

■ Congrès – AHA novembre 2022

La technique CRISPR-Cas9 appliquée in vivo à une maladie chez l'homme

→ F. DIÉVART

Elsan clinique Villette, DUNKERQUE.

■ Contexte et enjeu

1. La technique CRISPR-Cas9

La technique CRISPR-Cas9 est une technique récente permettant de modifier le génome d'une cellule, qu'elle soit d'origine végétale, animale, ou humaine. Par rapport aux techniques plus anciennes de modification génomique, elle a trois avantages relatifs : elle est plus rapide et plus facile à utiliser et son coût est moindre, ce qui l'a rendue accessible à la plupart des laboratoires. Elle consiste à utiliser un ARN, lui-même couplé à une protéine Cas (Cas9 le plus souvent, mais il existe d'autres protéines Cas) qui va couper l'ADN là où l'ARN s'est fixé. Il suffit donc de produire un ARN dont la séquence est complémentaire de celle de la séquence cible, ce qui se fait assez facilement et à moindre coût. Cette technique permet donc d'exclure un gène de l'ADN ou d'en remplacer un par un autre.

Chez l'homme, cette technique ouvre la voie à une meilleure compréhension du fonctionnement des gènes et doit permettre de développer de nouveaux traitements. En supprimant les séquences d'ADN dysfonctionnelles il serait donc possible, non seulement de soigner plusieurs maladies, mais aussi d'éviter leur transmission aux générations suivantes. Son application à l'agriculture et à l'industrie permet d'entrevoir le développement de végétaux et d'animaux plus robustes et résistants aux maladies.

2. Applications chez l'homme

Il semble donc y avoir un intérêt potentiel majeur à pouvoir utiliser cette technique chez l'homme pour prévenir les conséquences de certaines anomalies génétiques ou pour les traiter. Et ce, surtout pour les maladies monogéniques, tels certains cancers mammaires, la mucoviscidose, l'hémophilie mais pas uniquement, car il semble possible de développer de nouvelles voies d'immunothérapie des cancers, par exemple.

L'utilisation chez l'homme, hors embryon, remonte à 2016, lorsque des équipes chinoises ont utilisé la technique chez des patients atteints de cancer du poumon afin de modifier leurs lymphocytes T, réalisant donc une immunothérapie génétiquement induite. La technique a été appliquée *ex vivo*. Après prélèvement des lymphocytes T, il y a eu une modification par le CRISPR-cas9 du gène nommé *PD-1*, puis une culture de ces lymphocytes pour multiplication *in vitro* et enfin une réinjection de ces lymphocytes. Les premières publications disponibles rendent essentiellement compte de la faisabilité et de la sécurité de la technique.

En juin 2016, le *National Institute of Health* aux États-Unis a approuvé les premiers essais cliniques utilisant le CRISPR-Cas9 dans le traitement du cancer chez l'homme. Et, en 2019, toujours aux États-Unis, l'ADN de lymphocytes T de patients atteints d'un sarcome ou d'un myélome multiple a été modifié grâce à cette technique. En septembre 2016, l'autorité britannique *Human Fertilization and Embryo Authority* (HFEA) a

approuvé son utilisation pour modifier de façon permanente l'ADN d'un embryon humain.

Début 2020, la technique a été utilisée aux États-Unis pour traiter une forme héréditaire de cécité, l'amaurose congénitale de Leber. La méthode a consisté à délivrer une dose du vecteur expérimental, appelé AGN-151587, par injection dans l'œil, afin de délivrer le modificateur d'ADN directement dans les cellules de l'œil affectées par la maladie génétique.

Des premiers essais cliniques ont déjà été rapportés dans la bêta-thalassémie (2021) et la drépanocytose. D'autres essais cliniques sont en cours, notamment en infectiologie contre le VIH afin de conférer aux cellules de l'organisme une résistance au virus, ou encore contre la muco-polysaccharidose, une maladie lysosomale, pour forcer l'expression d'une enzyme déficiente. À chaque fois, les cellules sont modifiées *ex vivo* puis réinjectées au patient.

3. Les problèmes posés

Dans ces applications chez l'homme, cette technique (applicable et donc déjà appliquée chez l'homme) pose plusieurs problèmes.

>>> **Le premier problème** est bien évidemment d'ordre éthique : peut-on modifier le patrimoine génétique d'un être humain ? Et si oui, à quelle période de son existence : dès la phase embryonnaire ? Après la naissance mais avant que les signes d'une maladie soient apparus ? Dès lors qu'ils le sont ?

Congrès – AHA novembre 2022

POINT FORT

- L'utilisation de la technique CRISPR-Cas9 au moyen d'un vecteur permettant son application *in vivo* a été appliquée à l'homme pour modifier le cours évolutif de l'amylose cardiaque.

>>> Le deuxième est d'être certain qu'il n'y aura pas d'effets hors cibles : il ne peut en effet être exclu que la technique entraîne des coupures génétiques hors cible et donc génère des mutations autres que celles désirées dans le génome, avec des conséquences imprévues. De plus, les conséquences à long terme d'une modification du génome des cellules ne sont pas connues.

>>> Enfin, le troisième problème, plus pratique, est de trouver le vecteur permettant une utilisation facilitée de la technique car, dans les cas cités plus haut concernant le cancer, le traitement a été appliqué *ex vivo*, et dans le cas de la maladie oculaire citée, il a été appliqué directement sur l'organe cible. Modifier l'ADN d'une cellule *in vivo* est plus complexe mais a déjà été réalisé chez la souris pour corriger une forme génétique de surdité.

Méthode de l'étude CRISPR-Cas9

L'étude présentée lors des sessions scientifiques de l'*American Heart Association* a évalué si l'utilisation de la technique CRISPR-Cas9 peut influencer le cours évolutif d'une cardiomyopathie amyloïde à transthyrétine.

La technique a été appliquée à douze hommes, âgés en moyenne de 75 ans, et ayant majoritairement (83 %) le génotype sauvage de la cardiomyopathie à transthyrétine. La moitié était en stade NYHA I à II, l'autre moitié en stade NYHA III.

Il s'agit d'un essai de phase I, sans groupe contrôle.

L'avancée majeure apportée par cette étude est d'avoir utilisé un vecteur devant permettre d'effectuer la modification génétique souhaitée *in vivo*. En effet, le traitement évalué et dénommé NTLA-2001 a été injecté par voie intraveineuse. Il l'a été à différentes doses suivant les patients, afin d'évaluer la plus efficace, et chaque patient n'a reçu qu'une seule injection.

Le critère principal de l'étude était la sécurité d'utilisation du traitement, mais aussi son efficacité par l'analyse d'un critère intermédiaire, les taux plasmatiques de transthyrétine chez les sujets traités.

Des critères secondaires ont aussi été définis : l'efficacité du traitement sur la maladie cardiaque évaluée par des

critères intermédiaires (imagerie cardiaque, biomarqueurs et épreuve d'effort). Il est à noter que les résultats de cette étude n'ont pas encore été publiés mais seulement présentés, sans les critères secondaires.

Résultat de l'étude CRISPR-Cas9

Le traitement a été bien toléré, sans effets indésirables majeurs, cliniques ou biologiques.

Tout indique de plus qu'il a été efficace à modifier l'ADN des patients traités, puisqu'au terme d'un suivi moyen de quatre à six mois après l'injection, il y a eu une preuve indirecte de son action : les dosages de la transthyrétine dans le sérum ont diminué de plus de 90 % chez tous les patients, et ce, dès le 28^e jour (fig. 1).

Discussion

On comprend l'importance que peut avoir cette étude puisqu'elle démontre qu'il est possible d'appliquer *in vivo* la technique CRISPR-Cas9 avec une bonne sécurité et de toute évidence une efficacité réelle. C'est son intérêt principal.

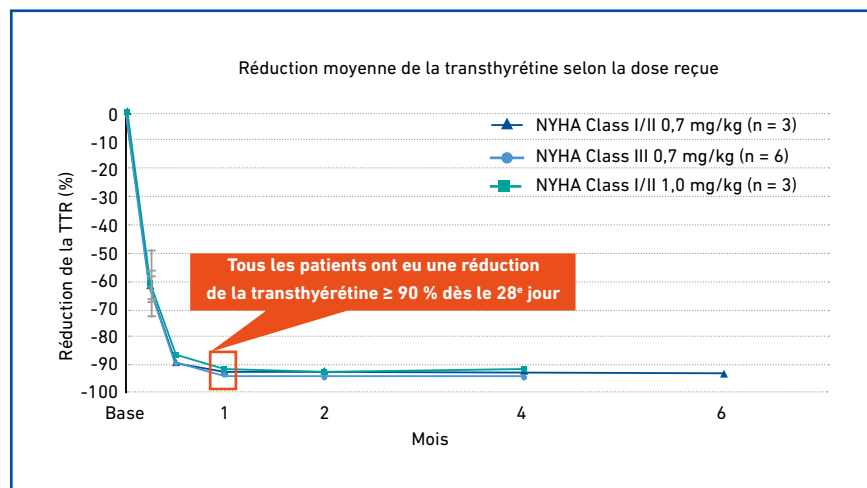


Fig. 1 : Diminution rapide et profonde de la transthyrétine sérique lors des 4 à 6 semaines de suivi chez tous les patients.

L'autre intérêt majeur est de pouvoir envisager un traitement qui pourrait être relativement radical, puisque la modification génétique est *a priori* permanente, d'une maladie au pronostic sévère, l'amylose à transthyrétine.

Les résultats de cette étude, tels qu'ils sont actuellement disponibles suscitent toutefois plusieurs questions : est-ce que la diminution de la transthyrétine plasmatique conduira à une modification du pronostic de l'amylose ? Quelle est la sécurité à long terme de la technique mais aussi de la diminution de la transthyrétine ? Quelle est l'effica-

cité du traitement, notamment chez les patients les plus gravement atteints et dans les formes héréditaires d'amylose à transthyrétine ?

■ En pratique

Cette étude de modification du génome par une technique applicable *in vivo* a des résultats encore très préliminaires. Mais il est clair dorénavant qu'un nouveau champ de travail important vient de s'ouvrir en thérapeutique, dont tout indique qu'il pourrait conduire à des avancées majeures. Sachant par ailleurs

qu'une modification génétique induite a toute probabilité d'être définitive, cette technique laisse entrevoir une possibilité de prévenir ou guérir définitivement certaines maladies, et non uniquement des maladies cardiovasculaires.

L'auteur a déclaré les liens d'intérêts suivants : honoraires pour conférences ou conseils ou défraiements pour congrès pour et par les laboratoires : Alliance BMS-Pfizer, Amgen, Astra-Zeneca, Bayer, BMS, Boehringer-Ingelheim, Daiichi-Sankyo, Ménarini, Novartis, Novo-Nordisk, Pfizer, Sanofi-Aventis France, Servier.

Jardiance obtient le remboursement dans le traitement de l'insuffisance cardiaque chronique symptomatique à FEVG > 40 %

L'alliance Boehringer Ingelheim et Lilly apporte une option thérapeutique, avec la mise à disposition de Jardiance (empagliflozine), pour les patients atteints d'insuffisance cardiaque chronique symptomatique à fraction d'éjection ventriculaire gauche (FEVG) > 40 %. Jardiance avait obtenu une autorisation d'accès précoce dans cette indication en juin 2022.

L'empagliflozine est un inhibiteur compétitif sélectif et réversible du cotransporteur sodium-glucose de type 2 (SGLT-2).

L'essai EMPEROR-Preserved a inclus 5 988 patients présentant une insuffisance cardiaque (IC). Parmi ceux-ci, 4 005 avaient une FEVG de plus de 50 % et 1 983 avaient une FEVG comprise entre 40 et 50 %. Les participants inclus dans l'essai ont été randomisés pour recevoir l'empagliflozine 10 mg ou un placebo une fois par jour. Les données de sécurité globales étaient cohérentes avec les précédentes observations, confirmant le profil de sécurité bien établi de l'empagliflozine.

Les résultats complets ont démontré que l'empagliflozine était associée à **une diminution de 21 %** en termes de réduction du risque du critère composite principal de décès cardiovasculaire ou d'hospitalisation pour insuffisance cardiaque. Le bénéfice était indépendant de la fraction d'éjection ou du statut diabétique. Les analyses du critère secondaire clé de l'essai ont montré que l'empagliflozine diminuait de 27 % le risque d'hospitalisation pour insuffisance cardiaque (première survenue et récidive) et ralentissait significativement le déclin de la fonction rénale.

Dans les études EMPEROR (qui ont inclus des patients avec IC à FEVG réduite ou préservée et traités par empagliflozine 10 mg ou placebo), l'effet indésirable le plus fréquemment rencontré était l'hypovolémie. Le profil de sécurité général de l'empagliflozine était globalement homogène dans les différentes indications étudiées.

J.N.

D'après une communication de l'alliance Boehringer Ingelheim et Lilly