Espoir de l'optogénétique

RÉSUMÉ : Les dégénérescences rétiniennes héréditaires telles que la rétinite pigmentaire (RP) touchent environ une personne sur 4 000 et sont la principale cause de cécité chez les adultes actifs. Elles sont caractérisées par une grande hétérogénéité génétique qui constitue une limite majeure dans le développement des approches de thérapies ciblées par remplacement de gènes.
L'optogénétique est une avancée récente dans le domaine des neurosciences, dont l'une des applications les plus prometteuses est le traitement des maladies dégénératives de la rétine, caractérisées par une dégénérescence progressive des photorécepteurs. L'objectif est de stimuler les cellules neuronales de la rétine interne, qui restent intactes structurellement, même à un stade avancé de la maladie. Ainsi, cette approche est indépendante de la cause génétique sous-jacente et pourrait potentiellement restaurer la fonction visuelle de patients en cécité.
Actuellement, quatre essais cliniques d'optogénétique chez l'homme sont en cours dans le monde.

→ **E. BOULANGER-SCEMAMA**
Fondation ophtalmologique A. de Rothschild, PARIS ; Centre ophtalmologique COPSO, ORSAY.

Les dégénérescences rétiniennes héréditaires (IRD) constituent un groupe hétérogène de pathologies qui se caractérisent par un dysfonctionnement des cellules photoréceptrices et la mort cellulaire, entraînant une perte visuelle sévère irréversible. Elles touchent environ une personne sur 4 000 et, à de rares exceptions près, il n'existe pas de thérapeutique curative. Elles peuvent être isolées ou syndromiques, et sont transmises selon un mode autosomique dominant, autosomique récessif, lié au chromosome X ou exceptionnellement associées à des mutations de l'ADN mitochondrial. Plus de 250 gènes causaux ont été identifiés (https://web.sph.uth.edu/retnet/sum-dis.htm)

De nombreuses approches thérapeutiques différentes sont en cours de développement, incluant la thérapie génique ciblée, la neuroprotection, la transplantation de cellules rétiniennes, la thérapie par cellules souches, les implants rétiniens. Les thérapies ciblées par remplacement de gènes reposant sur un diagnostic moléculaire précis, leur développement récent s'avère limité par l'extrême hétérogénéité génétique des IRD. De plus, la thérapie génique ciblée présente un intérêt thérapeutique au stade débutant de la maladie, mais s'avère moins efficace au stade plus évolué quand la structure des photorécepteurs a déjà disparu [1].

Optogénétique

L'optogénétique est une méthode de neuromodulation largement applicable dans le domaine des neurosciences. Elle implique l'utilisation de la lumière pour activer une population de cellules rendues photosensibles par l'expression ectopique d'une protéine opsine. Les premières expériences ont utilisé l'expression d'une combinaison de gènes de photorécepteurs de drosophile pour induire une sensibilité à la lumière dans des neurones de mammifères [2].

Plusieurs autres outils optogénétiques ont été développés par la suite. La conversion de la lumière en activité électrique se produisant dans l'œil *via* la phototransduction dans les bâtonnets et les cônes, une application intuitive de l'optogénétique consiste à induire une sensibilité à la lumière dans les cellules rétiniennes viables afin de restaurer la vision.

La mise au point d'une approche efficace par optogénétique nécessite la prise en compte de plusieurs paramètres : la protéine photosensible utilisée, le vecteur pour la délivrance du gène et la cellule-cible pour son expression (***fig. 1***).

Outils optogénétiques

Plusieurs protéines photosensibles ont été étudiées comme potentiels outils d'optogénétique, notamment des opsines microbiennes, mammaliennes ou des protéines chimériques modifiées. Ces protéines varient selon leur niveau de sensibilité à la lumière, la longueur d'onde de lumière provoquant leur stimulation maximale, la cinétique de leur réponse électrique et la réponse immunitaire induite lorsqu'elles sont exprimées de manière ectopique dans l'œil humain.

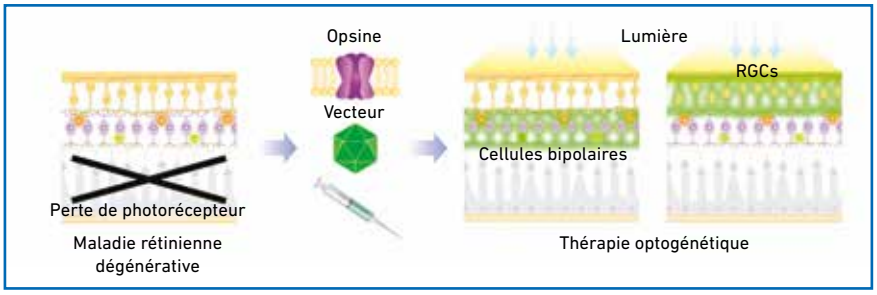

Fig. 1 : Schéma illustrant le concept de base de la thérapie optogénétique pour la restauration visuelle. Les dystrophies rétiniennes héréditaires entraînent une perte progressive irréversible des photorécepteurs. *Via* une approche de thérapie génique, les cellules rétiniennes restantes, telles que les cellules bipolaires ou les cellules ganglionnaires, sont converties en photorécepteurs artificiels [11].

Elles sont habituellement classées en trois groupes : les canaux ioniques, les pompes ioniques et les récepteurs couplés aux protéines G.

1. Canaux ioniques

La channelrhodopsine-2 (ChR2) est une rhodopsine dotée d'un chromophore d'origine microbienne, issu de l'algue verte *Chlamydomonas reinhardtii*. ChR2 est un canal cationique sensible à la lumière : la lumière incidente isomérise son chromophore tout-trans en rétinal 13-cis, ce qui induit un changement de conformation de ChR2, permettant aux cations de pénétrer dans la cellule et d'induire sa dépolarisation. Cette réponse est rapide (moins de 50 µs après l'exposition lumineuse) avec un pic de sensibilité maximale de 450 nm situé dans le spectre de la lumière bleue [3].

La limite principale de ChR2 est le niveau élevé d'intensité lumineuse nécessaire pour obtenir une réponse comparativement à la rhodopsine ou à l'opsine des cônes d'origine humaine (1 015 photons cm-2 s-1 requis pour ChR2 vs.1 010 photons cm-2 s-1 pour les cônes et 106 photons cm-2 s-1 pour les bâtonnets) [4]. Un dispositif de traitement de l'image ou de la lumière s'avère donc nécessaire pour amplifier l'intensité de stimulation en lumière bleue, ce qui est potentiellement rétinotoxique.

Ainsi, des variantes de ChR2 ont été développées : canal rhodopsine translocateur de calcium (CatCh), dont la sensibilité à la lumière et la cinétique sont optimisées par rapport à ChR2, ChrimsonR modifiée (ChR ou ReaChR) pour une sensibilité maximale dans le spectre de la lumière rouge qui est moins rétinotoxique.

2. Pompes ioniques

L'halorhodopsine (NpHR) est une pompe à ions chlorure sensible à la lumière, dérivée des halobactéries *Natronomonas pharaonis* [5]. La stimulation lumineuse de la NpHR provoque une hyperpolarisation de la cellule similaire à la réponse physiologique des photorécepteurs humains. Sa sensibilité maximale se situe à une longueur d'onde de 590 nm. Étant donné sa cinétique très rapide d'activation et de désactivation, l'halorhodopsine présente de bonnes caractéristiques pour une utilisation thérapeutique en optogénétique. Cependant, l'intensité du stimulus nécessaire pour obtenir une réponse lumineuse est encore plus élevée que celle de ChR2 (1 016 photons cm-2 s-1).

D'autres pompes ioniques ont été étudiées comme la pompe à protons sensible à la lumière jaune-vert (Archaerhodopsine ou Arch).

3. Récepteurs couplés à une protéine G

La rhodopsine et les opsines des cônes se trouvent à l'état naturel dans les photorécepteurs humains de type bâtonnets et cônes respectivement. Leur activation, couplée à une protéine G (la transducine), permet une hyperpolarisation de la cellule et une amplification significative du signal. Cela implique que les opsines couplées à une protéine G sont sensibles à des intensités lumineuses plus faibles que les canaux ioniques et pourraient servir d'outils optogénétiques sans qu'il soit nécessaire de modifier le stimulus lumineux [6].

De plus, l'expression ectopique de ces protéines naturelles a un profil de tolérance immunitaire supérieur dans l'œil humain par rapport aux opsines microbiennes.

Une autre opsine de mammifère, la mélanopsine, est couplée à une protéine G et se situe dans les cellules ganglionnaires intrinsèquement photosensibles. Elle est activable par une stimulation lumineuse dans le spectre de la lumière physiologique mais sa cinétique est lente par rapport à ChR2 et NpHR [7].

Cellules cibles

Deux types d'approche thérapeutique existent en optogénétique :
– une approche ciblant un type de cellules rétiniennes spécifiques ;
– une approche ubiquitaire, où la protéine photosensible est présente dans un plus grand nombre de cellules rétiniennes.

Cette dernière approche a largement été étudiée à la suite de la première étude démontrant l'efficacité de l'expression ubiquitaire de ChR2 dans un modèle murin de dégénérescence rétinienne [4]. Le rationnel pour expliquer cette efficacité est le traitement cortical du signal visuel, comme cela est également supposé pour les implants rétiniens qui ont montré une efficacité malgré la stimulation de plusieurs types de cellules rétiniennes.

Cependant, les circuits rétiniens humains sont complexes et l'expression

POINTS **FORTS**

- L'optogénétique est une approche thérapeutique des dystrophies rétiniennes héréditaires au stade très évolué, indépendante de la cause génétique sous-jacente.
- L'objectif est de transformer les cellules rétiniennes encore viables en photorécepteurs artificiels *via* l'expression ectopique d'une protéine opsine et une source de stimulation lumineuse.
- L'approche par optogénétique repose sur trois paramètres : une protéine opsine photosensible, un vecteur de thérapie génique et une cellule-cible rétinienne.
- La preuve de concept de l'optogénétique a été démontrée par de nombreuses études chez la souris. Actuellement, 4 essais cliniques de phase I/II sont en cours chez l'homme dans le monde.

généralisée d'une protéine sensible à la lumière dans les cellules rétiniennes entraîne la perte du traitement du signal, ce qui pourrait altérer la qualité de la vision restaurée. En effet, les cônes font synapse avec 10 types de cellules bipolaires (sous-types ON et OFF) et les bâtonnets avec une seule (sous-type ON). Cette multiplicité de connexions permet le traitement de l'image et la création de voies ON et OFF, modulées par les cellules horizontales pour la sensibilité aux contrastes et les cellules amacrines.

Certaines stratégies optogénétiques visent à préserver autant que possible le traitement du signal au sein de la rétine, en ciblant spécifiquement les cellules les plus en amont (cellules bipolaires ou cônes résiduels) afin d'imiter le plus fidèlement les circuits rétiniens physiologiques.

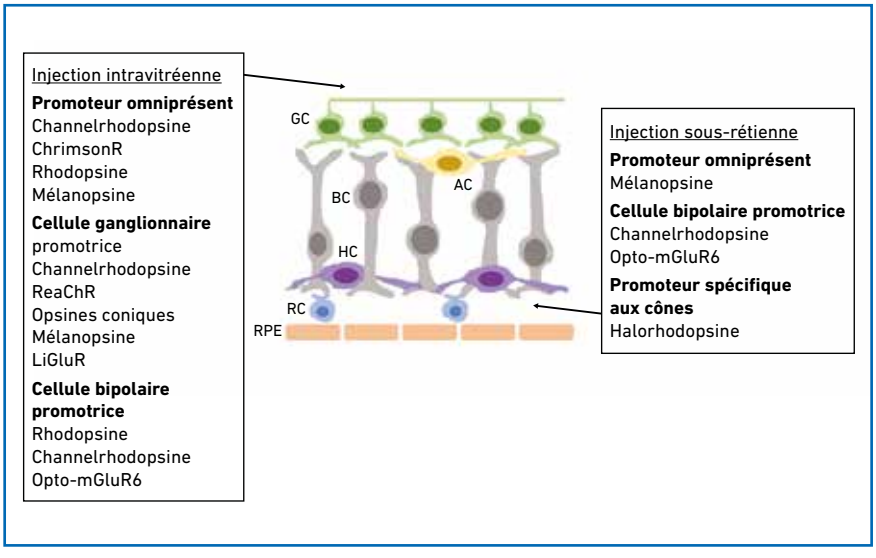

Fig. 2 : Schéma illustrant les protéines opsines explorées en tant qu'outils optogénétiques, les cellules rétiniennes ciblées *via* une approche de thérapie génique par injection intravitréenne ou sous-rétinienne [1]. GC : cellule ganglionnaire ; BC : cellule bipolaire ; AC : cellule amacrine ; HC,: cellule horizontale ; RC : cônes résiduels ; RPE : épithélium pigmentaire.

D'autres stratégies ciblent spécifiquement la cellule ganglionnaire [6], car celle-ci est préservée même au stade terminal de la maladie. Cependant, cette approche court-circuite le traitement du signal au sein de la rétine (***fig. 2***).

Vecteur viral

L'approche la plus efficace pour l'administration de la protéine opsine aux cellules rétiniennes est celle utilisant les vecteurs viraux adéno-associés (AAV). Ces vecteurs de type parvovirus à ADN simple brin sont déjà utilisés dans des essais cliniques de thérapie génique chez l'homme et approuvés par la Food and Drug Administration (FDA) et l'Agence européenne des médicaments (EMA) pour le traitement de l'amaurose congénitale de Leber liée au gène *RPE65* (voretigene neparvovec) [8].

La limite principale du vecteur AAV dans le développement des thérapies géniques est la taille maximale du matériel génétique qui peut être intégré dans la capside de l'AAV, inférieure à 5 kb. Celle-ci ne concerne pas l'approche par optogénétique, les gènes d'opsines étant classiquement de petite taille.

Le vecteur AAV peut être modifié pour influencer sa capacité de transduction et son tropisme cellulaire, en modulant la capside et la séquence du promoteur.

Par convention, le vecteur AAV est délivré par injection sous-rétinienne pour cibler les cellules externes de la rétine (photorécepteurs résiduels ou cellules bipolaires) et par injection intravitréenne pour cibler les cellules ganglionnaires. Une approche récente a cependant permis d'identifier un vecteur AAV 7m8 qui permet la transduction des photorécepteurs [9] et des cellules bipolaires [10] après administration intravitréenne chez la souris et le primate. Dans la rétine humaine, on observe une expression de l'opsine beaucoup plus réduite en surface que chez la souris, limitée princi-

palement à la région parafovéale. Cette différence semble s'expliquer par la barrière mécanique de la membrane limitante interne qui est plus épaisse chez les primates que dans la rétine murine.

Essais cliniques

Plus d'une décennie de recherche sur les approches thérapeutiques par optogénétique des IRD a donné lieu à quatre essais cliniques de phase I/II en cours chez l'homme (https://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=&term=optogenetic&cntry=&state=&city=&dist =) (***tableau I***) [11]. Les patients inclus présentent une RP évoluée avec une acuité visuelle comprise entre "absence de perception lumineuse" et "voit bouger la main", dont les structures rétiniennes internes sont relativement préservées en tomographie par cohérence optique.

Le critère de jugement principal de ces essais cliniques est la tolérance ou l'innocuité. L'efficacité sur la fonction visuelle, la mobilité et la qualité de vie des patients est un critère d'évaluation secondaire.

>>> Le premier essai a été mené par RetroSense Therapeutics en 2015 (NCT02556736), portant sur l'administration intravitréenne de ChR2 à l'aide d'un vecteur AAV2 chez 14 patients. Peu de données ont été publiées concernant les résultats. Aucun effet indésirable grave n'a été signalé, hormis une uvéite intermédiaire chez un patient résolutive sous traitement corticoïde.

>>> Un essai de phase I/IIa menée par GenSight Biologics et intitulée PIONEER (NCT03326336) a débuté en 2017. L'approche repose sur l'injection intravitréenne d'un vecteur AAV2/7m8 exprimant une rhodopsine à canal modifié (ChrimsonR) sous le contrôle d'un promoteur CAG ubiquitaire ciblant les cellules ganglionnaires, en combinaison avec un dispositif médical de type lunettes de stimulation lumineuse. Les résultats prometteurs du premier patient ont été publiés en 2021 (***fig. 3***) [12]. Douze mois après injection et réhabilitation visuelle, le patient a montré une

	Phase	Patients	Date réelle de début de l'étude	Médicament	Outil	Vecteur	Intervention	Sponsor	Résultats rapportés
NCT02556736	I/IIa	Rétinite pigmentaire	14/12/2015	RST-001	ChR2	AAV2	Injection intravitréenne	AbbVie, Chicago, IL, USA (Allergan Inc., Irvine, CA, USA)	Clinical trials.gov. (https:/ / clinicaltrials.gov/ ct2/show/results/ NCT02556736 accessed on 29 September 2022.)
NCT03326336 (PIONEER)	I/IIa	Rétinite pigmentaire	26/09/2018	GS030-DP/ GS030-MD	ChrimsonR	AAV2(7m8)	Injection intravitréenne	GenSight Biologies, Paris, France	Sahel *et al.* [27]
NCT04919473, NCT04945772 (RESTORE)	I/IIa, b	Rétinite pigmentaire	23/10/2019, 13/07/2021	vMCO-010	MCO	AAV2	Injection intravitréenne	Nanoscope Therapeutics Inc., Dallas, TX, USA	Press release (https:/ /www.ophthalmologytimes.com/view/ optogenetic-gene-therapy- restores-vision-in-11-rp-patients accessed on 29 September 2022.)
NCT04278131	I/II	Rétinite pigmentaire	06/02/2020	BS0l	ChronosFP	AAV Sérotype précisé	Injection intravitréenne	BionicSight LLC, New York, NY, USA	Press release (https:/ /www.globenewswire.com/news-release/2021/03/30/2201412/0/en/First-Four-Patients-In-Bionic-Sight-s-Optogenetic- Gene-Therapy-Trial-Are-Able-To- Detect-Light-And-Motion.html accessed on 29 September 2022.)
NCT05417126 (STARLIGHT)	IIa	Maladie de Stargadt	05/07/2022	vMCO-010	MCO	AAV2	Injection intravitréenne	Nanoscope Therapeutics Inc., Dallas, TX, USA	Non rapportés

Tableau I : Essais cliniques d'optogénétique en cours dans le monde [11].

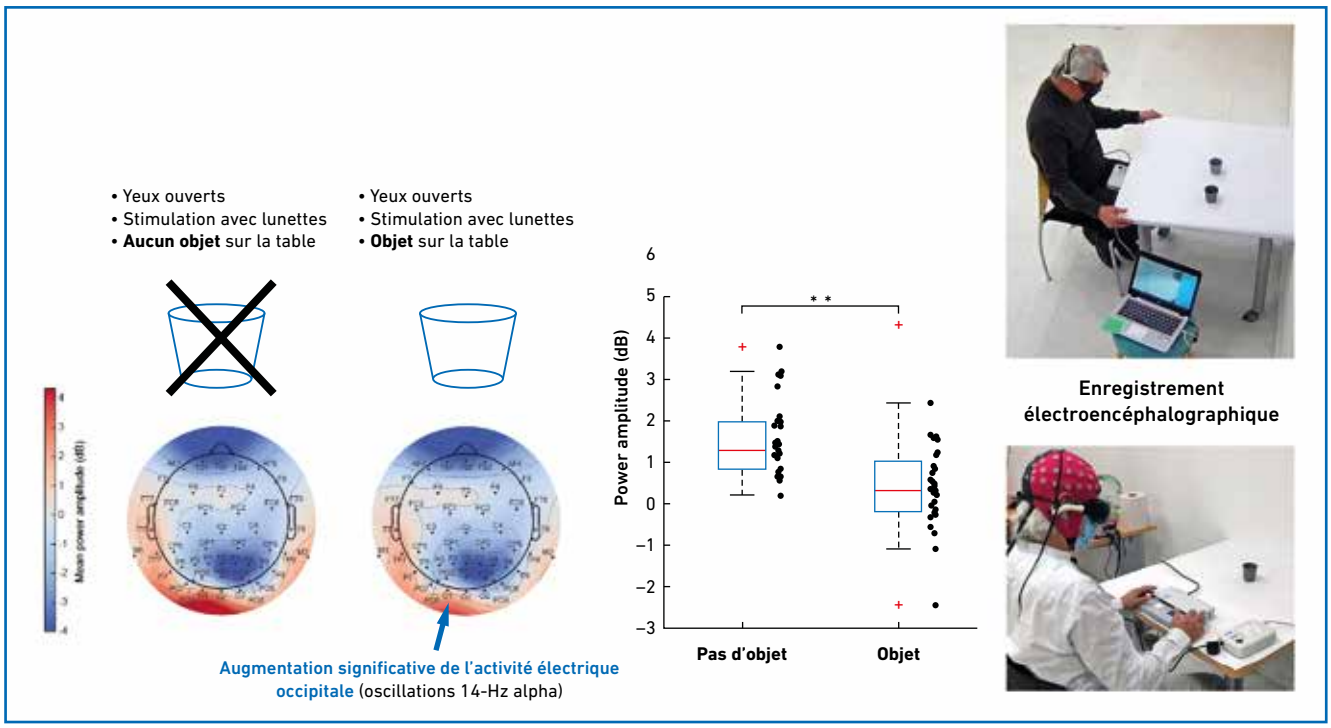

Fig. 3 : Résultats à 1 an du premier patient traité par optogénétique dans le cadre de l'étude PIONEER menée par GenSight Biologics. Patient de 58 ans atteint d'une rétinite pigmentaire évoluée avec perception lumineuse positive aux deux yeux. Après injection et réhabilitation visuelle, le patient peut percevoir, compter et localiser des objets sur une table, *via* un système de lunettes de stimulation lumineuse. L'enregistrement par électroencéphalogramme révèle une activité électrique du cortex visuel occipital déclenchée par la perception visuelle du patient [12].

amélioration de la fonction visuelle telle qu'il pouvait percevoir, localiser et compter divers objets de taille et contraste variable, en portant ses lunettes de stimulation lumineuse. Les enregistrements électroencéphalographiques ont mis en évidence une activité électrique dans le cortex visuel occipital semblant correspondre à la perception visuelle de ces objets.

>>> Un autre essai clinique de thérapie optogénétique utilise une rhodopsine à canal alternatif appelée ChronosFP associée à un vecteur viral AAV2 et un dispositif prothétique (Bionic Sight LLC, NCT04278131). Un communiqué de presse en mars 2021 indique que 4 patients ont été capables de détecter la lumière et le mouvement 2 à 3 mois après le traitement. Aucun effet indésirable n'a été signalé.

>>> Une quatrième approche dirigée par Nanoscope Therapeutics cible les cellules bipolaires *via* l'injection intravitréenne d'un vecteur AAV2 exprimant une opsine polychromatique appelée opsine multi-caractéristique (MCO). Cette approche présente l'avantage de ne pas nécessiter l'utilisation d'un dispositif médical pour le traitement de l'image et la stimulation lumineuse. Une étude de phase I/II d'escalade de dose a été réalisée chez 11 patients (NCT04919473). Un communiqué de presse rapporte les résultats à 1 an qui indiquent une amélioration, chez tous les patients, de la discrimination des formes et des tests de mobilité. Aucun problème de tolérance n'a été signalé. Un essai de phase II (NCT04945772) est en cours pour la maladie de Stargardt.

Conclusion

L'optogénétique constitue l'un des espoirs thérapeutiques majeurs des IRD au stade avancé. Elle présente l'avantage d'être une approche indépendante de la cause génétique sous-jacente. Son efficacité a été démontrée chez l'animal dans de nombreuses publications [1]. Les premiers essais cliniques chez l'homme sont en cours, dont les résultats révèlent une bonne tolérance et une relative amélioration de la fonction visuelle, notamment pour la détection des formes et des mouvements.

Cependant, plusieurs défis restent à relever, en particulier la faible sensibilité à la lumière des outils optogénétiques, nécessitant l'utilisation d'une interface lunettes pour augmenter la stimulation lumineuse.

De plus, il est nécessaire d'améliorer la qualité de transduction de l'opsine et de cibler encore plus spécifiquement un type de cellule rétinienne afin de respecter au mieux le fonctionnement rétinien physiologique.

Enfin, la dégénérescence cellulaire rétinienne des IRD s'accompagne d'un remodelage rétinien complexe encore mal connu, incluant une hypertrophie gliale, des phénomènes de "recâblage" et de "reprogrammation neuronale" qui modifient les circuits rétiniens classiques. L'impact de ces modifications rétiniennes sur la réponse visuelle obtenue *via* les méthodes d'optogénétique ainsi que l'éventuel rôle compensateur du cortex visuel sont actuellement inconnus.

BIBLIOGRAPHIE

1. De Silva SR, Moore AT. Optogenetic approaches to therapy for inherited retinal degenerations. *J Physiol*, 2022;600:4623-4632.
2. Zemelman BV, Lee GA, Ng M *et al.* Selective photostimulation of genetically chARGed neurons. *Neuron*, 2002;33:15-22.
3. Nagel G, Szellas T, Huhn W *et al.* Channelrhodopsin-2, a directly light-gated cation-selective membrane channel. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003;100:13940-13945.
4. Bi A, Cui J, Ma YP *et al.* Ectopic expression of a microbial-type rhodopsin restores visual responses in mice with photoreceptor degeneration. *Neuron*, 2006;50:23-33.
5. Zhang F, Wang LP, Brauner M *et al.* Multimodal fast optical interrogation of neural circuitry. *Nature*, 2007;446: 633-639.
6. Berry MH, Holt A, Salari A *et al.* Restoration of high-sensitivity and adapting vision with a cone opsin. *Nat Com*, 2019;10:1221.
7. Do MT, Kang SH, Xue T *et al.* Photon capture and signalling by melanopsin retinal ganglion cells. *Nature*, 2009;457:281-287.
8. Maguire AM, Russell S, Wellman JA *et al.* Efficacy, safety, and durability of voretigene neparvovec-rzyl in RPE65 mutation-associated inherited retinal dystrophy: Results of phase 1 and 3 trials. *Ophthalmology*, 2019;126: 1273-1285.
9. Dalkara D, Byrne LC, Klimczak RR *et al.* In vivo-directed evolution of a new adeno-associated virus for therapeutic outer retinal gene delivery from the vitreous. *Sci Transl Med*, 2013;5:189ra176.
10. Macé E, Caplette R, Marre O *et al.* Targeting channelrhodopsin-2 to ON-bipolar cells with vitreally administered AAV Restores ON and OFF visual responses in blind mice. *Mol Ther*, 2015;23:7-16.
11. Sakai D, Tomita H, Maeda A. Optogenetic Therapy for Visual Restoration. *Int J Mol Sci*, 2022;23:15041.
12. Sahel JA, Boulanger-Scemama E, Pagot C *et al.* Partial recovery of visual function in a blind patient after optogenetic therapy. *Nature Medicine*, 2021;27: 1223-1229.

E. BOULANGER-SCEMAMA
Fondation ophtalmologique A. de Rothschild, PARIS ; Centre ophtalmologique COPSO, ORSAY.

L'auteure a déclaré ne pas avoir de liens d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.