

Nos travaux de thérapie génique pour l'Ataxie de Friedreich-Pr Jacques P Tremblay (CHU de Québec, Canada)

Article de début de travaux - Décembre 2017

Premiers résultats

L'Ataxie de Friedreich est due à une réduction de la protéine frataxine induite par la présence d'une augmentation du nombre de triplets de nucléotides *GAA* dans l'intron 1 de ce gène. Toutes les recherches réalisées dans mon laboratoire ont pour but de développer un traitement pour cette maladie en augmentant l'expression de la frataxine dans les cellules des patients, particulièrement les cellules du cerveau (les neurones) et celles du cœur (les cardiomyocytes). Les travaux subventionnés par l'AFAF visent à poursuivre des recherches de thérapies géniques pour lesquelles nous avons déjà de très bons résultats.

Nous avons en effet démontré que l'administration de Virus Associés à l'Adénovirus (AAV) contenant le gène de la frataxine humaine augmente la survie de souris modèles (MCK-Cre et NSE-Cre) de l'Ataxie de Friedreich (1).

Ces souris contiennent un gène de la frataxine qui est rendu non-fonctionnel lorsqu'elles sont croisées avec des souris qui expriment l'enzyme Cre-recombinase dans certaines cellules. Ces modèles animaux sont intéressants mais ne sont pas tout à fait représentatifs de la situation chez les patients Friedreich. En effet, ces souris ont une absence complète de frataxine dans les cellules du cœur (MCK-Cre et NSE-Cre) et du cerveau (NSE-Cre) dès un stage précoce de leur développement embryonnaire. Ces souris naissent donc avec des symptômes très sévères et meurent donc après quelques semaines sans traitement.

La thérapie génique avec un AAV-frataxine prolonge leur survie (sans traitement les souris NSE-Cre meurent vers 35 jours) et atténue temporairement leurs symptômes, mais les souris NSE-Cre développent tout de même des symptômes neurologiques et doivent être sacrifiées vers 3 mois.

Nous souhaitons continuer des expériences déjà en cours avec un autre modèle de l'Ataxie de Friedreich, les souris YG8R développée par le Dr. Pook. Cette souris

contient une seule copie du gène de la frataxine dérivé d'un patient Friedreich. Ce gène contient une longue répétition de GAA.

Ces souris YG8R n'ont pas de symptômes à la naissance car comme les patients Friedreich, elles produisent un peu de frataxine. Cependant à partir de l'âge de 6 mois elles commencent à avoir des problèmes de coordination, elles ont de la difficulté à traverser un pont étroit et à se tenir sur une roue qui tourne. Ces symptômes s'aggravent avec l'âge. Ces souris sont donc un modèle plus représentatif de la pathologie humaine.

Nous avons déjà commencé des expériences de thérapie génique (administration de l'AAV9-frataxine) avec des souris YG8R qui contiennent 2 copies en tandem du gène de la frataxine humaine.

Dans la plupart de ces expériences préliminaires, le vecteur viral a été injecté à de jeunes souris (un mois). Ce traitement semble prévenir le développement de symptômes. Nous avons aussi injecté l'AAV-frataxine à une seule souris à un stade avancé, âgée de 15 mois. Nos résultats préliminaires indiquent que les symptômes sont réduits par ce traitement.

Les études réalisées sur ce modèle animal pour vérifier si on peut prévenir, voire renverser partiellement les symptômes de la maladie sont très importantes pour pouvoir demander à Santé Canada l'autorisation de faire un essai clinique avec des patients Friedreich.

Nos travaux d'approches thérapeutiques - Pr Jacques P. Tremblay (Québec)

Article de fin des travaux - Juillet 2017

L'équipe du Dr. Jacques P. Tremblay (Centre de Recherche du CHU de Québec-Université Laval) poursuit ses travaux de recherche pour développer un traitement pour l'Ataxie de Friedreich.

Cette maladie est due à une mutation dans le gène de la frataxine : une augmentation du nombre de tri-nucléotides *GAA* dans l'intron 1 de ce gène. Cette mutation diminue la production de la protéine frataxine ce qui mène à la mort des cellules du cerveau (les neurones) et du cœur (les cardiomyocytes) ce qui entraînent les symptômes neuronaux et cardiaques.

Cette équipe travaille sur 3 approches thérapeutiques différentes pour augmenter l'expression de la protéine frataxine :

- 1) livrer le gène normal de la frataxine avec un vecteur associé à l'adénovirus (AAV)
- 2) cibler le promoteur de la frataxine avec des protéines TALEs fusionnées avec un peptide (VP64) qui recrute des facteurs de transcription
- 3) enlever la répétition *GAA* dans l'intron 1 du gène de la frataxine avec le nouveau système CRISPR/Cas9 qui permet de couper l'ADN à des endroits exacts (avant et après la répétition de *GAA*).

Ces trois approches thérapeutiques sont toutes prometteuses et ont toutes fait l'objet de publications scientifiques par notre équipe. Elles ont un point commun : elles demandent la livraison dans les cellules du cerveau et du cœur, de gènes codant soit pour la frataxine, les protéines TALEs ou la protéine Cas9 et des ARN guides (système CRISPR/Cas9). La meilleure façon est d'utiliser un AAV. Il y a plus d'une centaine de sortes (des sérotypes) d'AAV qui ont déjà été identifiés.

Malheureusement tous ces sérotypes sont contrôlés par une compagnie américaine appelée RegenXBio Inc. Cette compagnie demande au départ un million de dollars américains pour une licence pour un sérotype pour une maladie donnée. De plus d'autres paiements seront requis lors des passages aux essais cliniques de phase 2 et de phase 3 et à la commercialisation du traitement. Pour ne pas avoir à payer de telles sommes, l'équipe du Dr. Tremblay a récemment obtenu d'Ataxie Canada une subvention pour développer un nouveau sérotype d'AAV capable d'infecter le cerveau et le cœur. Ce projet prendra environ un an.

Le Dr. Tremblay et le Dr. Antoine Duquette (neurologue de l'hôpital Notre Dame à Montréal) ont eu en octobre 2016 une rencontre préliminaire avec Santé Canada pour établir les objectifs à atteindre pour pouvoir faire un essai clinique de thérapie génique avec l'une de ces approches. Pour faire un tel essai clinique, les AAV doivent être produits dans des conditions extrêmement rigoureuses de Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF). Il n'existe pas actuellement de laboratoire au Canada capable de produire des AAV en condition BPF. Il faut faire appel à des compagnies ou à des universités américaines et le prix de production varie entre 2 et 16 millions de dollars américains pour la production des virus nécessaires pour un essai clinique sur 9 patients.

Afin de produire au Québec dans des conditions BPF, les vecteurs viraux nécessaires pour traiter non seulement l'Ataxie de Friedreich mais un grand nombre d'autres maladies héréditaires présentes au Québec, le Dr. Tremblay a préparé un plan en collaboration le Conseil national de recherches Canada, (CNRC) et avec le centre de recherche de l'hôpital Maisonneuve Rosemont, HMR de Montreal).

Le plan présenté au gouvernement du Québec prévoit donc l'achat des équipements nécessaires, la formation d'une équipe de techniciens pour le développement des procédures détaillées de production en BPF et la production de deux lots de virus adéquats pour des essais cliniques (dont un sur l'ataxie de Friedreich) approuvés par Santé Canada. Ce plan a été présenté au Ministère de l'Économie Science et Innovation (MESI) mais n'a pas encore été approuvé.

La production de vecteurs viraux dans ce nouveau laboratoire permettrait de faire des essais cliniques au Québec non seulement pour l'Ataxie de Friedreich mais aussi pour beaucoup d'autres maladies héréditaires du Québec. Un tel laboratoire permettra de développer au Québec plusieurs compagnies de biotechnologie.