



**LA THÉRAPIE GÉNIQUE  
POUR LES MALADIES  
HÉMORRAGIQUES RARES**

**EN 12  
QUESTIONS**



Association française  
des hémophiles

# SOMMAIRE



**P4**

## **PARTIE 1 : Les bases de la thérapie génique**

- ▣ **Q1** : Quel est le principe de la thérapie génique ?
- ▣ **Q2** : Quels sont les différents vecteurs utilisés en thérapie génique ?
- ▣ **Q3** : Qu'est ce que la chirurgie du gène ?

**P10**

## **PARTIE 2 : L'application de la thérapie génique au traitement des maladies**

- ▣ **Q4** : Quelles sont les maladies traitées par la thérapie génique ?
- ▣ **Q5** : Pourquoi l'hémophilie est-elle une bonne candidate pour la thérapie génique ?
- ▣ **Q6** : Où en sont les essais cliniques en thérapie génique de l'hémophilie ?

**P16**

## **PARTIE 3 : Les questions des patients**

- ▣ **Q7** : Quels sont les problèmes inhérents aux modalités du traitement ?
- ▣ **Q8** : Quand le traitement sera-t-il disponible et pour quels malades ?
- ▣ **Q9** : La guérison sera-t-elle transmise à la descendance ? Peut-on traiter les embryons ?
- ▣ **Q10** : Peut-on traiter toutes les maladies hémorragiques rares par thérapie génique ?
- ▣ **Q11** : Que sera le coût d'un traitement par thérapie génique ?
- ▣ **Q12** : Quelle est la réglementation en matière de thérapie génique et quelles sont les questions éthiques soulevées ?

**Avec le soutien de :**

**B:OMARIN**



# EDITO

Après des années d'espoirs sans cesse repoussés, la possibilité d'être un jour guéri des maladies hémorragiques rares par la thérapie génique semble ne plus être un rêve pour devenir une réalité dans un futur proche.

Le Groupe de Travail « Recherche » de l'AFH a organisé le 20 Mai 2017 à Paris, une journée sur la thérapie génique intitulée « **La thérapie génique : espoir, rêve ou réalité ?** ».

Elle a réuni soixante-quinze participants, dont Alain Weill, président de la Fédération mondiale de l'hémophilie.

La matinée a été placée sous le signe de l'échange. Elle a été organisée en ateliers animés par les membres du groupe de travail « Recherche », pour exprimer questions, inquiétudes et espoirs.

L'objectif était de préparer chaque participant aux deux exposés de l'après-midi présentés par des conférenciers de renom :

Le **Pr Alain Fischer**, pionnier du domaine, membre de l'Académie des sciences et directeur de l'institut des maladies génétiques Imagine à l'hôpital Necker, qui a expliqué les bases et l'historique de la thérapie génique.

Le **Dr Federico Mingozzi**, PhD, chercheur au Généthon (le laboratoire de l'AFM/Téléthon) qui a travaillé dans le domaine plusieurs années aux USA, qui a présenté l'historique puis l'avenir de la thérapie génique de l'hémophilie.

Un débat très animé a suivi ces présentations avec de nombreuses questions et réponses.

Ces conférences et les débats qui ont suivi ont été enregistrés puis retranscrits. Cette brochure présente une synthèse de cette retranscription dans le but de faire partager au plus grand nombre les informations et les questionnements recueillis au cours de cette journée sur ce thème porteur d'espoir.



**Geneviève PIETU**

*Responsable du Groupe de Travail Recherche de l'AFH*



## LES BASES DE LA THÉRAPIE GÉNÉTIQUE

### Quel est le principe de la thérapie génique ?

Jusqu'à présent, le seul moyen de soigner les maladies génétiques était d'apporter au malade la protéine manquante, soit en la prélevant dans un autre organisme, soit en la fabriquant à l'aide du génie génétique. Par exemple, dans le cas de l'hémophilie, le traitement consiste à apporter le facteur de coagulation manquant (FVIII ou FIX) qui est soit d'origine plasmatisque, soit une protéine recombinante obtenue par génie génétique.

Aujourd'hui grâce aux avancées techniques dans le domaine médical, il est envisageable de soigner les patients autrement, par **thérapie génique**.

Le principe de la thérapie génique est d'apporter une **copie saine du gène** dans les cellules du malade, voire dans les années à venir de **corriger le gène malade** directement dans les cellules du patient (chirurgie du gène).

**Ce concept, bien que très simple dans son principe, n'a émergé que vers 1970 quand les chercheurs ont commencé à avoir les outils permettant de transporter des gènes jusque dans des cellules.**

### Les étapes d'une thérapie génique

Le pré-requis pour pouvoir envisager d'utiliser la thérapie génique pour traiter une maladie est d'avoir **identifié le gène** qui en est responsable.

Il faut ensuite isoler en laboratoire un gène normal, fonctionnel, et c'est celui-ci qui servira de « **gène médicament** ».

Puis il faut construire un véhicule que l'on appelle un « **vecteur** » qui permette

de transporter ce gène médicament de l'extérieur vers l'intérieur de la cellule malade car il ne peut pas y entrer spontanément.

Il faut ensuite s'assurer de l'efficacité et de l'absence de toxicité du produit dans des modèles animaux de la maladie.

L'étape ultime est de produire la protéine manquante dans les cellules du malade.

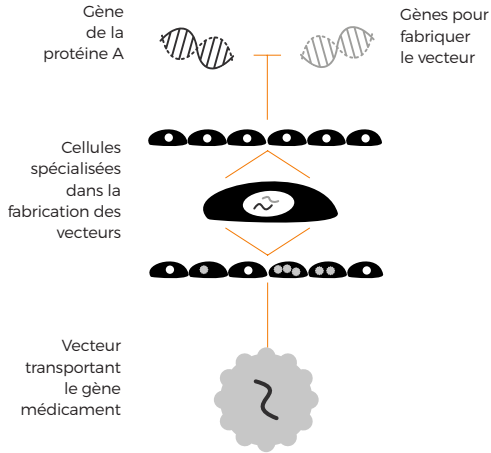
**1** Pré-requis  
Connaître le gène  
responsable de la maladie



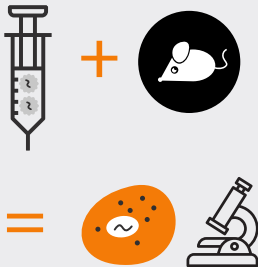
**2** Isoler le gène normal  
= « Gène médicament »



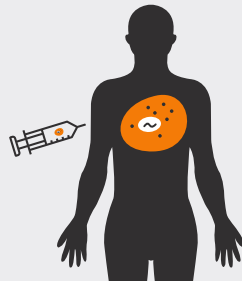
**3** Fabriquer des transporteurs  
de ce gène = Vecteurs



**4** Tester l'efficacité et la toxicité du vecteur  
dans des modèles de la maladie



**5** Injecter le vecteur chez l'homme



## L'entrée du vecteur dans la cellule

Dans la nature, les véhicules pouvant transporter de l'ADN existent : **ce sont les virus**. Ainsi, la majorité des stratégies de thérapie génique reposent sur l'utilisation de virus.

Même si le principe de cette thérapie est extrêmement simple, un certain nombre de difficultés doivent être résolues pour permettre sa mise en oeuvre.

Il y a **quatre étapes cruciales** préalables à franchir pour modifier une cellule :

**1- Fixer le virus à la surface de la cellule** puis le faire pénétrer dans celle-ci. Dans certains cas, il faut viser spécifiquement les cellules qui fabriquent la protéine anormale. Par exemple, le muscle dans le cas des myopathies, des cellules de la rétine pour des maladies de la vision ou les cellules du foie pour l'hémophilie.

**2- Prévenir la dégradation du matériel génétique** par les enzymes de la cellule une fois qu'il y est rentré

et permettre que, dans certains cas, il pénètre dans le noyau et y persiste en s'intégrant dans un chromosome.

**3- Obtenir la protéine fonctionnelle en quantité suffisante** pour avoir un effet biologique bénéfique pour traiter la maladie.

**4- S'assurer que l'organisme accepte cette nouvelle molécule.** Il y a en effet un risque que la protéine du virus ou celle du gène médicament soit reconnue comme un produit étranger par les cellules du système immunitaire et que ce dernier la rejette et la détruise. Cette difficulté est d'intensité variable en fonction des problématiques.

**Pour être efficace, chacune de ces 4 étapes doit être validée, ce qui explique le nombre important de tentatives réalisées avant d'arriver aux premiers résultats.**

## L'administration du traitement aux patients

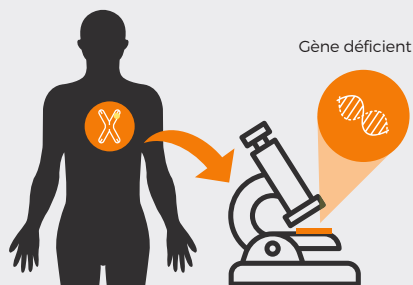
Le traitement peut être administré de deux façons (voir ci-contre) :

**Ex vivo** : Des cellules du patient sont prélevées puis mises en présence des vecteurs contenant le gène médicament. Les cellules intègrent le gène médicament dans leur cytoplasme ou dans leur chromosome puis sont réinjectées au patient par voie intraveineuse. Cette technique est surtout utilisée pour traiter les pathologies liées au sang et à la moelle osseuse

**In vivo** : Le vecteur contenant le gène médicament est directement injecté au patient dans la circulation. Le vecteur se fixe sur les cellules cibles, et, comme

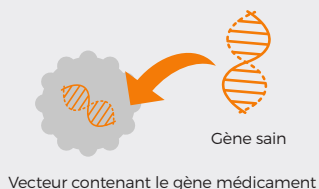
précédemment le gène médicament se retrouve soit dans le cytoplasme soit intégré au chromosome de la cellule. La protéine correspondant au gène médicament est ainsi fabriquée par l'organisme du patient.

**En conclusion, pour arriver à terme à produire un médicament de thérapie génique, il faut trouver le bon vecteur pour transférer le gène médicament, atteindre le bon tissu dans l'organe ciblé, avoir la possibilité de produire le vecteur en grande quantité puis obtenir toutes les autorisations réglementaires pour démarrer des essais cliniques.**



**1** Le gène responsable de la maladie est identifié. Le but étant de le remplacer par le gène sain.

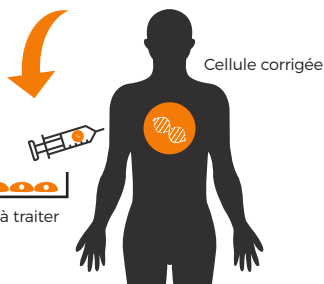
**2** Un vecteur est utilisé pour introduire le gène sain dans la cellule et remplacer le gène défectueux



**Ex vivo**



**3** Les cellules à traiter sont extraites de l'organisme, on leur transfère le gène-médicament via le vecteur



**4** Les cellules corrigées sont réinjectées chez le malade.



**In vivo**

Le gène médicament est directement apporté par injection intra-musculaire ou par voie sanguine dans l'organisme. Il devra alors pénétrer dans la cellule malade pour la corriger.

**3**



Cellule corrigée

## Quels sont les différents vecteurs utilisés en thérapie génique ?

En fonction des pathologies à soigner ou des cellules ciblées, on utilise différents types de vecteurs regroupés en deux grandes familles : les vecteurs non viraux et les vecteurs viraux.

### Les différents vecteurs

**Les vecteurs non viraux** sont principalement des molécules chimiques qui facilitent la traversée de la membrane des cellules par l'ADN. Ces molécules sont facilement purifiées et présentent peu de caractère pathogène.

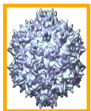
**Les vecteurs viraux** sont des virus auxquels on enlève les protéines potentiellement dangereuses. Seuls sont conservés les éléments du virus qui permettent le cycle d'infection au cours duquel celui-ci se lie à la membrane de la cellule cible pour y injecter son ADN.

- Les rétrovirus** sont des vecteurs qui intègrent le gène qu'ils transportent dans le chromosome de la cellule qu'ils infectent. Ainsi le nouveau gène est transmis de la cellule mère aux cellules filles, ce qui permet son expression de façon durable chez le patient.

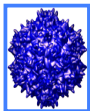
- Les adénovirus** pour leur part, insèrent la nouvelle information génétique dans la cellule sans l'intégrer au génome. Ceci induit une expression du gène moins pérenne, limitant l'intérêt d'utiliser ces virus. De plus, il a été constaté que les vecteurs à base d'adénovirus peuvent conserver un caractère potentiellement pathogène.
- Les virus adéno-associé ou AAV** (pour *Adeno Associated Virus*) sont également utilisés comme vecteurs. Du fait de leur faible dangerosité pour l'homme et de leur capacité à infecter une grande variété de types cellulaires, ils représentent un intérêt certain pour la thérapie génique. Ils sont utilisés pour transférer des gènes médicaments de petite taille qui ne sont pas intégrés au génome de la cellule hôte. De plus, ils sont très faciles à produire, ce qui est primordial pour développer des médicaments. **Il existe plusieurs types d'AAV, chacun infectant plus spécifiquement un type de cellules données (foie, muscle, cerveau...).**

### Les vecteurs AAV sont dérivés de virus de la nature :

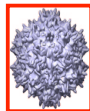
Famille de parvovirus | Génome d'ADN | Non-pathogène | Relativement facile à produire



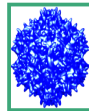
AAV-2  
RÉTINE



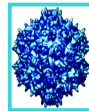
AAV-8  
COEUR ET  
FOIE



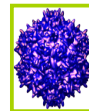
AAV-1  
MUSCLE



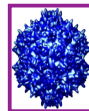
AAV-6  
MUSCLE



AAV-7  
MUSCLE



AAV-5  
RÉTINE,  
POUMON ET  
CERVEAU



AAV-9  
CERVEAU,  
COEUR ET  
FOIE

D'après Fanny Collaud, Généthon

**Les premiers essais cliniques AAV ont eu lieu à la fin des années 1990. Toutefois une large proportion de la population humaine est naturellement immunisée contre certains AAV, ce qui ne permet pas l'usage d'un AAV unique pour traiter tous les patients.**

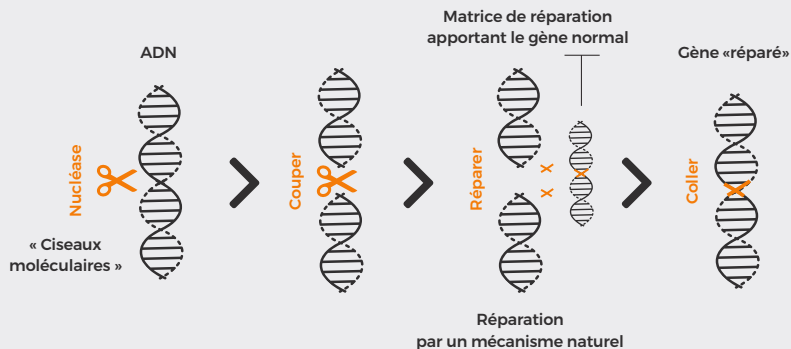


## Qu'est ce que la chirurgie du gène ?

Le but ultime du traitement des maladies génétiques par la thérapie génique sera de corriger la mutation du gène dans la cellule où elle est présente, c'est-à-dire dans son environnement naturel.

Récemment, de nouvelles techniques d'ingénierie génomique ont vu le jour dont le principe est d'utiliser des protéines qui permettent de couper l'ADN à un endroit précis du génome afin d'enlever le gène malade et d'insérer à la place le gène médicament.

Nous connaissons aujourd'hui des dérivés de la nature (plantes ou bactéries) et plusieurs types de protéines qui ont cette propriété. Ce sont des **nucléases** qui agissent comme des « **ciseaux moléculaires** ». Elles peuvent être modifiées en y ajoutant des protéines ou de l'ARNm afin de les diriger à un endroit précis parmi les 3 milliards de bases du génome. Cette prouesse est accessible aujourd'hui, notamment grâce à un système appelé **CrispR Cas9**.



Simple et performants, ces « ciseaux moléculaires » permettent de faire ces coupures. Le gène normal est ensuite introduit dans la cellule puis intégré, là où il y a eu la coupure, grâce à un mécanisme naturel de réparation présent dans la cellule.

On rétablit alors une situation absolument normale. Aujourd'hui, nous savons couper le chromosome là où il faut, mais pas à une échelle suffisante en terme de nombres de cellules pour pouvoir l'appliquer en thérapeutique.

De plus, ces ciseaux moléculaires, bien que très précis, peuvent aussi parfois se tromper, ce qui risque de provoquer une anomalie qui pourrait par exemple donner naissance à un cancer.

**Les progrès considérables qui sont faits presque chaque semaine sur le développement de nouveaux ciseaux devraient permettre rapidement de résoudre ces difficultés.**

## L'APPLICATION DE LA THÉRAPIE GÉNIQUE AU TRAITEMENT DES MALADIES

*Ce domaine est particulièrement actif en terme de recherche et les publications scientifiques sur la thérapie génique sont abondantes (3000 publications/an depuis le milieu des années 1980). Malgré ce grand nombre d'études, les succès sont encore peu nombreux. Aujourd'hui, le nombre de maladies traitées par cette technique reste faible.*

### Quelles sont les maladies traitées par la thérapie génique ?

Les premières maladies ayant bénéficié de thérapies géniques sont les pathologies touchant le système immunitaire.

Le premier traitement a eu lieu en 1999. Vingt malades avaient été traités avec des résultats très encourageants puisque 18 enfants sont en vie aujourd'hui, dont 17 avec un système immunitaire qui fonctionne. C'est donc la preuve que la thérapie génique peut corriger une maladie génétique sur la durée. Ce sont les fameux « **bébés bulles** », dont l'appellation vient de l'enveloppe transparente où ils étaient protégés durant le traitement pour éviter toute infection, le temps de reconstituer leur système immunitaire, ce qui prend entre 3 et 4 mois.

Malheureusement, le système n'était pas parfait parce que l'intégration du gène médicament dans le génome n'était absolument pas contrôlée. De fait, 5 enfants parmi les premiers traités avaient développé une complication grave : la leucémie.

La thérapie génique pouvait donc être dangereuse et il était impératif de se donner les moyens d'éviter ces complications. En conséquence, les essais avaient été arrêtés en 2003.

En fait, ce problème n'avait pas totalement été anticipé parce que, à l'époque, on ne savait pas ce nous savons aujourd'hui, c'est-à-dire que le matériel génétique du rétrovirus ne s'insère pas au hasard dans le génome, mais très souvent à l'intérieur d'un gène, ce qui peut gravement perturber son fonctionnement.

Une fois ce mécanisme compris, la question fondamentale a été alors de prévenir ces risques avec des technologies plus sûres, notamment au niveau des vecteurs.

Aujourd'hui, les technologies se développent et les principales applications concernent **un certain nombre de maladies génétiques du sang, de l'œil, du foie et les maladies neuro-musculaires** mais aussi des maladies qui ne sont pas d'origine génétique comme des cancers.

À ce jour, **3 médicaments ont été récemment commercialisés.**

**En conclusion, ces thérapeutiques commencent à présenter quelques succès, ce qui laisse espérer qu'elles vont se développer dans les prochaines années et permettre de traiter davantage de pathologies.**

## Pourquoi l'hémophilie est-elle une bonne candidate pour la thérapie génique ?

L'hémophilie est un **bon candidat** pour la thérapie génique.

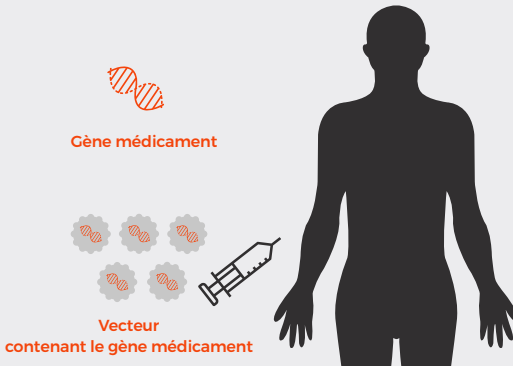
Tout d'abord, parce que la maladie est provoquée par un seul gène, celui du FVIII ou celui du FIX.

Ensuite, parce que, pour améliorer les conséquences délétères de la maladie, il n'est pas nécessaire d'avoir 100 % de l'activité coagulante.

En effet, **une activité, même modeste, sur le taux du facteur de coagulation** aura un effet notable sur la fréquence des saignements et la qualité de vie du malade.

Les intérêts et les effets bénéfiques de la thérapie génique pour le traitement de l'hémophilie sont multiples.

### Intérêts de la thérapie génique pour traiter l'hémophilie



- Injection unique
- Maintien d'un taux constant du facteur de coagulation dans le sang
- Prévention plutôt que traitement des saignements
- Amélioration de la qualité de vie
- Transforme une forme sévère de la maladie en forme modérée voire même mineure
- Potentiellement accessible au plus grand nombre

D'après Federico Mingozzi, Généthon

D'un point de vue technologique, on est capable de cibler plusieurs tissus tels que les cellules souches ou le foie qui pourront fabriquer le facteur de coagulation attendu.

De plus, il existe des modèles animaux de la maladie qui permettent de tester les « gènes médicaments » à un stade plus précoce des recherches.

**Aujourd'hui, tous les outils pour créer des vecteurs de thérapie génique pour transporter le gène du FIX ou du FVIII dans les cellules du malade existent, ce qui a permis d'entreprendre les premiers essais cliniques de thérapie génique pour l'hémophilie.**

## Où en sont les essais cliniques en thérapie génique de l'hémophilie ?

**La thérapie génique de l'hémophilie a vu le jour il y a une vingtaine d'années. Des essais cliniques pour l'hémophilie A et B ont eu lieu avec différentes générations de vecteurs, mais ce n'est que récemment que l'on a pu observer des premiers résultats prometteurs.**

Dans la plupart des essais, l'**approche cible le foie** pour transférer le gène médicament dans les cellules hépatiques. En effet, le foie est l'usine qui fabrique les protéines de la coagulation.

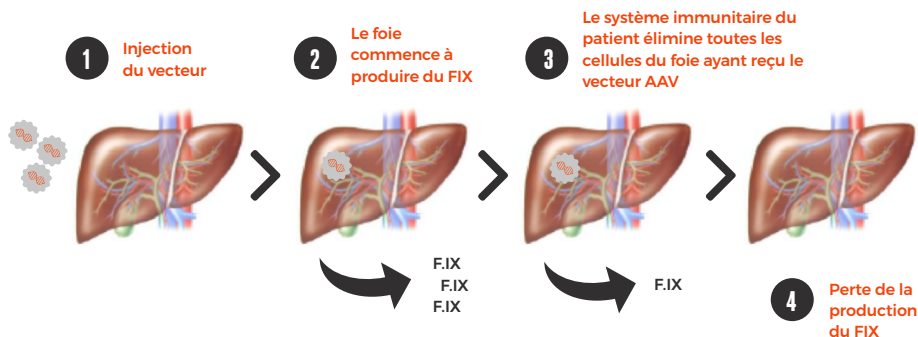
Sur le principe, il s'agit simplement d'injecter un vecteur AAV contenant le gène du FVIII ou du FIX dans la circulation. Cette thérapie n'est donc pas invasive.

De plus, des données d'études sur d'autres maladies montraient que cette approche était plutôt efficace et avec peu d'effets secondaires.

### Hémophilie B

L'une des premières études réalisées chez un chien atteint de l'hémophilie B, avec un vecteur AAV utilisé pour cibler le foie, avait été couronnée de succès puisque le FIX s'exprimait encore, à des niveaux compris entre 6 et 8 %, 10 ans après une seule injection initiale. Malheureusement, ces résultats n'ont pas été directement transposables chez l'homme.

En effet, dans le premier essai de thérapie génique chez l'homme, l'expression du FIX ne perdurait pas et il y avait une augmentation des enzymes hépatiques traduisant un effet toxique sur le foie. Le problème venait d'une réponse immunitaire contre le virus utilisé, le système immunitaire ayant tué toutes les cellules du foie infectées par le vecteur, d'où la perte complète de l'expression du FIX et de l'efficacité à long terme.



Le système immunitaire du patient élimine toutes les cellules du foie ayant reçu le vecteur AAV ce qui entraîne une perte de la production du FIX

D'après Federico Mingozzi, Généthon

Les études ont été poursuivies montrant que l'inflammation du foie pouvait être traitée avec des corticoïdes, ce qui a été suffisant pour ne pas perdre totalement l'expression du FIX sur le long terme. C'était donc une solution plutôt simple au problème de la réponse immunitaire contre le vecteur.

### Les premiers résultats

Une première preuve d'efficacité de la méthode avait été publiée dès 2011<sup>1</sup>, puis en 2014<sup>2</sup>. Une dizaine de malades avaient été traités permettant la production d'un taux de FIX circulant autour de 5%. Environ la moitié d'entre eux avaient pu arrêter leur prophylaxie. Aujourd'hui, nous avons un recul de 7 à 8 ans sur ces études, le taux de FIX se maintient et tous ceux qui ont reçu la dose la plus forte de vecteur continuent à ne plus utiliser les traitements conventionnels. Très récemment, une équipe hollandaise a obtenu le même type de résultats.

### Ce qu'on a appris

Ces études nous ont beaucoup appris, notamment qu'il était possible de cibler le foie avec les virus AAV injectés par voie intraveineuse et que la maladie pouvait être corrigée sur le long terme. Cependant, il faut continuer à suivre ces patients.

### Où en est-on aujourd'hui ?

Une troisième génération de vecteurs a vu le jour récemment. Elle est basée sur l'utilisation d'un FIX jusqu'à 10 fois plus actif que le FIX normal, découvert chez un patient qui n'était pas hémophile mais qui présentait une thrombose avec un niveau d'activité coagulante d'environ 800 %. Des chercheurs ont inséré ce gène du FIX « hyperactif », appelé FIX « Padoue », dans un virus AAV pour avoir un gène médicament beaucoup plus puissant. Des données publiées récemment<sup>3</sup> indiquent que ce vecteur modifié, injecté chez l'homme, permet d'obtenir des niveaux d'activité de FIX autour de 30 % pour les 10 patients traités. Cette expression est stable dans le temps et n'entraîne pas de toxicité hépatique ni d'autres effets secondaires.

**Les résultats concernant l'hémophilie B sont donc vraiment prometteurs. Les essais cliniques vont se poursuivre sur un plus grand nombre de malades et devraient permettre d'arriver à des traitements dans un avenir proche.**

[1] Nathwani et coll, N Engl J Med, 2011; 365: 2357-65

[2] Nathwani et coll, N Engl J Med, 2014; 371: 1994-2004

[3] George et coll, N Engl J Med, 2017; 377: 2215-27

# INTERVIEW DE SEBASTIAN MISZTAL

PATIENT AYANT PARTICIPÉ AU PREMIER ESSAI CLINIQUE POUR L'HÉMOPHILIE B

En 2011, une équipe anglo-américaine rendait publiques ses recherches sur la thérapie génique (voir page 13).

Adam Sumera, membre de l'Association polonaise des hémophiles, a rencontré Sebastian Misztal, patient polonais hémophilie B installé en Grande-Bretagne, pour l'interroger sur sa participation à ces essais cliniques de thérapie génique<sup>4</sup>.

## EXTRAIT

**Adam Sumera :** Comment as-tu participé à l'étude clinique de thérapie génique ? Quelles étaient les exigences des organisateurs ?

**Sebastian Misztal :** En tant que patient de l'hôpital de Hampstead, j'avais le plaisir de connaître les « pères » de la thérapie génique : un directeur retraité de cet hôpital, le Pr Edward Tuddenham, et le Dr Amit Nathwani. Ils m'ont parlé de leurs recherches et de la nouvelle étape des études cliniques. Ils m'ont dit qu'ils cherchaient des volontaires, ou plutôt un premier volontaire qui croirait en leurs études et « prendrait le risque ». Les exigences étaient assez compliquées : être atteint bien sûr d'hémophilie B, bénéficier d'un bon état de santé général (avant tout un bon foie), ne pas produire d'anticorps contre le vecteur injecté pour la thérapie génique, et bien d'autres encore.

**A. S. :** Tu as mis beaucoup de temps pour prendre ta décision ?

**S. M. :** Je n'ai pas beaucoup réfléchi à ma participation au programme, malgré les informations sur le risque possible, malgré le risque même de perdre la vie. Mes connaissances dans le domaine de la biologie et de la génétique, bien que limitées, m'ont permis d'arriver à la conclusion que le risque était petit alors que les possibilités étaient énormes – même si je savais que les dégradations articulaires de mes chevilles ne pourraient pas reculer. Dès la première injection, mon taux de facteur IX a augmenté !

**A. S. :** Il s'agissait uniquement d'améliorer ton état de santé ?

**S. M. :** En participant à la thérapie, j'ai plutôt pensé aux autres malades et aux enfants qui, dans le monde entier, comme moi autrefois en Pologne, passent leur enfance et leur adolescence sans prophylaxie : ainsi, tout ce que j'avais vécu pourrait leur être épargné grâce à une seule piqûre... Cela valait-il la peine de prendre des risques ? J'ai considéré que cela en valait largement la peine. Et j'avais raison.

**A. S. :** Combien de temps a duré le programme et comment s'est-il déroulé ?

**S. M. :** Le programme a commencé par les analyses préliminaires – toutes les analyses sanguines possibles ont été réalisées, et par des examens du foie. Cette étape n'était pas pesante. L'intensité des analyses juste avant le protocole a été un peu plus fatigante, parce que je devais aller à l'hôpital assez souvent et que cela perturbait ma vie quotidienne. Le temps de l'injection du vecteur durait deux heures, et j'ai pourtant dû rester en observation à l'hôpital pendant toute une journée.

Après l'injection, je devais me présenter à l'hôpital tous les jours pendant deux semaines, puis de plus en plus rarement (deux fois par semaine, puis une fois par mois, etc.). Cette étape n'était pas très confortable, toutefois je trouve que ça en valait la peine.

RETROUVEZ L'INTÉGRALITÉ DE L'INTERVIEW SUR [WWW.AFH.ASSO.FR](http://WWW.AFH.ASSO.FR)

[4] Traduction de Bernadetta Pieczyńska, membre du conseil d'administration de l'Association polonaise des hémophiles.



## Hémophilie A

Le traitement de l'hémophilie A par thérapie génique a longtemps été retardé par la grande taille du gène du FVIII qui ne lui permettait pas d'être inséré dans les vecteurs AAV. Pour remédier à ce problème, le gène du FVIII inséré dans le vecteur est délété de sa partie centrale, le domaine B, qui permet de réduire sa taille sans perte de son activité coagulante.

A ce jour, les résultats d'une seule étude ont été publiés<sup>5</sup>. Chez 7 des 9 patients traités, les données montrent des niveaux d'expression du FVIII très forts, mais avec des doses de vecteurs élevées qui ont entraîné une toxicité pour le foie chez tous les malades.

Il reste à étudier le suivi au long terme de ces patients, et à poursuivre les études sur un grand nombre de patients, mais ces résultats sont plutôt encourageants.

[5] Rangarajan et coll. N Engl J Med, 2017; 377: 2519-30

**D'autres études ou essais cliniques sont en cours dans plusieurs laboratoires avec différents types de vecteurs :** [afh.asso.fr/wp-content/uploads/2017/09/AFH-Tableaux-recherche-A3-plié.pdf](http://afh.asso.fr/wp-content/uploads/2017/09/AFH-Tableaux-recherche-A3-plié.pdf)

### Résumé des essais cliniques en thérapie génique

#### HÉMOPHILIE A

- ▣ Déficit en FVIII de la coagulation

##### Gène médicament

- ▣ FVIII tronqué



**Vecteur AAV5**  
contenant  
le gène  
du FVIII



##### Doses de vecteurs injectées

- ▣ Faible : 1 patient
- ▣ Intermédiaire : 1 patient
- ▣ Forte : 7 patients

##### Résultats observés

- ▣ Effet de seuil : L'activité du FVIII n'augmente (> 50 %) qu'à forte dose de vecteur
- ▣ Diminution des saignements

#### HÉMOPHILIE B

- ▣ Déficit en FIX de la coagulation

##### Gène médicament

- ▣ FIX hyperactif « Padoue »



**Vecteur AAV**  
Spark100 contenant  
le gène du FIX «Padoue»



##### Dose de vecteur injectée

- ▣ Faible : 10 patients

##### Résultats observés

- ▣ L'activité du FIX est d'environ 30% pour tous les patients
- ▣ Diminution des saignements



Adapté de Pickar et Gersbach, Nature Medecine 2018

## LES QUESTIONS DES PATIENTS



*Les résultats des premiers essais cliniques pour traiter l'hémophilie par thérapie génique semblent très prometteurs. Cependant de nombreuses questions demeurent et ont été soulevées durant notre journée du 20 mai 2017. Certaines ont trouvé des réponses, d'autres sont encore en suspens.*

### **Quels sont les problèmes inhérents aux modalités du traitement ?**

#### **EN CAS D'ÉCHEC DU TRAITEMENT, POURRA-T-ON RENOUVELER L'INJECTION DU VECTEUR ?**

En thérapie génique, on parle toujours **d'injection unique**.

En effet, le principe est d'injecter une seule fois le vecteur pour « guérir » le malade et lui assurer un niveau de facteur de coagulation dans la circulation suffisant pour empêcher les saignements sur le long terme au cours des années.

Aujourd'hui, avec un recul de 7 à 8 ans lors des essais cliniques dans le traitement de l'hémophilie B, l'expression du FIX dans la circulation se maintient à un niveau constant.

La question qui se pose est de savoir ce qu'il sera possible de faire si **l'expression du facteur de coagulation diminue dans le temps ou même disparaît** au bout de 10 ou 15 ans ? **L'injection pourra-t-elle être renouvelée ?**

Cette question d'une deuxième injection du vecteur est régulièrement débattue lors des congrès mondiaux de thérapie génique.

**Aujourd'hui, avec les techniques utilisées, une deuxième injection n'est pas possible.**

En effet, lors de la première injection, le malade ayant fabriqué des anticorps contre les protéines du vecteur, ceux-ci la rendrait inefficace.

**Des études sont en cours pour tenter de résoudre ce problème en changeant le virus lui-même ou en agissant sur la réponse du système immunitaire.**

**Ce sera la prochaine étape de la thérapie génique.**

#### **DOIT-ON CONTRÔLER LE NIVEAU D'EXPRESSION DU GÈNE MÉDICAMENT ?**

Le risque d'une **surexpression** n'est pas majeur. A l'heure actuelle, la meilleure solution est de moduler la dose de vecteur injecté.

Pour le futur, des approches de chirurgie du gène permettront peut-être de régler ce risque. En effet, si l'on arrive à placer le gène au bon endroit, on se rapprochera d'une régulation normale.



### EXISTE-T-IL D'AUTRES VECTEURS QUE LES AAV?

Il existe des **vecteurs synthétiques** tels que les nanoparticules liquides dont l'ARNm produit la protéine que l'on souhaite produire.

Par ailleurs, la **thérapie cellulaire** consiste à développer des hépatocytes normaux dérivés de cellules souches du foie. Ces hépatocytes sont incorporés dans le foie du patient et le principe est le même que pour une greffe : il faut avoir une immunosuppression pour éviter le rejet.

Dans ces 2 cas, l'expression du facteur est temporaire et cela nécessite de renouveler les injections.

Comme présenté plus haut, il existe aussi des vecteurs rétroviraux. Ceux-ci n'ont pas encore été utilisés dans le cadre des essais pour le traitement de l'hémophilie.

### POURQUOI ET PENDANT COMBIEN DE TEMPS LES PATIENTS DOIVENT-ILS PRENDRE DES CORTICOÏDES ?

Chez les patients traités, la **prise de corticoïdes** est nécessaire lorsque le taux des enzymes hépatiques augmente, traduisant une **toxicité hépatique du vecteur** injecté. Le protocole standard est de donner des corticoïdes durant 4 semaines puis de baisser lentement cette posologie. Dans les essais cliniques de l'hémophilie B, il y avait besoin de corticoïdes dans les premières études où la dose de vecteur injecté était forte. Dans les études plus récentes, avec des doses de vecteurs plus faibles, pour la plupart des malades, la prise de corticoïdes n'a pas été nécessaire. Cependant, il est difficile de généraliser des conclusions car les médicaments de thérapie génique sont très complexes et la réponse immunitaire variable selon les malades.

### QUEL EST LE DÉLAI D'EXPRESSION DU FACTEUR DE COAGULATION APRÈS INJECTION ET SA DURÉE D'EFFICACITÉ ?

Pour l'hémophilie B, l'expression du FIX a lieu environ 2 semaines après l'injection du vecteur. Pour l'hémophilie A, dans le seul essai clinique qui a été publié, il a fallu plusieurs semaines pour atteindre le taux maximal d'expression du FVIII.

Il faut espérer que l'effet de l'injection de vecteur durera plusieurs années, ou même toute la vie. Chez l'homme, le recul est de 7 à 8 ans par rapport aux premiers essais cliniques en hémophilie B.

### LA THÉRAPIE GÉNÉRIQUE ENTRAÎNE-ELLE UN RISQUE DE DÉVELOPPER UN INHIBITEUR ?

Théoriquement, avec la thérapie génique ciblée sur le foie, le risque de développer un inhibiteur contre le facteur de coagulation produit (FVIII ou FIX) est moindre que dans le traitement conventionnel. Actuellement, toutes les études chez les chiens hémophiles ou chez l'homme indiquent **un risque vraiment faible de développer des inhibiteurs** avec un traitement par thérapie génique.

## LES PATIENTS AYANT DÉJÀ DÉVELOPPÉ UN INHIBITEUR POURRONT-ILS BÉNÉFICIER DE LA THÉRAPIE GÉNÉRIQUE ?

Jusqu'à présent, tous les essais cliniques de thérapie génique incluaient des sujets qui avaient déjà été traités avec les facteurs de coagulation classiques et qui n'avaient pas de risque d'inhibiteur.

Une étude pré-clinique chez le chien hémophile A avec inhibiteur a démontré que la thérapie génique qui cible le foie entraîne une expression constante du facteur FVIII et qu'il est possible **d'éliminer l'inhibiteur**. Bien sûr, il reste à vérifier que ces résultats prometteurs pourront également être constatés lors d'essais chez l'homme, mais il semble donc que cela soit possible, comme si la protéine qui est produite dans le foie du patient est acceptée par le système immunitaire : il y aurait alors une **tolérance immune**.

## QUELS SONT LES RISQUES DE LA THÉRAPIE GÉNÉRIQUE : PROBLÈMES HÉPATIQUES, CANCER ?

Actuellement, le problème majeur est celui de la **réponse immunitaire** contre les protéines du vecteur. Dans ce cas, le système immunitaire tue les hépatocytes infectés par le virus de thérapie génique entraînant une augmentation des enzymes hépatiques. Le risque est alors de perdre l'expression du facteur de coagulation et de l'efficacité du traitement à long terme. Cependant, comme nous l'avons vu plus haut, cette inflammation du foie n'est pas observée chez tous les patients et peut être traitée transitoirement avec des corticoïdes ce qui paraît suffisant pour ne pas perdre totalement l'expression du facteur de coagulation.

En ce qui concerne le risque de cancer, il n'est pas nul mais très faible. Au niveau des études chez les grands animaux comme le chien et le singe, aucun cancer n'a été observé.

Lorsque **des vecteurs AAV** sont utilisés, l'ADN n'est pas intégré dans les chromosomes ce qui diminue leur dangerosité. Avec la génération de **vecteurs rétroviraux** utilisés aujourd'hui, aucun cancer n'a été observé dans les essais cliniques entrepris pour traiter différentes maladies.

**Pendant, un suivi à long terme est nécessaire et on aura une meilleure visibilité des risques quand davantage de patients auront été traités.**

## Quand le traitement sera-t-il disponible et pour quels malades ?

*C'est une question à laquelle il est toujours difficile de répondre pour un chercheur ou un médecin. On parlait déjà d'accès à la thérapie génique, il y a plus de 20 ans... Aujourd'hui, les résultats sont très prometteurs pour l'hémophilie B et des produits de thérapie génique pourraient être disponibles d'ici 5 à 10 ans. Pour l'hémophilie A, les essais commencent chez l'homme. Il est donc difficile de donner une date mais il faudra sans doute encore plusieurs années. Cependant, les progrès sur une maladie ne sont pas linéaires. Toutes les études réalisées en thérapie génique sur d'autres maladies font progresser celles sur l'hémophilie et réciproquement. Aujourd'hui, nous sommes dans une phase d'accélération des progrès permettant d'aboutir à ces traitements.*

### TOUS LES MALADES PEUVENT-ILS BÉNÉFICIER DE LA THÉRAPIE GÉNIQUE ?

Avec les techniques disponibles aujourd'hui, **toute une population de malades n'est pas éligible à la thérapie génique.**

Tout d'abord, comme cela a été dit précédemment, les vecteurs AAV utilisés sont dérivés d'un virus qui infecte l'homme et certains sujets ont déjà développé **des anticorps contre ces vecteurs** ce qui empêche de pratiquer la thérapie génique. D'où l'idée de travailler sur d'autres vecteurs possibles (nanoparticules) ne présentant pas cette limite.

La question de traiter **les enfants atteints d'hémophilie** par thérapie génique est posée. Tout d'abord, il faut examiner les facteurs de sécurité et d'efficacité qui doivent être parfaitement maîtrisés chez l'adulte avant d'être testé sur l'enfant.

Le problème majeur rencontré pour traiter les enfants est que **les cellules du foie se divisent activement** et que cela pourrait entraîner une dilution du gène médicament dans la cellule, le rendant ainsi inefficace dans le temps. Ceci restera à vérifier.

Il faudra aussi déterminer à quel âge traiter les enfants.

Pour **les patients avec inhibiteurs**, comme cela a été évoqué plus haut, il semble que cela soit possible mais reste à vérifier.

**Les études se multiplient pour résoudre toutes ces limitations et révèlent chaque année des solutions applicables.**

### LA THÉRAPIE GÉNIQUE VA-T-ELLE REMPLACER LES TRAITEMENTS TRADITIONNELS ?

A l'heure actuelle, le taux de facteur de coagulation obtenu par thérapie génique reste encore inférieur au niveau normal. Cela veut dire qu'en cas d'accident hémorragique massif ou de chirurgie, le patient sera tout de même obligé de se traiter avec des produits protéiques classiques. Ce ne sera évidemment pas à la même fréquence que le traitement prophylactique actuel.

**Si on arrive à atteindre des niveaux normaux d'expression du facteur coagulant alors la thérapie génique sera évidemment le premier traitement. On pourra alors parler de guérison.**

## ***La guérison sera-t-elle transmise à la descendance ? Peut-on traiter les embryons ?***

Le traitement par thérapie génique, nous l'avons vu, pourra guérir le patient de sa maladie.

**La question souvent posée est de savoir si le malade « guéri » continuera à transmettre la maladie à sa descendance. La réponse est OUI !**

En effet, nous avons deux types de cellules dans notre corps : les cellules somatiques et les cellules germinales (ovules et spermatozoïdes). Les cellules somatiques ne sont pas transmises à nos enfants, donc si nous corrigeons une maladie génétique dans une cellule somatique, par exemple le foie, nous ne changeons rien à nos cellules sexuelles. Le risque de transmission d'une maladie restera donc le même.

La thérapie génique qui chercherait à modifier des cellules germinales est formellement interdite en France, parce qu'il est interdit de modifier le patrimoine génétique humain. De plus, cela modifierait non seulement le descendant direct mais aussi le patrimoine génétique des générations suivantes.

Avec les nouveaux ciseaux moléculaires ciblant l'ADN, on pourrait envisager de corriger directement les cellules de l'embryon. Mais il existe aujourd'hui le diagnostic pré-implantatoire (DPI) qui permet de sélectionner les embryons et de ne réimplanter que ceux qui ne sont pas atteints pour éviter la maladie. C'est cette dernière technique qui doit être privilégiée plutôt qu'une action sur l'embryon.

## Peut-on traiter toutes les maladies hémorragiques rares par thérapie génique ?

*Chaque maladie hémorragique rare est un cas particulier. Notamment, les caractéristiques liées à la taille du gène impliqué, aux types de cellules où a lieu la synthèse de la protéine anormale ou encore au niveau d'expression du gène médicament nécessaire pour voir un effet bénéfique devront être prises en compte et chaque étude devra s'adapter à ces différentes problématiques.*

### La maladie de Willebrand

La très grande taille du gène du facteur Willebrand est un obstacle majeur pour être intégré aux vecteurs utilisés actuellement.

Néanmoins, on a vu que l'on pouvait réduire la taille du gène du FVIII pour l'hémophilie A ou celui de la Dystrophine qui est un gène du muscle impliqué dans la myopathie de Duchenne, tout en conservant l'essentiel de la fonction. C'est du cas par cas, car cela peut marcher pour certaines protéines, mais pas pour d'autres. Il n'est pas sûr que cela puisse s'appliquer pour la maladie de Willebrand. Il faudra alors trouver d'autres stratégies pour faire rentrer le gène dans la cellule pour qu'elle fabrique un Facteur Willebrand fonctionnel.

### Les troubles plaquettaires

Le traitement des maladies plaquettaires se fera au cas par cas.

Aujourd'hui, la thérapie génique a été appliquée avec des résultats positifs au syndrome de Wiskott-Aldrich qui est à la fois un déficit immunitaire et une maladie avec des plaquettes anormales associées à des saignements.

La question de savoir si l'on peut transposer cette approche aux autres maladies des plaquettes doit être évaluée en termes de bénéfices / risques.

En effet, ce type de thérapie génique est basé sur l'utilisation des cellules souches de la moelle osseuse (capables de fabriquer les cellules du sang : globules rouges, globule blancs et plaquettes). Pour que la thérapie génique soit efficace, il faut une chimiothérapie préalable permettant de faire de la place dans la moelle osseuse pour enlever les cellules souches malades et les remplacer par de nouvelles. Pour les maladies des plaquettes où il n'y a pas de risque vital, c'est une question de progrès dans la sécurité et l'efficacité des approches de thérapie génique et il faut donc peser le pour et le contre.

***Sauf situation tout à fait exceptionnelle, il semble que nous n'ayons pas encore atteint le niveau de bénéfices / risques suffisant pour s'attaquer à ces maladies, mais nous n'en sommes probablement plus très loin.***

### Les troubles rares de la coagulation

A ce jour, aucune étude de thérapie génique n'a été entreprise pour les troubles rares de la coagulation. Chaque maladie sera une étude à part entière mais pourra bénéficier des progrès réalisés dans les autres pathologies.

## **Que sera le coût d'un traitement par thérapie génique ?**

Nous n'avons pas encore beaucoup de recul sur cette question. Cependant, les premiers traitements de thérapie génique commencent à arriver sur le marché et la première constatation que l'on peut faire est que leur prix est très élevé.

Le premier produit de thérapie génique commercialisé pour traiter l'hypercholestérolémie (Glybera) a été retiré du marché car jugé inefficace, mais il était proposé à un million de dollars. Deux médicaments de thérapie génique, approuvés aux Etats-Unis en 2017, l'un contre des lymphomes, l'autre contre une forme agressive de leucémie de l'enfant sont commercialisés pour 375 000 dollars (Yescarta) et 475 000 dollars (Kymriah) respectivement. Début 2018, un nouveau traitement contre la dégénérescence héréditaire de la rétine (Luxturna) a été autorisé aux Etats-Unis pour 850 000 dollars.

Les sommes proposées sont donc considérables. Le coût de ces médicaments n'a pas été basé sur le coût de la recherche mais est fondé sur le bénéfice apporté en nombre d'années. L'hypothèse étant que, si les choses se passent bien, le traitement sera efficace pour la vie entière comme pour l'hémophilie ou qu'il permette de sauver la vie d'un enfant qui pourra vivre plusieurs dizaines d'années dans les cas de cancer.

### **Mais qui va payer ces thérapies géniques porteuses de tant d'espoir ?**

Si on additionne le coût de ces nouveaux traitements, les budgets de la santé seront difficilement couverts par l'assurance maladie. Il n'est pas compatible avec une économie et avec un système de santé juste et durable.

### **C'est un problème politique qui ne se discute pas à l'échelle de la France mais au moins à l'échelle européenne.**

Le modèle économique de financement de la thérapie génique n'est pas encore trouvé. Ce modèle doit se construire avec les associations de patients concernées, les pouvoirs publics, les professionnels de santé et les entreprises du médicament. Des démarches innovantes sont à mettre en place, permettant de trouver un équilibre entre valorisation de la recherche et pérennité du financement d'une santé accessible à tous.

*Quelle est la réglementation en matière de thérapie génique et quelles sont les questions éthiques soulevées ?*

Sur le plan légal, les essais cliniques de thérapie génique ne peuvent pas être entrepris dans n'importe quelles conditions et sont très réglementés.

Par exemple, le transfert de gène ex-vivo nécessite un laboratoire qui ait un statut d'établissement pharmaceutique.

Tout ceci est soumis à la Loi Huriet qui réglemente en France de façon précise tous les essais thérapeutiques. C'est vrai pour la thérapie génique, comme ça l'est pour un nouveau médicament chimique ou toute autre recherche thérapeutique.

Les thérapies géniques pour **toutes les maladies, y compris celles de la coagulation, ne soulèvent pas plus de questions éthiques** que dans d'autres recherches médicales. Il faut évidemment que la proposition de nouvelle thérapeutique remplisse les conditions adéquates, qu'elle soit rationnelle, que l'évaluation du bénéfice/risque soit la plus favorable possible et donc raisonnable par rapport à la gravité de la maladie.

Rédaction : Jean-Michel Alcindor, Jeannine Klein, Geneviève Piétu  
Relecture : Dr Annie Borel-Derlon, Olivier Christophe, Philippe Derouineau, Robin N'Guyen,  
Pierre Piétu, Thomas Sannié  
Graphisme : Bérengère Blaize

*La reproduction de ce document est libre de droit mais sans qu'il soit fait de retrait ou d'ajout  
et en indiquant la mention suivante : « La thérapie génique pour les maladies hémorragiques  
rares en 12 questions - Association française des hémophiles (AFH) Mai 2018 »*



**Association française  
des hémophiles**