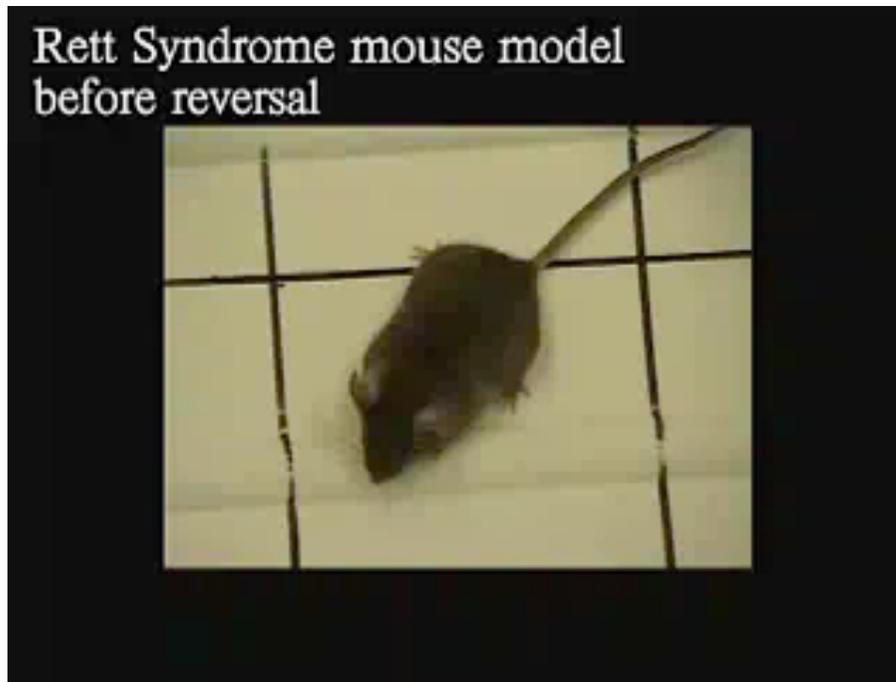
# Traitement des causes du syndrome de Rett: Thérapie génique

## Vecteurs viraux



# Traitement des causes du syndrome de Rett: Les challenges à venir

Est ce que le syndrome de Rett est réversible?

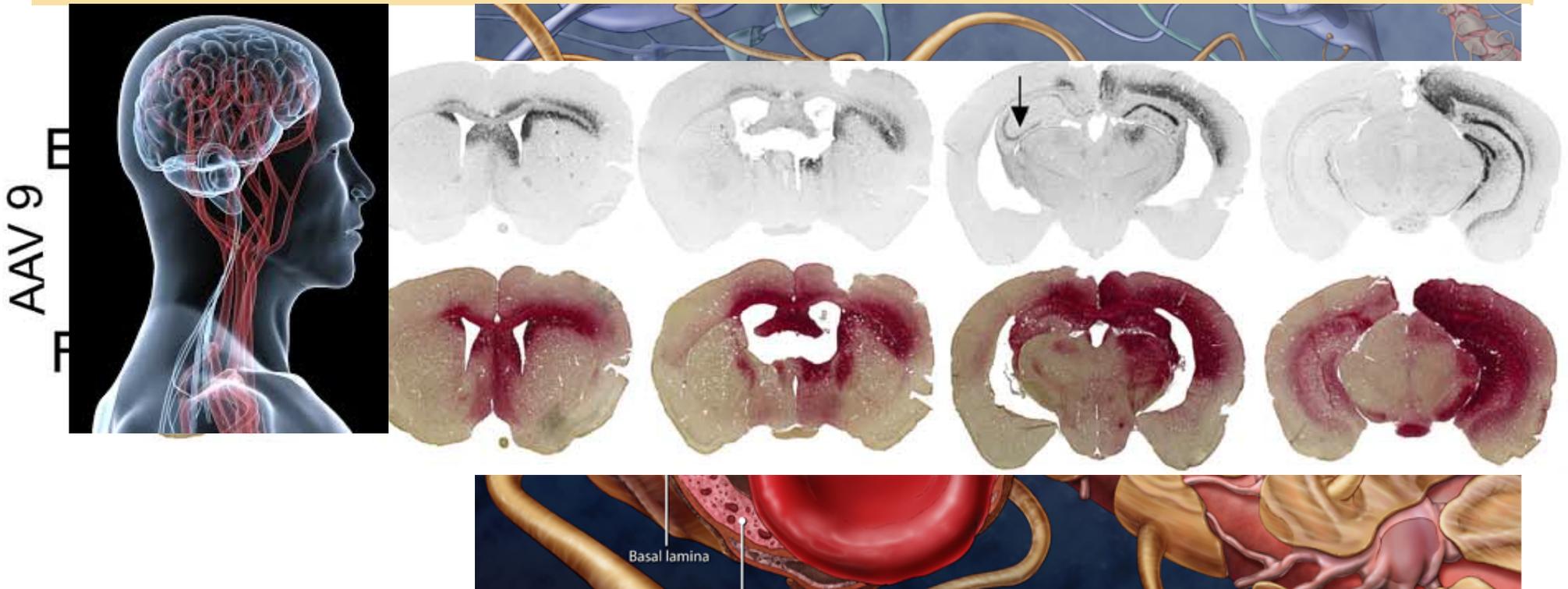


(Guy et al., Science, 2007, 315:1143)

# Traitement des causes du syndrome de Rett: Les challenges à venir

**Les vecteurs thérapeutiques ont besoin d'infecter le cerveau.**

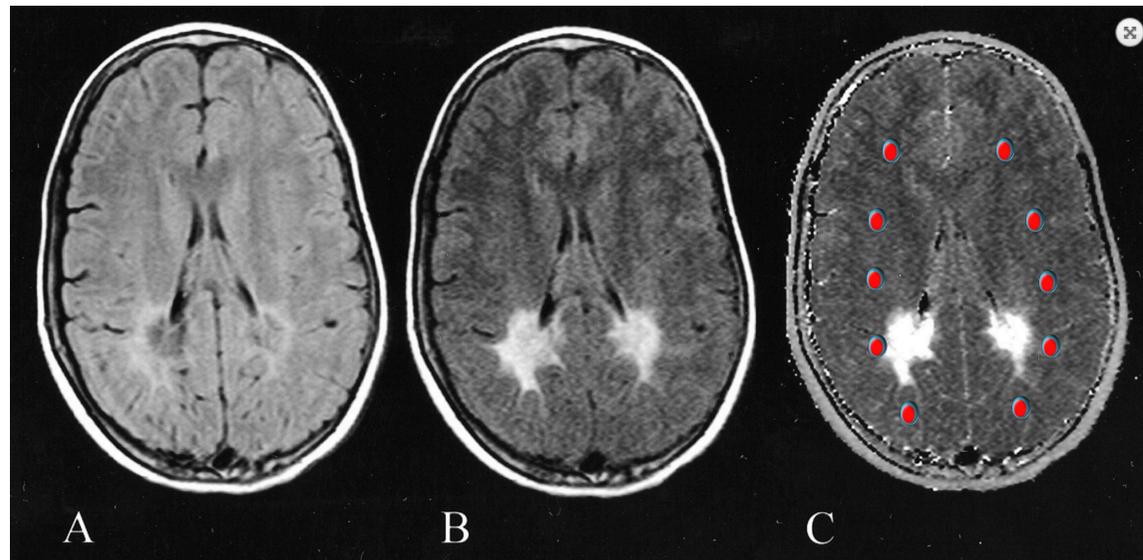
- La pénétration est importante dans le cerveau si l'administration est faite directement au niveau du CNS.
- Doit passer la Barrière hémato-encéphalique si l'administration est intraveineuse.



# Thérapie génique dans le syndrome de Rett



**Nathalie Cartier**  
Groupe des  
biothérapies  
Institut du  
cerveau et de la  
moelle épinière

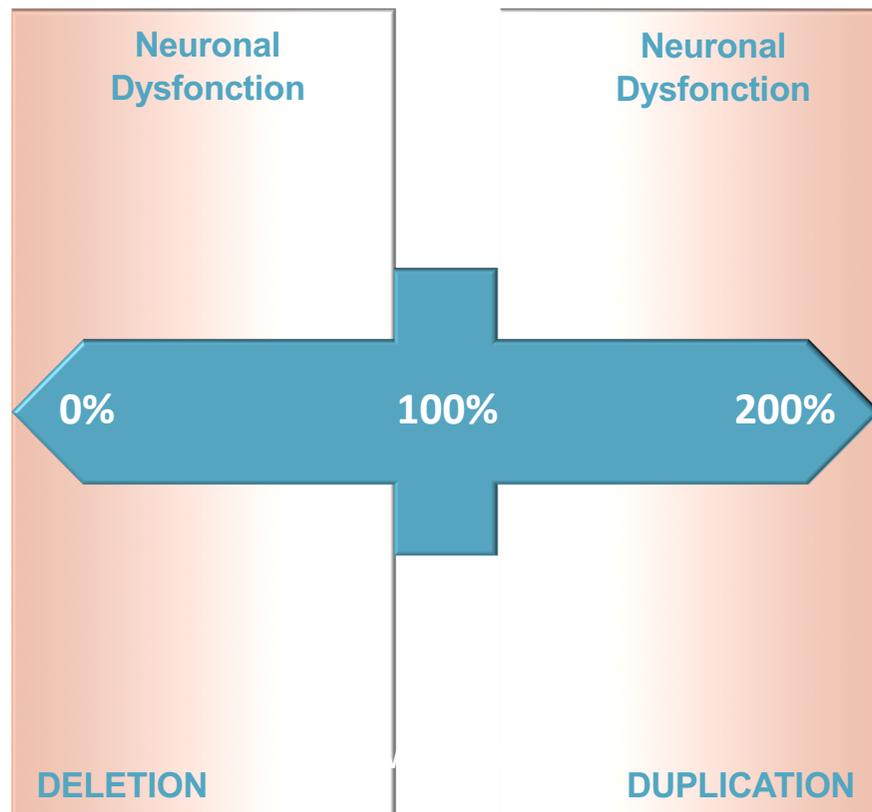


Adrénoleucodystrophie

# Traitement des causes du syndrome de Rett: Les challenges à venir

**Le vecteur thérapeutique doit fournir une dose efficace.**

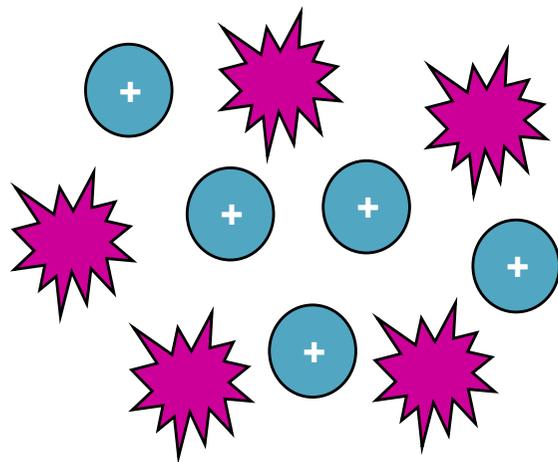
- Nous savons de la génétique qu'un surdosage du gène *Mecp2* n'est pas bon.



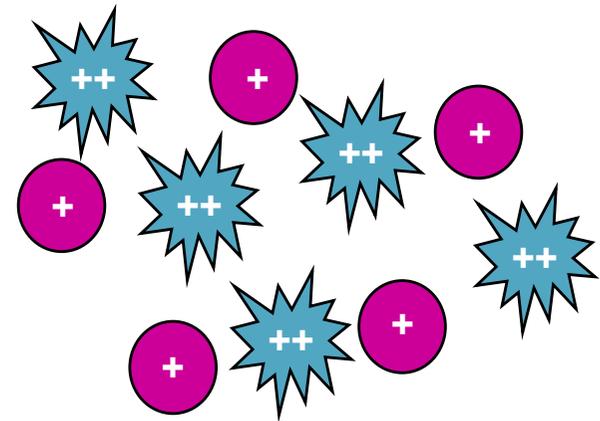
# Traitement des causes du syndrome de Rett: Les challenges à venir

**Le vecteur thérapeutique doit fournir une dose efficace.**

- Nous savons de la génétique qu'un surdosage du gène *Mecp2* n'est pas bon.
- Les filles Rett ont la moitié de leurs cellules normales et la moitié mutées.



Thérapie  
génique

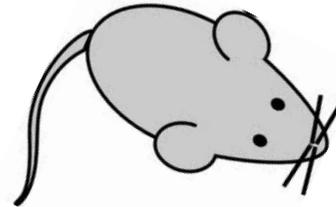


# Thérapie génique dans le syndrome de Rett: études précliniques (Mecp2)

## Gadalla et al, 2013

Les souris « RTT » sont soignées si l'injection est faite directement dans le cerveau des souris avant l'apparition des premiers signes.

Le niveau de récupération est faible quand l'injection est faite chez des souris adultes.

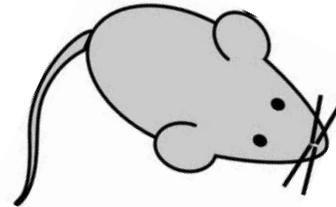


## Garg et al, 2013

Le niveau de récupération est partiel quand l'injection intraveineuse est faite chez des souris adultes.

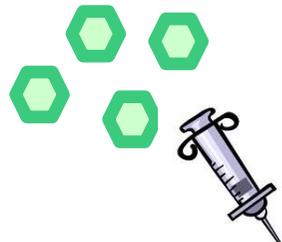
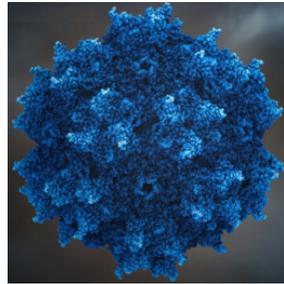
# Thérapie génique dans le syndrome de Rett: études précliniques (Mecp2)

Les deux études montrent que la thérapie génique **améliore la condition des souris modèles.**



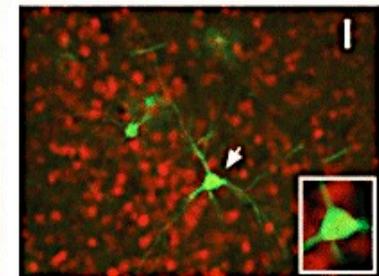
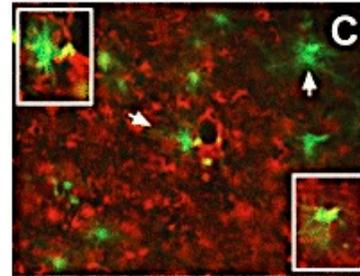
L'utilisation du même vecteur donne des résultats différents dans deux équipes différentes.

# Thérapie génique dans le syndrome de Rett: études précliniques (Mecp2)

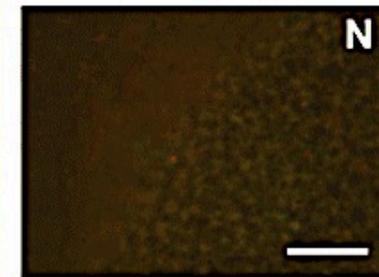
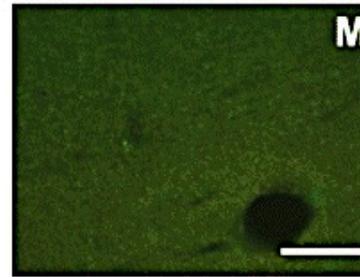


Injection IV  
après  
l'apparition des  
symptômes

Cortex



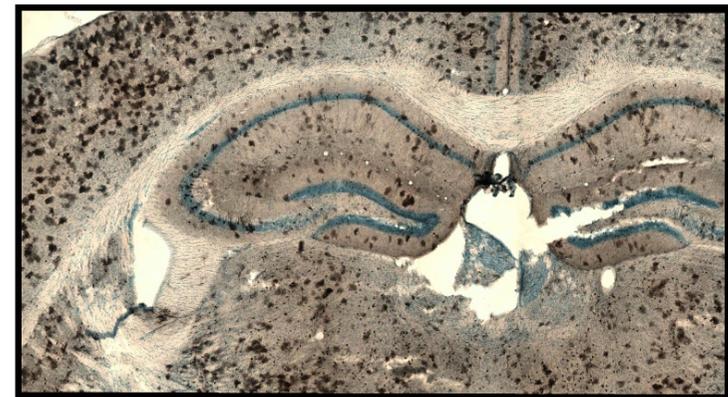
Control



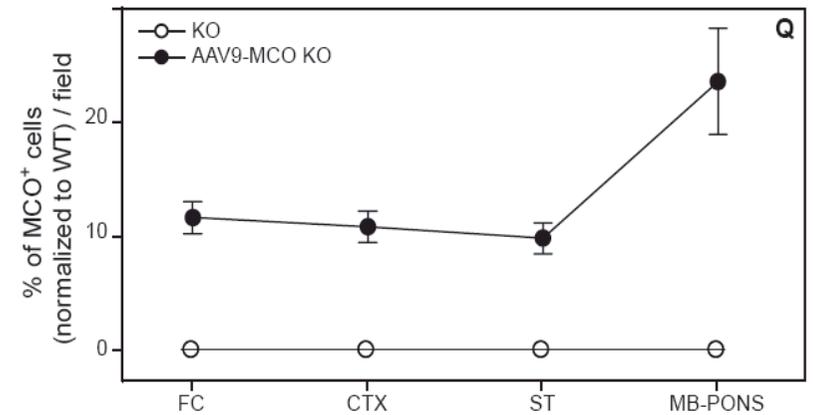
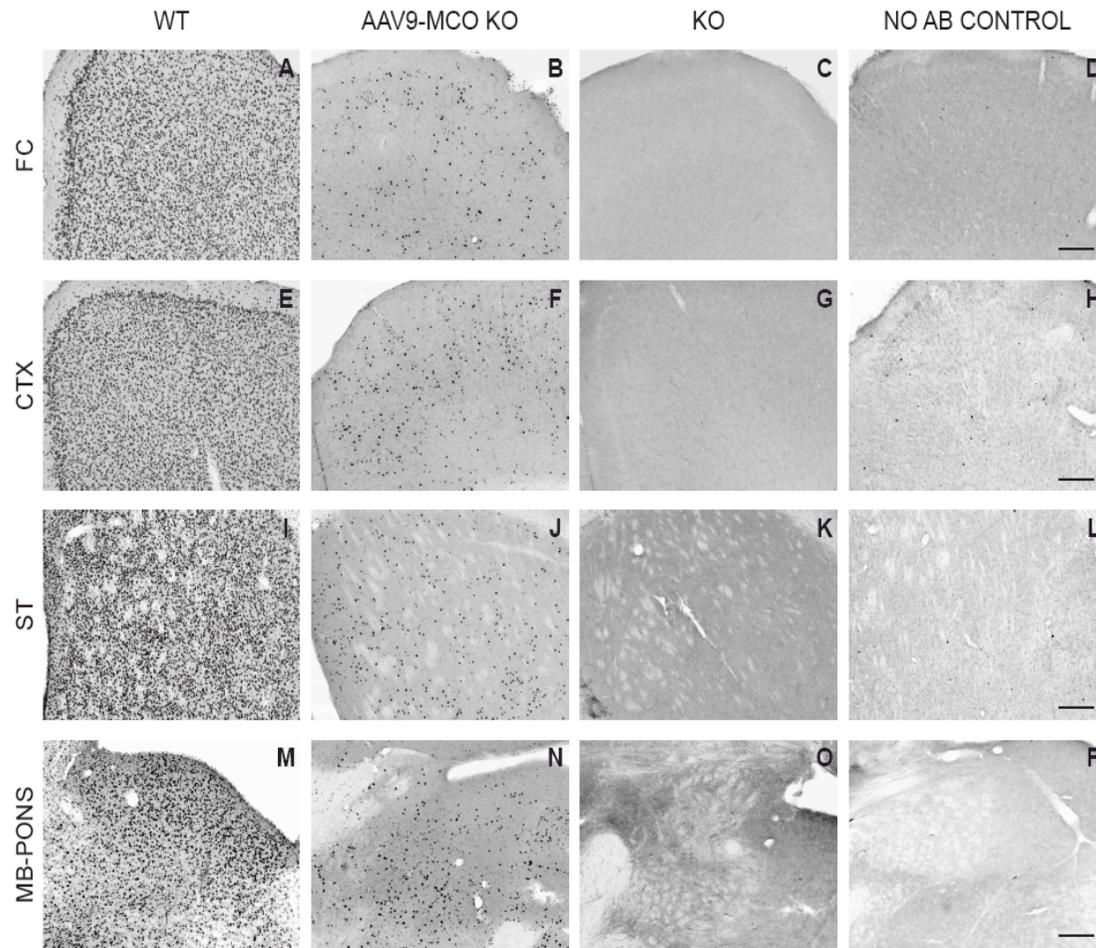
GFP/GFAP

GFP/NeuN

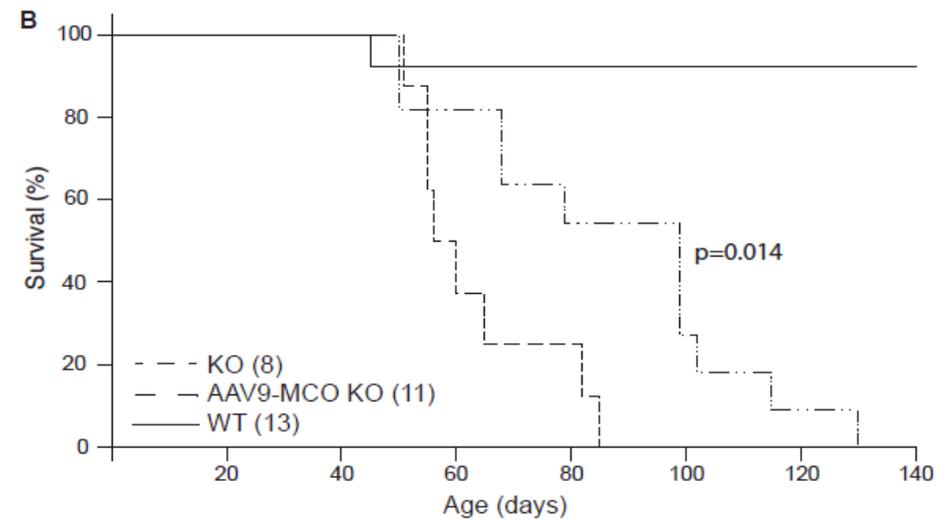
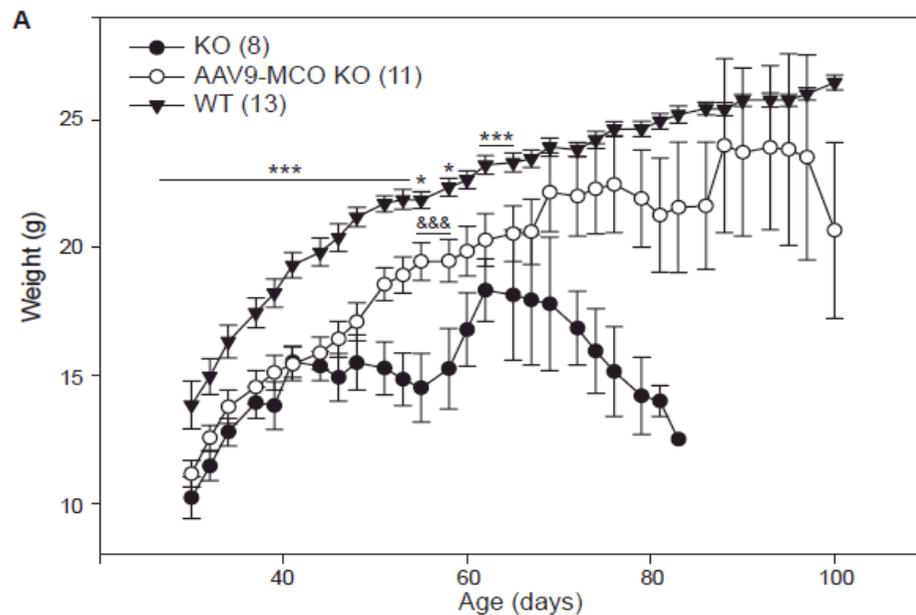
Version codon optimisé  
de Mecp2 (AAV9-MCO)  
MCO=Mecp2



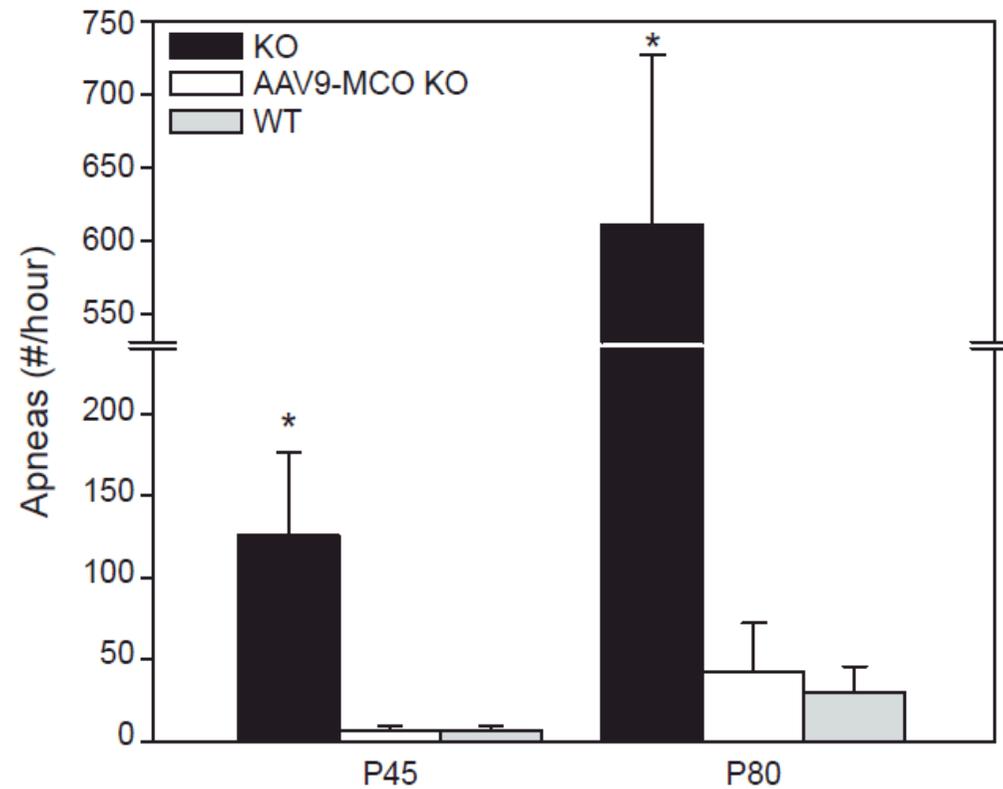
# Thérapie génique dans le syndrome de Rett: études précliniques (Mecp2)



# Thérapie génique dans le syndrome de Rett: études précliniques (*Mecp2*)



# Thérapie génique dans le syndrome de Rett: études précliniques (*Mecp2*)



# *L'administration AAV9 chez les souris femelles vrais modèles génétique du syndrome de Rett*

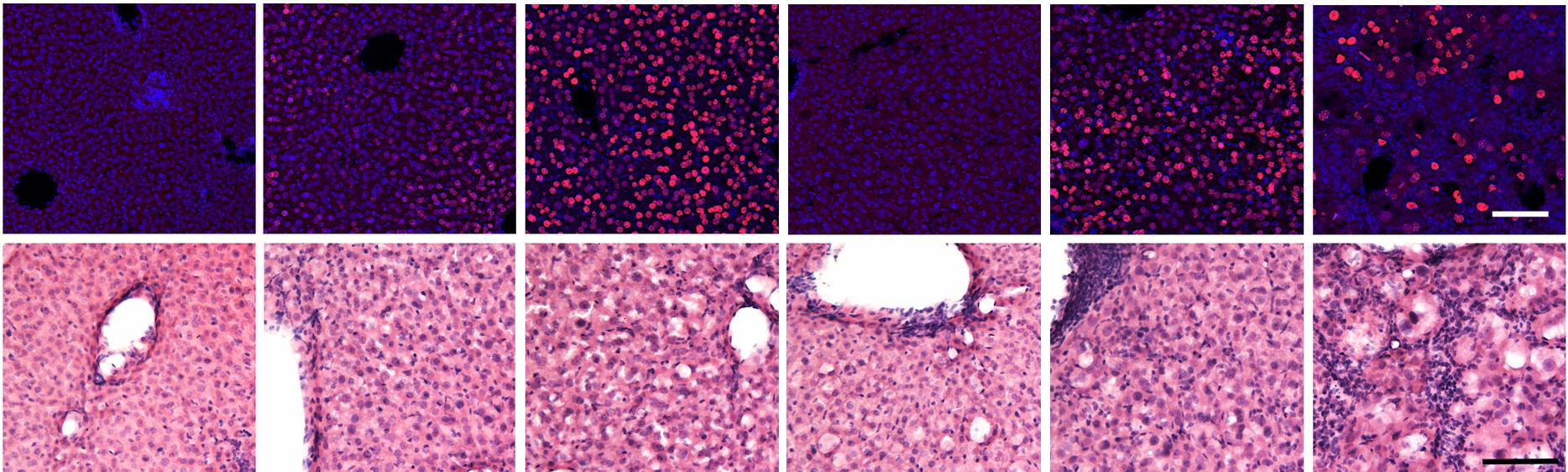
- + Le vecteur AAV9-MCO améliore les troubles respiratoires, la locomotion et l'activité circadienne chez les souris femelles modèles de syndrome de Rett.
- *Les souris femelles modèles du syndrome de Rett développent des troubles hépatiques après injection du vecteur AAV9-MCO.*

D'autres études vont être nécessaires

- Confirmation des effets secondaires chez les souris modèles.
- Détermination des effets délétères causés par:
  - Le virus
  - Le transgène

# Troubles hépatiques après administration de l'AAV9 chez les souris femelles

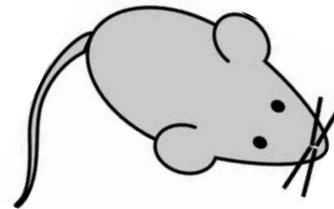
	WT	WT MCO	WT MCO	HT	HT MCO	HT MCO
ALT	54 U/L	321U/L	1118U/L	117 U/L	2,798 U/L	3,787 U/L
AST	81 U/L	174 U/L	609 U/L	140 U/L	1,557 U/L	1,966 U/L
LDH	826 U/L	738 U/L	683 U/L	306 U/L	1,798 U/L	1,869 U/L



# Troubles hépatiques après administration de l'AAV9 chez les souris femelles

## **Sinnett, et al, 2017**

Ils ont confirmé les limites du vecteur AAV9 classique et ont démontré que des modifications du vecteur peuvent diminuer sa toxicité.

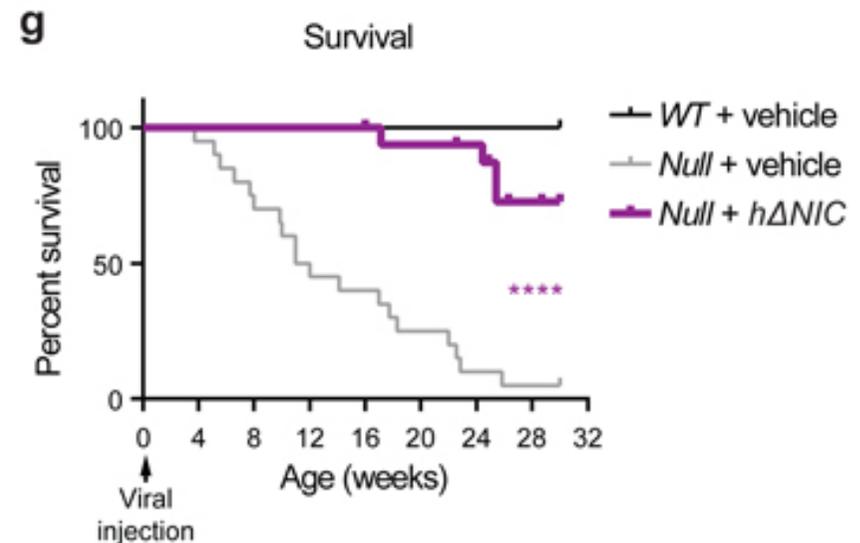


## **Gadala et al, 2017**

Leurs résultats montrent que le contrôle des niveaux d'expression de MeCP2 dans le foie est réalisable grâce à la modification du vecteur. Cependant, il souligne également l'importance de réaliser une transduction élevée du cerveau pour influencer sur les phénotypes RTT.

# Thérapie génique dans le syndrome de Rett: études précliniques (Mecp2)

Forme tronquée de Mecp2



Les résultats semblent miraculeux

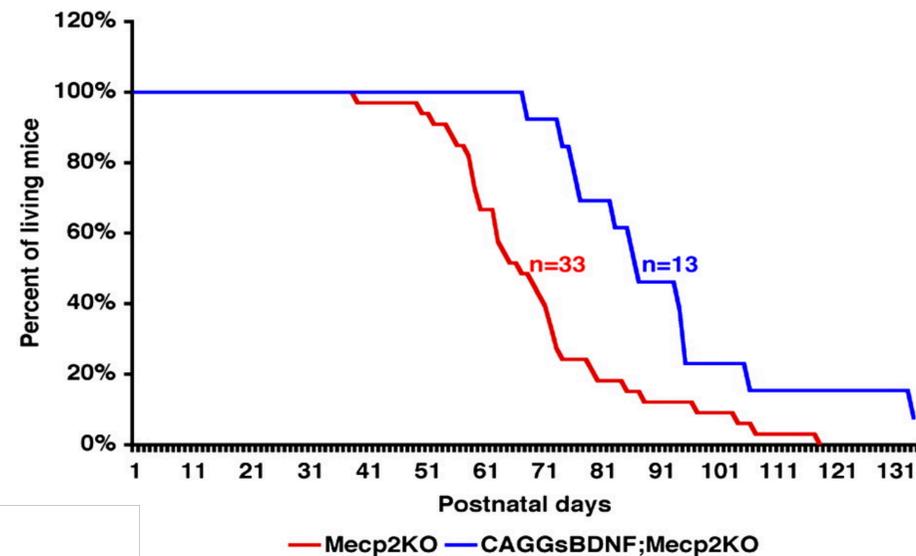
- Amélioration durable des souris modèles
- Effets secondaires limités.
- Problème:



# Thérapie génique dans le syndrome de Rett: études précliniques (BDNF)

- Le Bdnf (facteur neurotrophique dérivé du cerveau) est un facteur neurotrophique essentiel à la survie neuronale et aux connexions synaptiques
- Le Bdnf est directement réglementé par *Mecp2* (Chen et al., 2003, Martinovitch et al, 2003).
- Un manque de *Mecp2* conduit à :
  - ▣ Une diminution des niveaux de Bdnf dans le cerveau(Chen et al., 2003; Chang et al., 2006)
  - ▣ Un défaut dans le transport axonal du Bdnf (Roux et al., 2012 ; Xu et al., 2014)

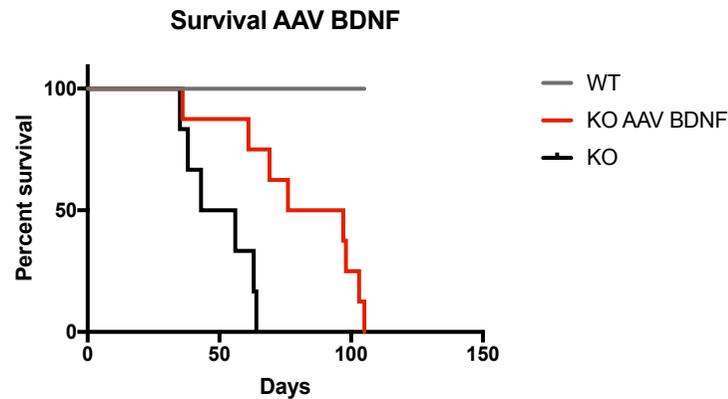
# Thérapie génique dans le syndrome de Rett: études précliniques (BDNF)



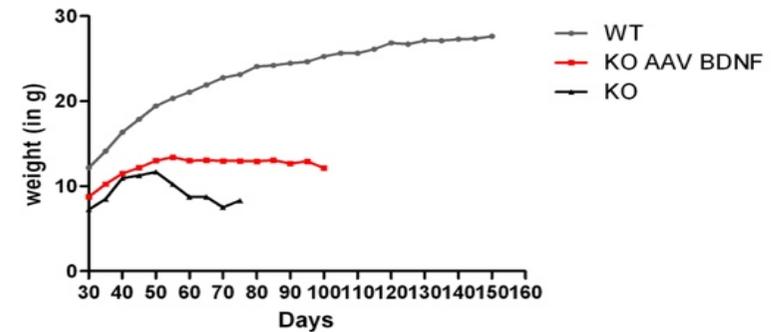
- Problème : Le BDNF ne franchit pas la barrière hémato-encéphalique (BHE).

# Thérapie génique dans le syndrome de Rett: études précliniques (BDNF)

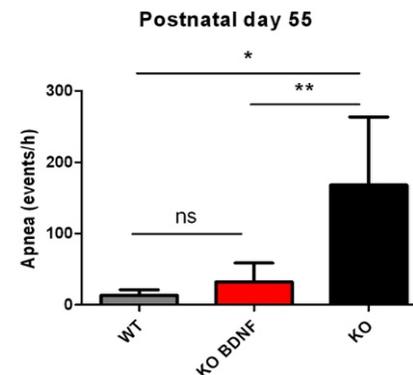
## Survie



## Poids

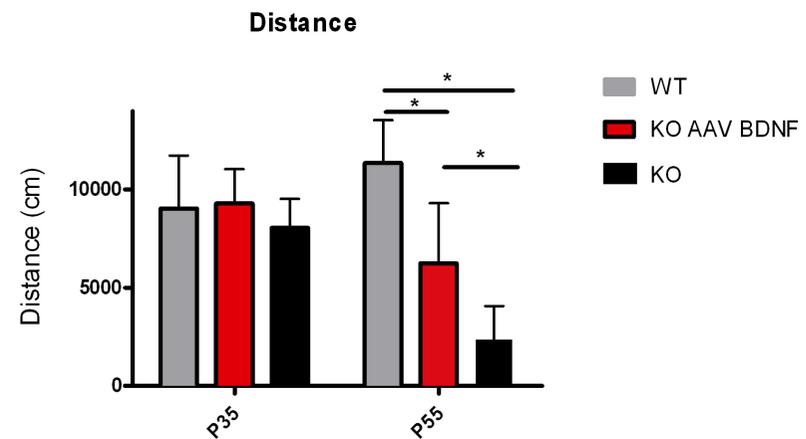
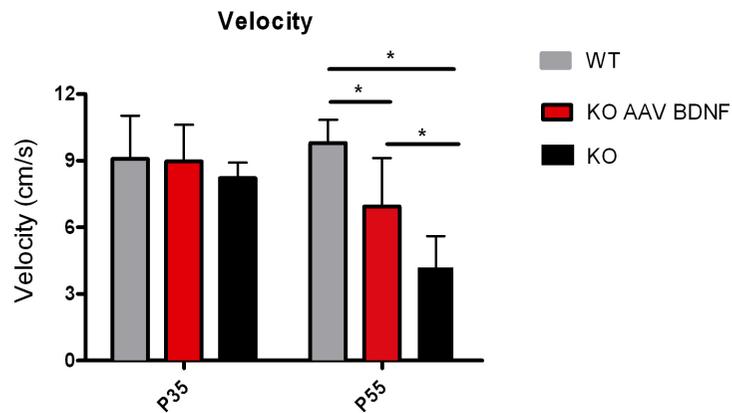


## Apnées

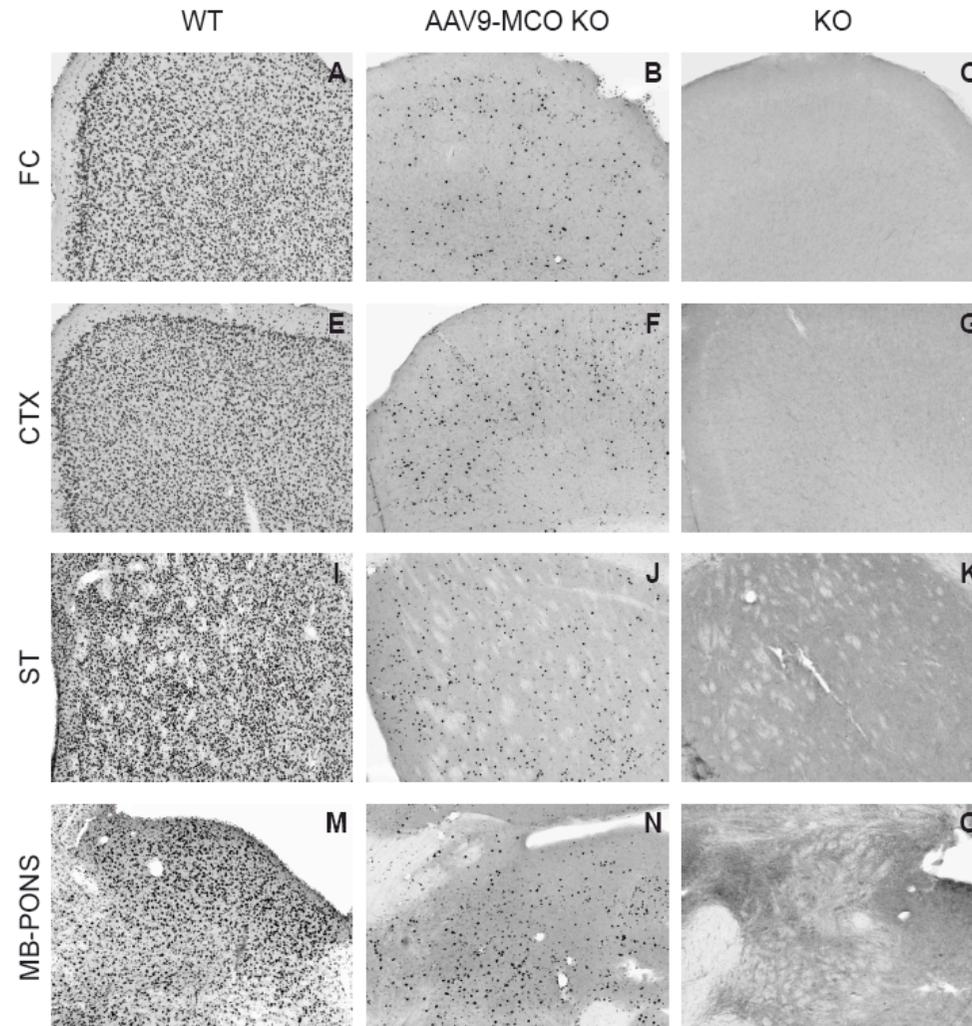


# Thérapie génique dans le syndrome de Rett: études précliniques (BDNF)

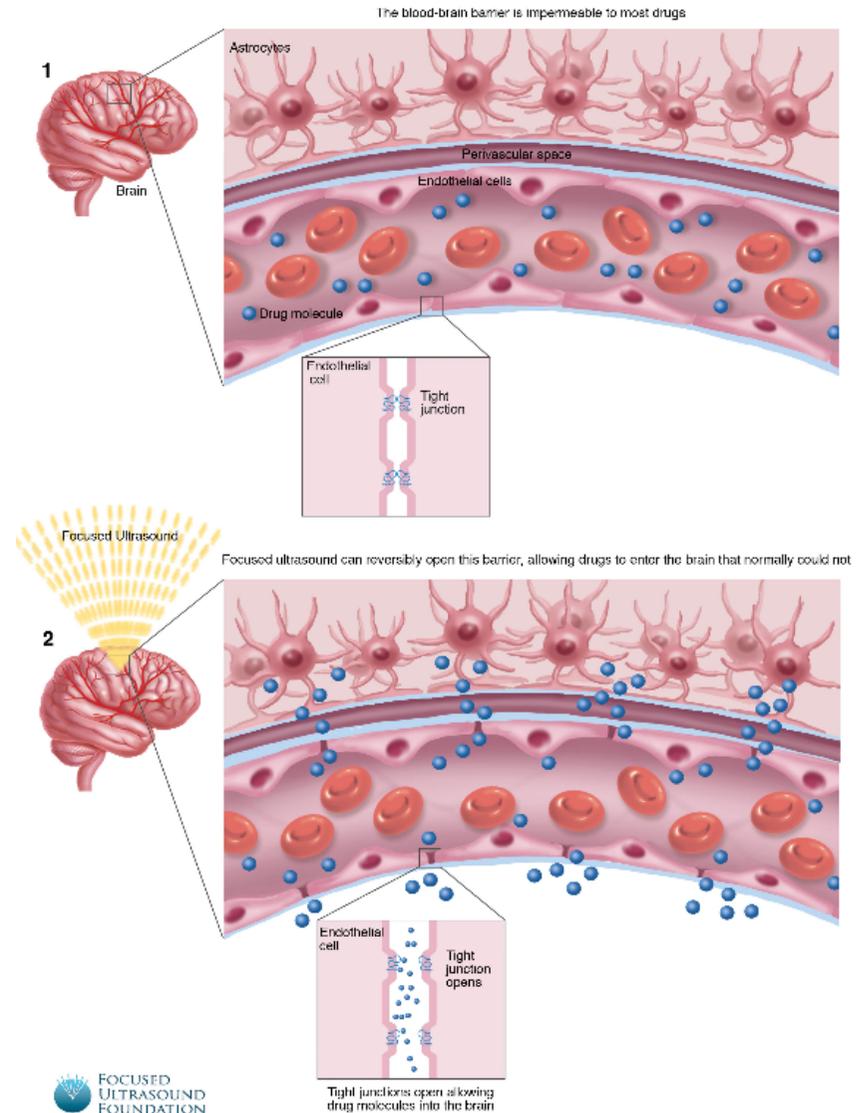
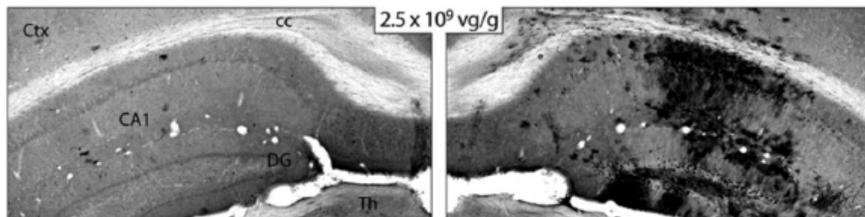
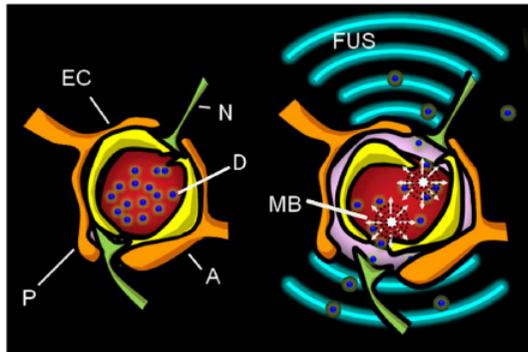
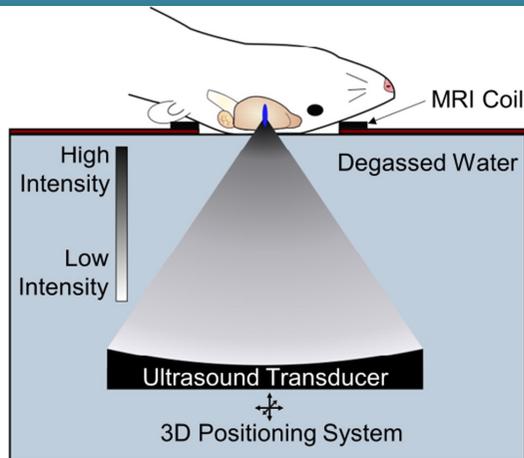
## Activité motrice



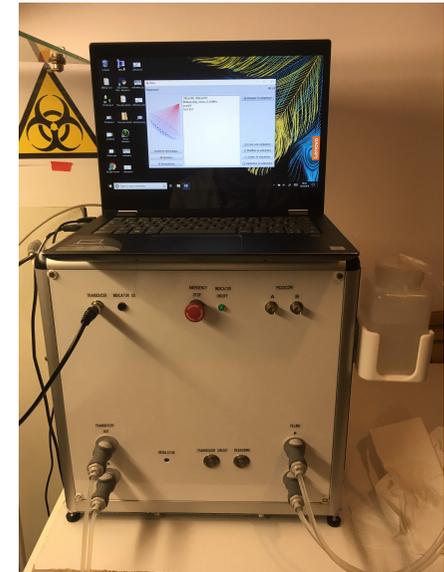
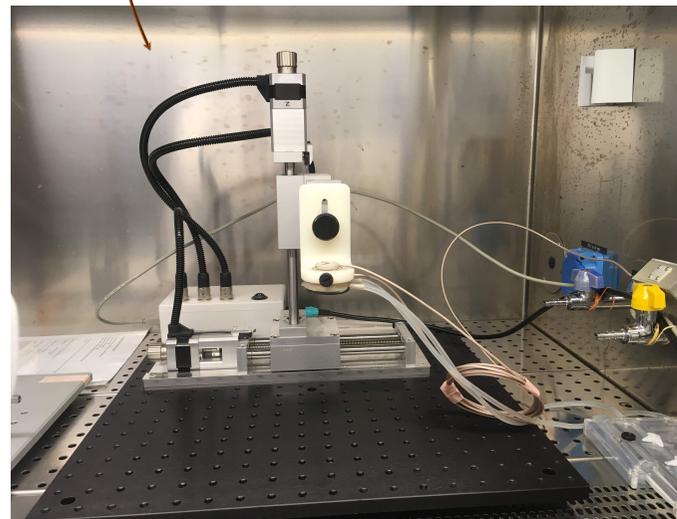
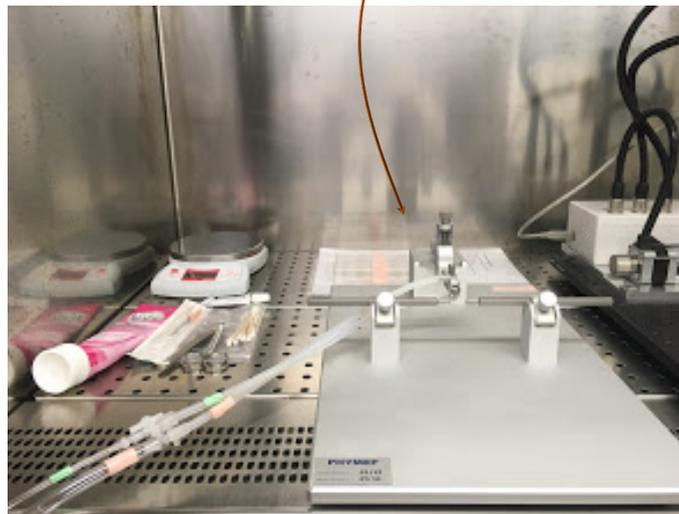
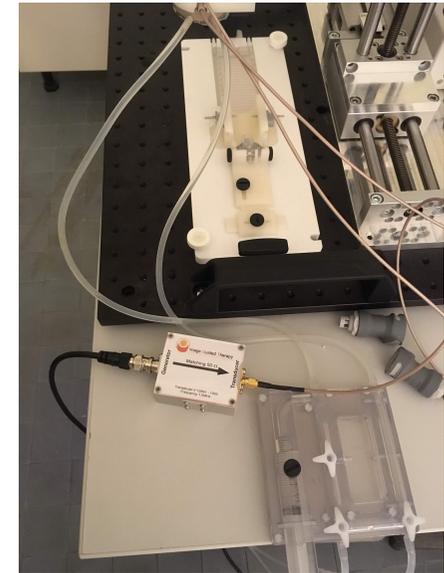
# Thérapie génique dans le syndrome de Rett: études récentes



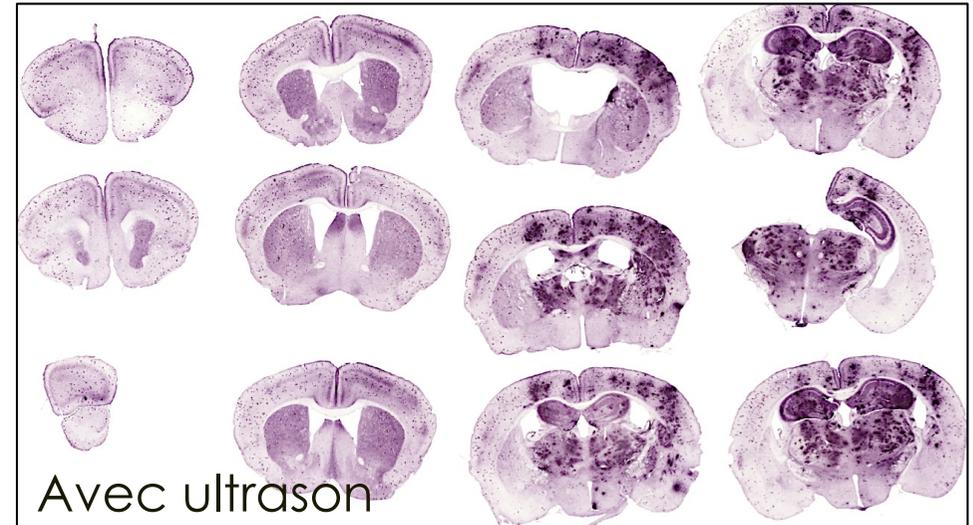
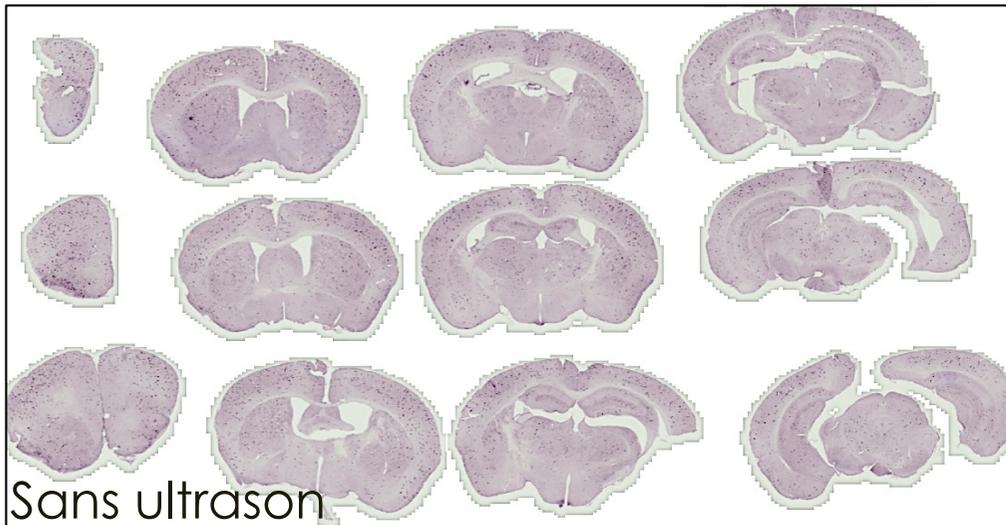
# Thérapie génique dans le syndrome de Rett: optimisation de l'infection



# Notre matériel



# Thérapie génique dans le syndrome de Rett: optimisation de l'infection



# Thérapie génique dans le syndrome de Rett



Le syndrome de Rett est un bon candidat pour utiliser la thérapie génique parce qu'il est causé par un seul gène, il n'est pas dégénératif et les symptômes peuvent être réversibles à tout âge. Les études sur les modèles de souris du syndrome de Rett démontrent qu'une seule dose de thérapie génique peut améliorer considérablement les symptômes, même après que le syndrome a progressé.



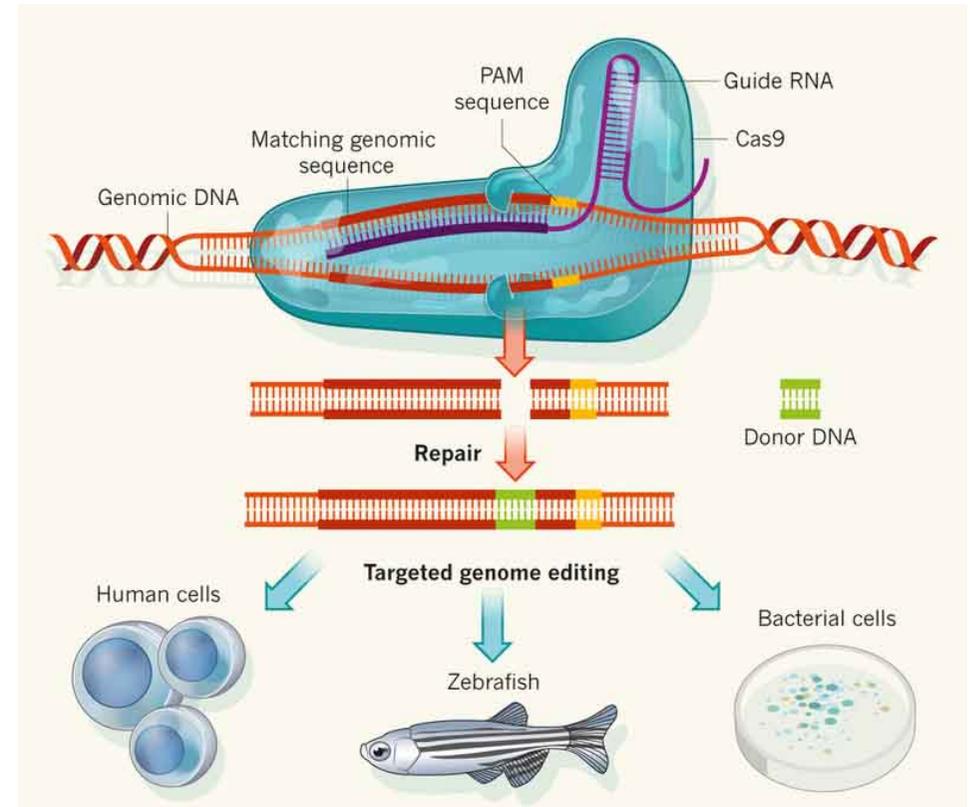
Cependant, le transfert aux filles Rett est un défi. MeCP2 est nécessaire dans toutes les régions du cerveau afin que le gène soit largement distribué. Dans le même temps, certaines cellules ont déjà des copies saines, de sorte que la surexpression est un risque. Le choix de la dose et du vecteur correct est vital. La toxicité dans les organes périphériques (foie) doit être contrôlée.

# Thérapie génique dans le syndrome de Rett

## Preuve de principe

- Pour démontrer que la thérapie génique peut guérir le syndrome de Rett chez les modèles animaux précliniques (souris)

# Thérapie génique dans le syndrome de Rett: Crispr:Cas9



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.

# Thérapie génique dans le syndrome de Rett: Crispr:Cas9



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.

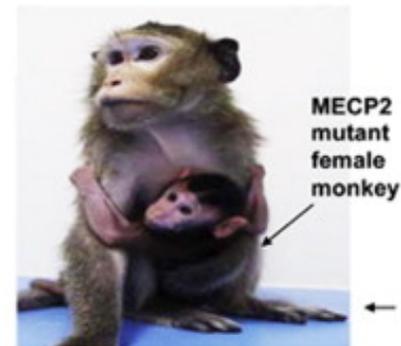
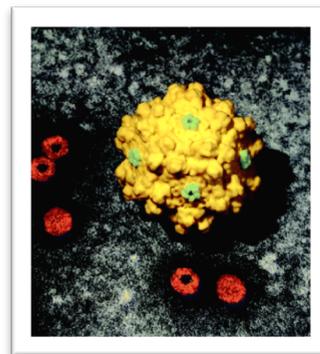
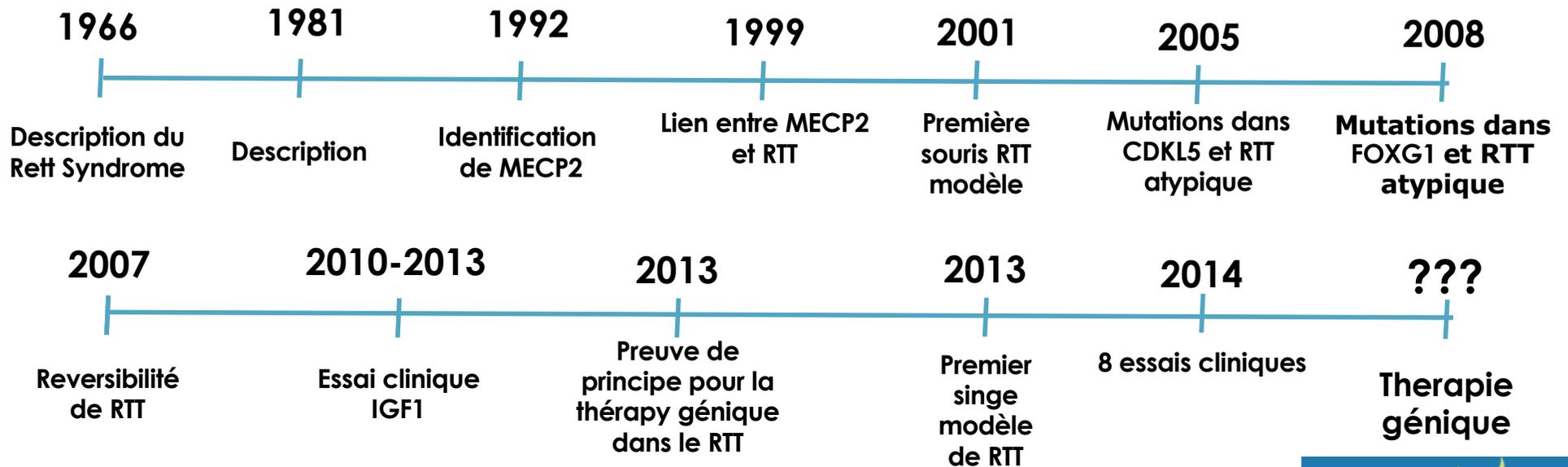


Sur des organismes vivant c'est plus compliqué car :

1) Crispr:Cas9 doit être embarqué dans des vecteurs viraux (au moins 2).  
Le taux de co-infection est très faible.

1) Les effets secondaires sont importants

# Dates clés dans le syndrome de Rett



Merci de votre attention!!



[Inserm U1251 – Aix marseille université](#)

Laurent Villard

Jean-Christophe Roux

Mathieu Milh

Yann Ehinger

Emilie Borloz

Camille Fulachier

Nicolas Panayotis

Valérie Matagne

Marie Solenne Felix

Lydia Saidi

Cecile Ravix

<http://www.germaco.net/>

