

I Revues générales

Thérapie génique de la maladie de Crigler-Najjar : un modèle à suivre

RÉSUMÉ : La maladie de Crigler-Najjar est une maladie très rare du métabolisme de la bilirubine. Elle expose les malades, tout au long de leur vie, à la potentielle neurotoxicité de la bilirubine si les valeurs de bilirubinémie dépassent une valeur seuil. À ce jour, la photothérapie quotidienne est le seul traitement qui permet aux personnes atteintes de vivre sans complications neurologiques (malgré un risque permanent).

Des projets de thérapie génique ont débuté il y a plus de 25 ans, aboutissant à un essai clinique de thérapie génique en utilisant un vecteur de type AAV de sérotype 8. Cet essai européen, mené sous l'égide du Généthron, a débuté à la fin de l'année 2018.



P. LABRUNE

Centre de Référence des Maladies Héréditaires du Métabolisme Hépatique, Hôpitaux Universitaires Paris Sud, Hôpital Antoine Bécclère, CLAMART, Université Paris Sud, PARIS SACLAY.

La maladie de Crigler-Najjar est une maladie exceptionnelle qui touche le métabolisme de la bilirubine. Elle entraîne un ictère permanent et intense, lié à une hyperbilirubinémie non conjuguée. Celle-ci expose l'enfant atteint à un risque constant de lésions neurologiques lors d'épisodes de décompensation, déclenchés essentiellement par les infections et le jeûne [1].

Rappels sur le métabolisme de la bilirubine

La bilirubine est le produit final de dégradation de l'hème qui provient de l'hémoglobine mais aussi des autres hémoprotéines. Elle circule dans le sang, liée à l'albumine. Schématiquement, trois enzymes sont importantes. La première est l'hème oxygénase qui permet l'ouverture du noyau hémique et la transformation de l'hème en biliverdine. La deuxième est la biliverdine réductase qui transforme la biliverdine en bilirubine. La troisième est la bilirubine uridine-diphosphate-glucuronosyl-transférase qui transforme, au niveau hépatique, la bilirubine non conjuguée, hydrophobe et potentiellement neurotoxique, en bilirubine conjuguée (par fixation d'un et surtout deux acides

D-glucuroniques sur la bilirubine). La bilirubine conjuguée est hydrophile, n'est plus neurotoxique et peut-être éliminée dans la bile, puis dans l'intestin. Le métabolisme normal de la bilirubine est schématisé sur la **figure 1**.

La maladie de Crigler-Najjar est liée à un déficit de la glucuroconjugaison de la bilirubine, à l'origine d'une hyperbilirubinémie non conjuguée néonatale, précoce, intense, prolongée. Cette hyperbilirubinémie non conjuguée met d'emblée le nouveau-né à risque de lésions neurologiques (par passage dans le cerveau de la bilirubine non conjuguée). Ce risque devient majeur lorsque les capacités de liaison de la bilirubine à l'albumine sont dépassées, la fraction toxique de la bilirubine étant constituée de la bilirubine non conjuguée et non liée. La **figure 2** montre les conséquences potentielles du déficit de glucuroconjugaison de la bilirubine.

Présentation clinique et prise en charge d'une maladie de Crigler-Najjar

La maladie de Crigler-Najjar se manifeste dès la période néonatale précoce par une hyperbilirubinémie non

conjuguée, intense, prolongée, nécessitant le recours à une photothérapie intensive, qu'il est nécessaire de maintenir pour contenir le niveau de bilirubinémie non conjuguée. Souvent, une exsanguino-transfusion est également utile en période néonatale afin de faire baisser la bilirubinémie lorsqu'elle atteint des seuils potentiellement neurotoxiques.

Le diagnostic de maladie de Crigler-Najjar peut être évoqué lorsque les autres causes d'ictère néonatal intense et précoce ont été éliminées, en particulier les ictères liés à une hémolyse néonatale. En effet, la maladie est exceptionnelle puisqu'elle touche, dans notre pays, environ un nouveau-né sur 1 million de naissances. Lorsque le diagnostic est évoqué, il doit être confirmé. L'étude des dérivés conjugués de la bilirubine dans le sérum par HPLC peut être contributive, montrant l'absence de tout dérivé conjugué lors de cet examen. En pratique, cet examen est rarement demandé car il ne se fait que dans peu de laboratoires.

À l'heure actuelle, l'étude moléculaire à la recherche de mutations pathogènes au sein du gène *UGT1A1* est l'examen de référence [2]. Cet examen a supplanté la biopsie hépatique qui était nécessaire pour mesurer l'activité enzymatique de la bilirubine glucuronosyltransférase dans le tissu hépatique (mais cet examen n'était fiable qu'après l'âge de 3 mois). Dans une telle circonstance, il est donc important de demander l'étude génétique de l'enfant ainsi que de ses parents, pour vérifier la transmission du ou des allèles pathogènes. L'identification d'une mutation sur chacun des allèles, au sein du gène *UGT1A1*, vient confirmer le diagnostic (la maladie de Crigler-Najjar est transmise sur un mode autosomique récessif).

On continue de distinguer classiquement la maladie de Crigler-Najjar de type 1, au cours de laquelle le traitement inducteur par phénobarbital est inefficace sur la valeur de bilirubinémie, de la maladie de Crigler-Najjar de type 2, au cours de laquelle le phénobarbital

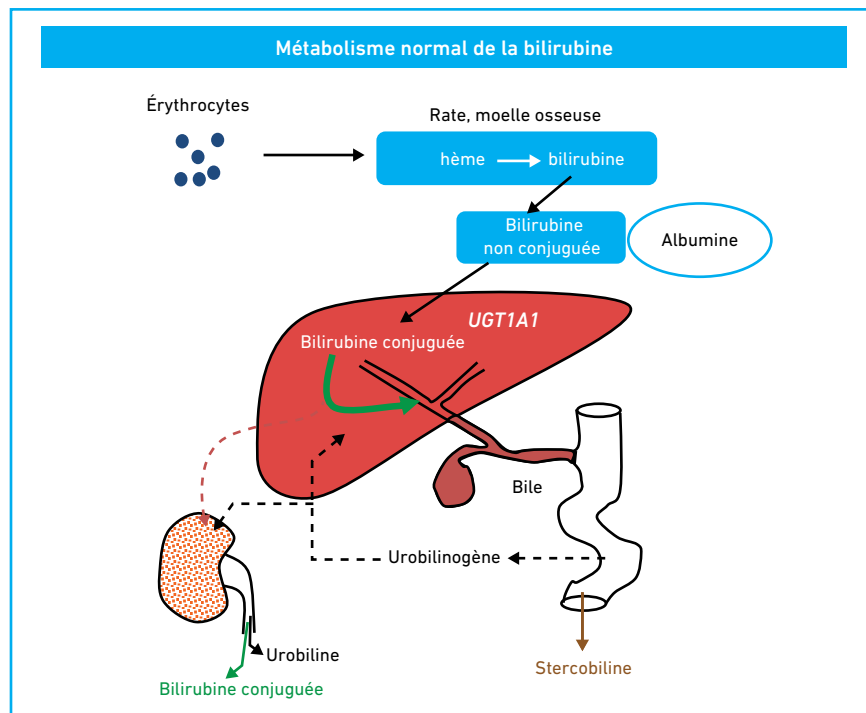


Fig. 1 : Représentation schématique du métabolisme normal de la bilirubine.

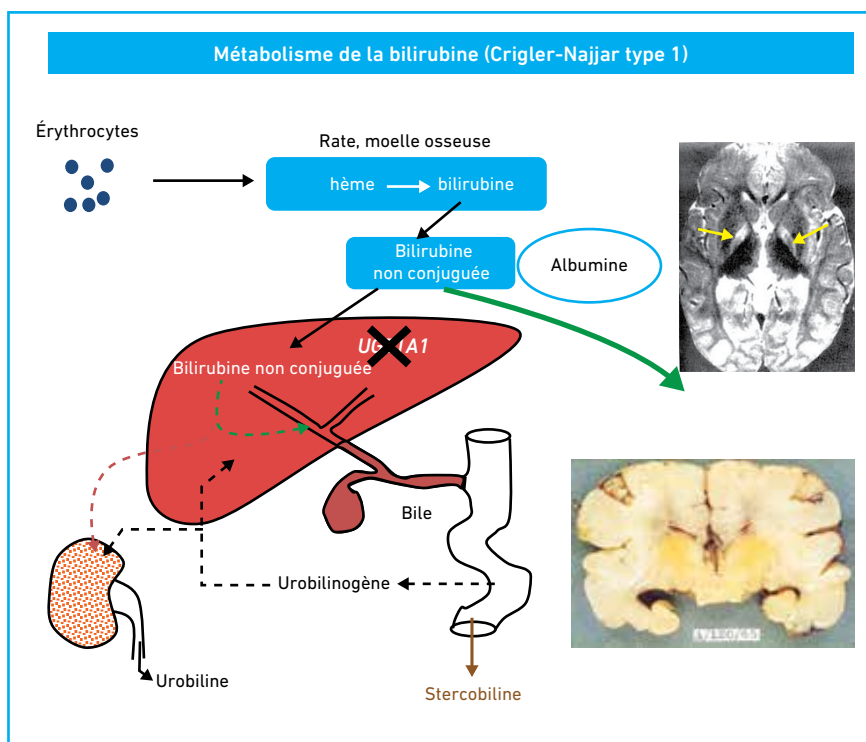


Fig. 2 : Représentation schématique du métabolisme de la bilirubine au cours de la maladie de Crigler-Najjar et des conséquences neurologiques potentielles (lésions des noyaux gris centraux sur l'IRM, indiquées par les flèches, dépôts jaunes de bilirubine au niveau des noyaux gris centraux).

Revue générale

à dose minime permet, en deux à trois semaines, une baisse d'environ 2/3 de la bilirubinémie. Les enfants atteints de maladie de Crigler-Najjar de type 1 ont besoin d'une photothérapie quotidienne d'environ 10 à 12 h. Les enfants atteints d'une maladie de Crigler-Najjar de type 2 sont habituellement équilibrés par des doses minimales de phénobarbital (et n'ont pas besoin de photothérapie).

Une fois le diagnostic établi et le traitement mis en place, les enfants peuvent rentrer à domicile avec mise à disposition de la famille l'équipement nécessaire au traitement de photothérapie à la maison [3, 4]. Le matériel comporte un appareil de photothérapie adapté à la taille de l'enfant ; le plus souvent la lumière bleue est fournie par des LED. Les familles doivent aussi être équipées d'un bilirubinomètre transcutané qui permet une surveillance quotidienne non invasive du niveau de bilirubinémie. Les familles peuvent également bénéficier de la fourniture d'un radiamètre qui permet de surveiller l'intensité de la lumière bleue émise par les appareils, afin de changer lesdits appareils lorsque cela est nécessaire.

Les parents doivent être éduqués et augmenter, de principe, lors de tout épisode infectieux, la durée quotidienne de photothérapie d'1 à 2 h. En effet, physiologiquement, tout stress, toute infection et tout jeûne entraînent une augmentation de la production de bilirubine.

Lors d'un épisode aigu de décompensation, la bilirubinémie peut augmenter très vite. Il faut en urgence, outre l'évaluation clinique, faire mesurer le rapport molaire sérique bilirubine/albumine. Si celui-ci est supérieur à 0,7, il faut mettre en place une photothérapie intensive et perfuser de l'albumine. La surveillance est poursuivie de façon rapprochée. Si la situation s'améliore, on revient au régime de photothérapie antérieure, sinon il peut être nécessaire d'envisager une plasmaphérèse.

À l'heure actuelle, le seul traitement "radical" et curatif de la maladie de Crigler-Najjar de type 1 reste la transplantation hépatique. Cette intervention n'est pas dénuée de risques. Elle se heurte également à la pénurie de greffon. De plus, la perspective d'une immuno-suppression prolongée, la transplantation s'adressant à de jeunes enfants, n'est pas non plus sans risque sur le moyen et le long terme [4].

Histoire de la thérapie génique pour la maladie de Crigler-Najjar

Il est apparu, depuis près de 30 ans, que la maladie de Crigler-Najjar était "un bon modèle" et une bonne candidate pour la thérapie génique. En effet, il s'agit d'une maladie grave, au traitement contraignant et au risque permanent de neurotoxicité. C'est une affection monogénique, pour laquelle un modèle animal (le rat Gunn) est disponible depuis 1938. De plus, le gène *UGT1A1* n'est pas régulé et il y a un seul organe à traiter (le foie). Enfin, des données expérimentales montraient que la réduction de l'hyperbilirubinémie était significative lorsque l'on était capable de corriger le déficit enzymatique hépatique, en faisant passer la valeur de l'activité enzymatique de 0 à 5 ou 7 %.

Dès les années 1990, des équipes, en particulier françaises, ont commencé des travaux expérimentaux chez le rat Gunn. Les premiers résultats concluants ont été

obtenus un peu plus tard en utilisant des oncorétrovirus murins [5]. Les premières études ont montré l'efficacité, la bonne tolérance et la permanence de cette correction. Durant les années suivantes, d'autres approches ont été utilisées, mettant à profit des lentivirus. Ces lentivirus recombinants ont également permis la correction permanente, suffisante pour faire baisser la bilirubinémie de façon significative, sans toxicité chez le rat [6, 7]. La **figure 3** montre des rats Gunn nouveau-nés ictériques, et la veine temporale par laquelle les injections de virus recombinants ont été faites dans plusieurs études.

Depuis une dizaine d'années, les équipes de recherche, tant en France que dans de nombreux pays européens et aux États-Unis, se sont tournées vers des virus de type AAV (*adeno associated virus*). Les premiers résultats ont été obtenus dans les années 2006 à 2008 chez le rat Gunn, à l'aide d'un AAV de sérotype 8 (il existe différents sérotypes des AAV, tous ayant une spécificité d'organe plus ou moins marquée). Les travaux se sont concentrés sur le développement d'un AAV8 recombinant (AAV dont on a enlevé les segments pathogènes pour les remplacer par l'ADN complémentaire du gène de l'*UGT1A1*, en adjoignant un promoteur spécifique afin que l'expression du transgène soit limitée au foie).

Il y a environ 5 ans, un modèle murin de maladie de Crigler-Najjar a été créé afin de compléter les études déjà menées

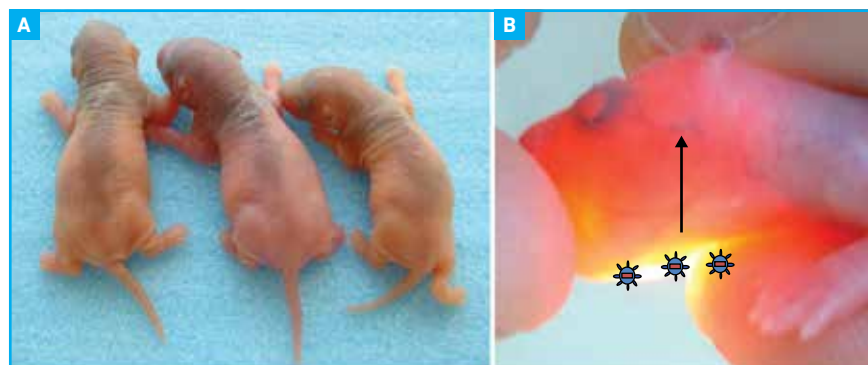


Figure 3A : Rats Gunn nouveau-nés ictériques. **B :** visualisation de la veine temporale par laquelle sont faites les injections.

chez le rat. Cette souris “Crigler-Najjar” manifeste des signes cliniques beaucoup plus intenses que ceux du rat puisque, en l’absence de photothérapie, et *a fortiori* de thérapie génique, cette souris meurt avant l’âge d’1 mois [8].

Les efforts des différentes équipes ont conduit (sous l’égide du Généthon) à la fabrication d’un AAV8 recombinant simple brin dont l’efficacité et la tolérance ont été testées et prouvées tant chez le rat que chez la souris. Parallèlement, il a été nécessaire de développer les moyens de production d’un AAV8 en grande quantité, et en qualité supérieure à ce que cela était pour l’utilisation chez l’animal [9]. Il a également été montré, chez la souris, qu’il était possible de ré-administrer un AAV recombinant en changeant de sérotype [10].

C’est ainsi qu’un essai de thérapie génique pour la maladie de Crigler-Najjar de type 1 a débuté fin 2018 en Europe. Cet essai peut bénéficier des résultats déjà obtenus dans un autre essai de thérapie génique utilisant le même type de vecteur chez des hommes adultes atteints d’hémophilie B au Royaume-Uni [11]. L’AAV8 recombinant incluant l’ADN complémentaire du gène *UGT1A1* est administré par perfusion intraveineuse. L’objectif est de faire baisser la bilirubinémie de façon suffisante pour, d’une part, ne plus avoir besoin de photothérapie (tout en restant très probablement modérément ictérique) et, d’autre part, pour être à l’abri de pics d’hyperbilirubinémie lors des épisodes infectieux.

Cet essai de phase 1-2 est considéré comme un essai pivot car, si les résultats en sont positifs, il pourra servir de modèle pour des protocoles identiques visant à traiter d’autres maladies métaboliques hépatiques. Ainsi, on peut espérer qu’à court terme un nouveau traitement “simple”, efficace et bien toléré va être disponible pour les malades atteints de maladie de Crigler-Najjar de type 1. Il faut enfin mentionner qu’il s’agit d’une injection unique et que les résultats

obtenus chez les patients hémophiles sont stables, 6 à 7 ans après l’administration du virus recombinant.

BIBLIOGRAPHIE

- CRIGLER JF JR, NAJJAR VA. Congenital familial nonhemolytic jaundice with kernicterus. *Pediatrics*, 1952;10:169-180.
- ERLINGER S, ARIAS IM, DHUMEAUX D. Inherited disorders of bilirubin transport and conjugation: new insights into molecular mechanisms and consequences. *Gastroenterology*, 2014;146:1625-1638.
- STRAUSS KA, ROBINSON DL, VREMAN HJ *et al.* Management of hyperbilirubinemia and prevention of kernicterus in 20 patients with Crigler-Najjar disease. *Eur J Pediatr*, 2006;165:306-319.
- VAN DER VEERE CN, SINAASAPPEL M, McDONAGH AF *et al.* Current therapy for Crigler-Najjar syndrome type 1: report of a world registry. *Hepatology*, 1996, 24:311-315.
- BELLODI-PRIVATO M, AUBERT D, PICHARD V *et al.* Successful gene therapy of the Gunn rat by in vivo neonatal hepatic gene transfer using murine oncoretroviral vectors. *Hepatology*, 2005;42: 431-438.
- NGUYEN TH, BELLODI-PRIVATO M, AUBERT D *et al.* Therapeutic lentivirus-mediated neonatal in vivo gene therapy in hyperbilirubinemic Gunn rats. *Mol Ther*, 2005;12:852-859.
- SCHMITT F, REMY S, DARIEL A *et al.* Lentiviral vectors that express UGT1A1 in liver and contain miR-142 target sequences normalize hyperbilirubinemia in Gunn rats. *Gastroenterology*, 2010;139:999-1007.
- BORTOLUSSI G, ZENTILLIN L, VANÍKOVA J *et al.* Life-long correction of hyperbilirubinemia with a neonatal liver-specific AAV-mediated gene transfer in a lethal mouse model of Crigler-Najjar Syndrome. *Hum Gene Ther*, 2014;25:844-855.
- RONZITTI G, BORTOLUSSI G, VAN DIJK R *et al.* A translationally optimized AAV-UGT1A1 vector drives safe and long-lasting correction of Crigler-Najjar syndrome. *Mol Ther Methods Clin Dev*, 2016;3:16049.
- BOCKOR L, BORTOLUSSI G, IACONCIG A *et al.* Repeated AAV-mediated gene transfer by serotype switching enables long-lasting therapeutic levels of hUgt1a1 enzyme in a mouse model of Crigler-Najjar Syndrome Type I. *Gene Ther*, 2017;24:649-660.
- NATHWANI AC, DAVIDOFF AM, TUDDENHAM EGD. Advances in gene therapy for hemophilia. *Hum Gene Ther*, 2017;28:1004-1012.

L’auteur a déclaré ne pas avoir de conflits d’intérêts concernant les données publiées dans cet article.

POINTS FORTS

- Le risque de la maladie de Crigler-Najjar est un risque d’atteinte neurologique par passage intracérébral de bilirubine non conjuguée. Ce risque est permanent.
- La photothérapie, seul traitement efficace pour contrôler les valeurs de bilirubinémie, est un traitement très contraignant (10 à 12 h par jour), dont l’efficacité diminue avec l’âge.
- La transplantation hépatique reste à ce jour le seul traitement curatif, non dénué de risques, de la maladie.
- Les travaux de recherche sur la thérapie génique de cette maladie ont abouti à la fabrication d’un vecteur viral de type AAV8 recombinant, capable de transduire les hépatocytes et, ainsi, d’y faire entrer une copie du gène *UGT1A1*. Les résultats obtenus chez le rat et chez la souris ont permis le début d’un essai clinique chez l’homme.