

■ Le dossier – Prix Nobel

Les microARN : prix Nobel de physiologie et médecine

→ F. DIÉVART
DUNKERQUE.

Les recherches sur les acides nucléiques (voir **encadré I**) ont conduit à découvrir de nouveaux modes de régulation des gènes passant par l'acide ribo-nucléique (ARN) et ont fait l'objet de deux prix Nobel de médecine consécutifs.

En 2023, le prix Nobel de physiologie et médecine a été décerné conjointement à Katalin Karikó (Hongrie) et à Drew Weissman (É.-U.), chercheurs à l'origine du développement de la technologie des vaccins à ARN messenger (ARNm). Cette technologie avait pu être appliquée à la lutte contre le SARS-CoV2, le virus responsable de la pandémie de Covid-19.

En 2024, le prix Nobel de physiologie et médecine a été décerné conjointement à deux biologistes américains, Victor Ambros, professeur de sciences naturelles à la Faculté de médecine de l'Université du Massachusetts, et Gary Ruvkun, professeur de génétique à la Harvard Medical School, pour leur découverte des microARN et de leur rôle dans la régulation de l'expression des gènes. En 1993, ces deux chercheurs avaient tous les deux, mais dans deux articles distincts, publiés leurs découvertes sur "un nouveau niveau de régulation des gènes". Ces deux scientifiques ayant fait leur postdoctorat ensemble au Massachusetts Institute of Technology (MIT) se connaissaient et ont alors compris qu'ils avaient tous les deux identifié un même petit brin d'ARN. Et donc, toujours séparément, mais en collaboration, ils ont mené des recherches afin de déter-

miner comment les différents types de cellules se développent et leurs travaux sur un ver rond d'un millimètre, le nématode *Caenorhabditis elegans*, ont ainsi conduit à la découverte des microARN.

En 1993, l'équipe d'Ambros avait donc identifié un gène, *lin -4*, qui contrôle le développement de *C. Elegans*, mais qui ne code pas pour une protéine, mais pour une paire de petits ARN, qu'ils nommèrent microARN ou miARN. Cette équipe démontra que le miARN *lin -4* réprime l'expression du gène *lin -14*, et permet d'accélérer la croissance du *C. Elegans*. En 2000, un second miARN, dérivé du gène *let -7*, a été découvert chez le *C. Elegans* et également chez l'humain.

Pour mémoire, en 1998, la découverte, toujours à partir de travaux sur le nématode *Caenorhabditis elegans*, que de petites séquences d'ARN double-brin peuvent rendre sélectivement silencieux des gènes fut à l'origine du concept d'ARN interférence qui avait valu, en 2006, un prix Nobel à deux Américains, Craig C. Mello et Andrew Z. Fire.

■ L'ARN interférence

C'est par hasard et contre intuitivement qu'une interférence dans l'expression des gènes mettant en jeu l'ARN a été découverte au début des années 1990.

À cette époque, Rochard Jorgensen et son équipe souhaitaient renforcer la coloration naturelle de fleurs, des pétunias, en introduisant une deuxième copie du gène de la pigmentation dans le génome de la plante. Surprise, par cette manœuvre, ils

Les acides nucléiques : rappels

Les acides nucléiques sont des polymères linéaires de nucléotides (nucléosides monophosphates) reliés entre eux par une liaison 3'-5' phosphodiester. Il en existe deux types :

- L'acide désoxyribonucléique (**ADN**), support de l'information génétique (gènes).
- L'acide ribonucléique (**ARN**), dont il existe plusieurs formes :
 - l'ARN messenger (ARNm), support transitoire de l'information génétique qui est traduite en protéines ;
 - l'ARN ribosomique (ARNr) et l'ARN de transfert (ARNt), impliqués dans la synthèse des protéines ;
 - de petits ARN ayant un rôle de régulation au niveau traductionnel et post-traductionnel.

L'ADN est essentiellement situé dans le noyau, associé à des protéines (histones) pour former la chromatine.

Les ARN sont situés dans le noyau (synthèse) et dans le cytoplasme (lieu de la traduction en protéines) et les petits ARN comme les microARN circulent aussi dans de nombreux fluides corporels.

Encadré I.

Le dossier – Prix Nobel

ont en fait obtenu une extinction de la coloration. Le concept alors développé a été celui de cosuppression de l'activité du gène. La poursuite des recherches dans cette voie a conduit à découvrir que ce mécanisme est très répandu chez les plantes et confère en quelque sorte une protection de leur génome contre les éléments transposables mobiles et les virus à ARN. Ce mécanisme a ensuite été appelé "Post Transcriptional Gene Silencing" ou PTGS.

Plus tard, Andrew Fire *et al.* ont découvert que l'introduction d'un ARN double-brin (ARNdb) dans les cellules du nématode *Cænorhabditis elegans*, peut réduire spécifiquement l'expression des protéines en se liant à leur ARNm et ceci pendant plusieurs générations de vers. Cette découverte a permis de mieux comprendre la fonction des nombreuses protéines.

Chez les animaux, ce phénomène a été appelé ARN-interférence. Depuis, d'autres études ont été faites pour mettre en évidence ce mécanisme dans d'autres espèces : chez les insectes, chez la grenouille, chez la souris. Le phénomène d'ARN-interférence est très ressemblant au phénomène de PTGS observé chez les plantes.

L'ARN-interférence est donc apparue comme un mécanisme hautement conservé entre espèces et qui **permet d'éteindre l'expression d'un gène de manière séquence spécifique** en utilisant un ARN double-brin. Cette découverte a représenté une avancée majeure dans la recherche de gènes cibles dans différentes maladies.

Pour attribuer cette interférence à des ARN particuliers, il a ensuite fallu une modification de la compréhension d'un autre phénomène. Ainsi, pour reprendre Hervé Seitz et Sophie Mockly (<http://www.igh.cnrs.fr/equip/Seitz/InterNat2019.pdf>) : "... les ARN sont, de manière générale, très instables biochimiquement. Quand un expérimentateur prépare un échantillon d'ARN, il est presque inévitable qu'une partie de ces ARN se dégraderont – et quand des grands ARN se dégradent, ils produisent des petits. Il était donc connu, depuis des décennies, que les petits ARN sont contaminés par des produits de dégradation artéfactuels, sans fonction biologique. Culturellement, les biologistes de l'ARN avaient pris l'habitude de négliger le bas des gels d'électrophorèse, les fractions de petite taille... Trois laboratoires ont suspecté qu'ils étaient très probablement en train d'observer de véritables petits ARN naturels lorsqu'ils ont réalisé que le locus génomique de chaque miARN était imparfaitement auto-complémentaire, sur une longueur totale voisine de 60 à 70 nucléotides. Il serait très inattendu que des produits de dégradation partagent

tous cette particularité : il devait plutôt s'agir d'une classe de petits ARN..."

Deux classes de petites molécules d'ARN, régulateurs séquence spécifique post-transcriptionnelle, ont alors été découvertes et dénommées en anglais les short interference RNA ou siRNA et les microRNA ou miRNA (microARN en français).

Les siRNA sont produits à partir d'un double brin d'ARN qui est synthétisé *in vitro* ou *in vivo* à partir des virus ou des séquences répétitives introduites par ingénierie génétique (c'était l'objet du prix Nobel de 2023). Puis, plusieurs autres catégories de petits ARN régulant l'expression des gènes ont été découvertes (voir **encadré II**).

Catégories de petits ARN ayant un rôle dans la régulation de l'expression des gènes

(Extrait et adapté de Varna M, Arteni V. siRNA et microRNA : biogenèse, mécanisme et fonctions. Analele Științifice ale Universității, Alexandru Ioan Cuza, Secțiunea Genetică și Biologie Moleculară, TOM VIII, 2007 et de Seitz H, Mockly S. <http://www.igh.cnrs.fr/equip/Seitz/InterNat2019.pdf>)

Les **siRNA** (*short interfering RNAs*) sont de petites molécules d'ARN double brin de 21-22 nucléotides générés à partir d'un long double brin d'ARN.

Les **miRNA** (*microRNA*) représentent une classe d'ARN simple brin de 19-25 nucléotides, codés par le génome de la plupart des organismes multicellulaires. Certains sont conservés d'un point de vue évolutif et sont régulés pendant le développement. Ils participent à la régulation de certains gènes pendant la synthèse protéique.

Il y a une similarité entre les miARN et les siARN : les miARN sont des petits ARN simple-brin et les siARN sont des petits duplex d'une vingtaine de paires de bases.

Les **tncRNAs** (*tiny non-coding RNAs*) ont été découverts dans le génome de *C. elegans*, mais ne sont pas conservés d'un point de vue évolutif. Leur fonction reste encore inconnue, mais il semblerait qu'ils ciblent l'ARNm pour la dégradation.

Les **smRNA** (*small modulatory RNA*), découverts en 2004 chez la souris, pourraient participer à la régulation de l'expression des gènes spécifiques dans les neurones.

Les **piRNA** (*piwi interacting RNA*) sont des ARN simple brin de 24 à 32 nucléotides, qui assurent le mécanisme d'interférence-ARN majoritairement dans les cellules germinales afin de diminuer l'expression des transposons, des éléments génomiques mobiles pouvant causer des mutations délétères. Les précurseurs des piARN, les **pre-piARN**, sont issus de la transcription de gènes répartis dans tout le génome et comportant des fragments de séquences issus de transposons. Ils se présentent sous la forme de longs ARN simple brin de plusieurs milliers de nucléotides et sont exportés vers le cytoplasme où ils sont clivés en piARN primaires.

Les **circRNA** (*circular RNA*) dérivent d'un ARNm précurseur et sont formés par une voie alternative d'exons de configuration circulaire. Fonctionnellement, ils peuvent agir comme des éponges moléculaires pour des microARN.

Les **lncRNA** (*long non-coding RNA*).

Encadré II.

Les microARN : une nouvelle classe de régulateurs de l'expression des gènes

Les microARN sont donc une nouvelle classe de molécules ARN jouant un rôle majeur dans la régulation de l'activité des gènes. Le terme micro se rapporte au fait que ces molécules sont de faible taille et composées de 19 à 25 nucléotides.

Il s'agit d'ARN non codants, donc non traduits en protéines, et qui contrôlent l'expression des gènes au niveau post-transcriptionnel. Les microARN s'apparient avec des ARNm cibles, dont ils sont partiellement complémentaires, formant une hybridation qui empêche la traduction de la protéine correspondante ou qui clive l'ARNm cible au milieu du site de fixation du microARN. Les microARN peuvent cibler des dizaines d'ARNm différents et, à l'inverse, un ARNm peut être ciblé par plusieurs microARN différents. Les miARN sont ainsi impliqués dans de grands réseaux de régulation d'expression de gènes.

Plusieurs microARN endogènes sont programmés pour la régulation de l'expression des gènes et, ainsi, participent à la croissance et au développement de l'organisme ; et il y a plusieurs centaines de gènes codant pour des microARN identifiés chez les animaux, et une quarantaine chez les plantes. Certains de ces gènes sont conservés entre espèces.

L'apport essentiel de ces découvertes en médecine est qu'actuellement, chez l'humain, plus de 2 500 microARN ont été identifiés ; les analyses bio-informatiques estiment qu'ils pourraient réguler l'expression de 60 % du génome humain. Ils sont des régulateurs de la majorité des processus biologiques fondamentaux : croissance, prolifération, apoptose et différenciation cellulaire, régulation du métabolisme et chronologie du développement (**tableau I**).

Les microARN circulants

En 2008, Chim *et al.* ont détecté la présence de microARN d'origine placentaire dans le plasma maternel et Lawrie *et al.*, celle de microARN d'origine tumorale dans le sérum de patients ayant un lymphome diffus à grandes cellules B. Pour la première fois, il a donc été envisagé la possibilité d'utiliser les microARN comme des biomarqueurs pour la grossesse ou les cancers.

Par la suite, des microARN ont été retrouvés dans divers fluides corporels (lait maternel, salive, urines, liquide séminal...), car la plupart des cellules peuvent, par exocytose, libérer des microARN dans l'espace extracellulaire, que ce soit dans des conditions normales ou pathologiques. Les microARN circulants contenus dans des exosomes sont très stables dans les fluides corporels, y compris dans des conditions extrêmes,

comme des températures élevées, des changements de pH ou des cycles de congélation et décongélation. Ceci leur confère donc une fonction potentielle de biomarqueurs dans de nombreuses maladies, notamment cardiovasculaires et en cancérologie.

Des augmentations ou des diminutions des taux circulants d'au moins 30 microARN ont été corrélées à l'insuffisance cardiaque ou à des maladies CV. Par exemple, une diminution des taux circulants de miR-18a, miR-27a, miR30e, miR-26b, miR-199a, miR-106a and miR-652 sont corrélés à une insuffisance cardiaque. Une réduction des taux circulants de let-7i, miR-18b, miR-18a, miR-223, miR-301a, miR-652 and miR-423 ont été rapportés dans les 48 heures suivant une hospitalisation pour insuffisance cardiaque et sont associés à un risque accru de mortalité à 6 mois. De plus, la diminution de miR-1 est d'autant plus grande que la classe NYHA est élevée. Plusieurs études ont aussi établi la valeur de divers microARN comme biomarqueurs de l'athérome et des syndromes coronaires aigus. Pour une revue récente sur le rôle des microARN comme biomarqueurs de nombreuses maladies cardiovasculaires voir (en téléchargement libre) : Kramna D *et al.* MicroRNAs as a potential biomarker in the diagnosis of cardiovascular diseases. *Medicina* 2023 ; 59 : 1329. <https://doi.org/10.3390/medicina59071329>

Toutefois, les limites à leur emploi comme biomarqueurs ont été soulignées récemment par le groupe EU-CardioRNACOST (*Cardiovascular Research*, 2022;118:3183-3197) qui a incité les divers partenaires impliqués dans ces recherches à une meilleure standardisation des procédures.

Les microARN : cibles thérapeutiques ?

L'interférence ARN est devenue un mécanisme thérapeutique majeur,

miARN	Rôle
miR-124, miR-134	Développement des cellules neuronales
miR-1, miR-133a, miR-499	Développement des cellules cardiaques
miR-206, miR-208a/b	Développement des muscles squelettiques
miR-128, miR-181	Développement des cellules hématopoïétiques
miR-200, miR-302, miR-367	Développement embryonnaire

Tableau I : Exemples de microARN impliqués dans la différenciation cellulaire.

Le dossier – Prix Nobel

utilisée dans le vaccin contre le SARS-CoV2, mais aussi dans de nombreuses maladies *via* les petits interférents ARN (siARN) et, en cardiologie, une molécule de ce type, l'inclisiran, régulant la production de PCSK9, a obtenu, lors de l'été 2024, une AMM en France dans le traitement des hypercholestérolémies familiales hétérozygotes en prévention primaire.

On conçoit que les microARN puissent aussi constituer un mode thérapeutique innovant, bien que nettement moins développés que celui des siARN. Quelques agents thérapeutiques, qui sont soit des inhibiteurs de microARN natifs et appelés antagomir, soit des mimétiques de microARN natifs et dénommés miRNA mimics ou mimeurs sont apparus au cours des dernières années et, pour certains, sont entrés en phase

d'essais cliniques. De nouvelles entreprises ont développé ces médicaments innovants pour des indications particulières, c'est le cas, par exemple, des sociétés miRagen Therapeutics, Regulus Therapeutics et Mirna Therapeutics.

Un des premiers miRNA mimics (le MRX34) a fait l'objet d'un essai clinique de phase I dans l'objectif d'un développement pour le traitement des tumeurs solides avancées.

Un des premiers inhibiteurs de microARN, le miravirsen (SPC3649), injectable par voie sous-cutanée, a été conçu pour traiter l'hépatite C. Le processus d'infection du virus de l'hépatite C (VHC) implique en effet un microARN produit par les cellules hépatiques, le microARN 122 (miR-122). De ce fait, il a été envisagé

de produire un médicament antiviral agissant comme inhibiteur du miR-122 (AntimiR-122). Le miravirsen est un oligonucléotide antisens de 15 bases. Son utilisation conduit à la formation d'hétéroduplexes miravirsen-miR-122 qui doit empêcher la liaison du miR-122 à l'ARN viral, compromettant ainsi la réplication du VHC. Les premiers essais ont validé le concept en montrant que le miravirsen réduit de façon dose-dépendante des taux de VHC. Les effets antiviraux de cet AntimiR-122 sont maintenant en évaluation dans des études de phase II chez des sujets atteints d'un VHC résistant aux interférons pégylés et aux antiviruses classiques. À noter qu'une approche similaire, utilisant un antagoniste de miRNA-122, le RG-101, a montré que ce traitement réduit considérablement la charge virale de patients ayant une hépatite chronique C, mais le développement de la molécule a été arrêté, car elle induisait des hyperbilirubinémies.

Une action passant par les ARN circulaires, éponges à microARN est aussi envisagée, notamment en cardiocancérologie.

Enfin, en cardiologie, les microARN ayant un rôle important sur la fonction et la morphologie musculaire cardiaque (développement, prolifération, hypertrophie, insuffisance), ils font l'objet d'études comme biomarqueurs et cibles thérapeutiques. Ainsi, les microARN miR-1 et miR-133a sont régulés à la baisse dans l'hypertrophie ventriculaire gauche et il a été montré que leur surexpression était protectrice contre l'hypertrophie dans des modèles précliniques. De même, une délétion constitutive du miR-133a1 conduit à une cardiomyopathie dilatée, ce qui illustre la complexité des mécanismes, mais aussi la possibilité de nouvelles cibles thérapeutiques préventives. De nombreuses thérapeutiques dirigées contre les microARN sont en évaluation dans le domaine cardiovasculaire (voir **tableau II** pour quelques exemples),

Domaine	MicroARN ciblé	Modulation	Effet
Infarctus du myocarde	miR-15b	Antagomir	Diminution de la taille de l'IDM
	miR-24	Surexpression	Diminution de la taille de l'IDM et de la fibrose
	miR-92a	Antagomir	Diminution de la taille de l'IDM
	miR-99a	Surexpression	Diminution de l'apoptose
Athérome	miR-122	Antagomir	Diminution de la cholestérolémie
	miR-145	Surexpression	Diminution de la taille des plaques
	miR-121	Antagomir	Diminution de la prolifération néointimale
Troubles du rythme	miR-26	Surexpression	Diminution de la vulnérabilité à la fibrillation atriale
	miR-328	Antagomir	Diminution de la permanence de la fibrillation atriale
Hypertrophie et fibrose	miR-34	Antagomir	Diminution de la fibrose
	miR-132	Antagomir	Diminution de la fibrose et de l'hypertrophie
	miR-378	Vecteur AAV9	Amélioration de la fonction cardiaque et de la fraction d'éjection

Tableau II : Quelques applications potentielles de traitements dirigés contre des microARN en cardiologie.

comme des molécules dirigées contre les miR-92 et miR-132, ce dernier étant impliqué dans les voies du calcium (via la SERCA2A), la contractilité et les facteurs de transcription anti-hypertrophie (FOXO3). Dans une étude préclinique chez le porc, l'injection intraveineuse mensuelle d'un anti-miR132, le CD132L, a amélioré la fonction cardiaque et inversé le remodelage cardiaque. Dans une étude clinique de phase Ib, le CD132L a permis une suppression dose-dépendante de miR132 et a été bien toléré (voir CV *Research*, 2022;118:3183-3197).

Ainsi, *via* une action directe sur l'ADN par la technique de CRISPR-Cas9 ou sur

l'ARN *via* les petits interférents et les microARN, la thérapie génique apparaît comme une voie de recherche thérapeutique en développement majeur pour les toutes prochaines années.

■ En synthèse

Les micro-ARN ont été découverts à l'issue de recherches menées ces trente dernières années.

Ce sont de petits acides nucléiques simple-brin, non codants, produits par le génome et régulant l'activité des gènes : ils sont donc d'une importance majeure tant en physiologie qu'en pathologie.

Ils peuvent être excrétés par les cellules et circuler dans divers fluides corporels.

Ils ont donc de multiples intérêts en médecine et dans plusieurs maladies en permettant de mieux comprendre leur genèse, en servant de biomarqueurs et comme cibles thérapeutiques.

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, Menarini, Novartis, Novo-Nordisk, Pfizer, Sanofi France, Servier.