

Le dossier



Depuis l'arrivée de la vaccination anti-Covid, nous n'entendons plus parler que de l'ARN. Comme sorties de nulle part, ces trois lettres commencent parfois à voler la vedette aux anciennes stars, les molécules chimiques, les vaccins traditionnels et même la thérapie génique. Il semblerait que l'ARN soit sur le point de tout révolutionner : les vaccins mais aussi les traitements, avec plusieurs pistes thérapeutiques à la clé contre la mucoviscidose.

L'ARN QU'EST-CE QUE C'EST ?

Depuis la Covid-19, nous entendons souvent parler d'ARN. De quoi s'agit-il ? À travers ce dossier, nous allons essayer d'y voir plus clair... Décryptage !

ZOOM SUR L'ARN MESSAGER

Acronyme qui fait le tour de la planète, L'ARNm se place littéralement comme une avancée majeure dans le domaine de la vaccination. De quoi parle-t-on exactement ?

PLUSIEURS PISTES THÉRAPEUTIQUES

Véritable révolution dans le monde médical ? Focus sur 5 pistes thérapeutiques.

Mais qu'est-ce que l'ARN au juste ? L'ARN, abréviation d'Acide RiboNucléique, est une molécule extrêmement proche de l'ADN dans sa structure et qui permet de transformer l'information génétique codée par l'ADN en molécules réelles, des protéines, pour structurer et faire fonctionner l'organisme. C'est dire si son rôle est important ! Ce qui a mis l'ARN sur le devant de la scène est l'arrivée inespérée des vaccins à ARN contre la Covid-19. Deux d'entre eux sont sortis coup sur coup en Europe (Moderna et BioNTech/Pfizer), suscitant l'espoir de mettre un terme à une situation épidémique très éprouvante. Mais en réalité l'ARN est étudié depuis plusieurs années et permet déjà de soigner certaines maladies ! Cela était passé beaucoup plus inaperçu mais se fait maintenant savoir car les chercheurs et les laboratoires sont prêts : des dizaines de nouveaux médicaments à base d'ARN sont en cours de développement et attendus dans les prochaines années dans des indications très variées ; maladies métaboliques, infectieuses, génétiques ou encore cancers. Ils pourraient apporter une solution là où les traitements traditionnels à base de molécule chimique ou biologique échouent. Plusieurs projets sont notamment en cours dans la mucoviscidose et ciblent différents profils génétiques.

Pourquoi c'est une très bonne nouvelle ?

Les nouveaux traitements à base d'ARN sont en pleine expansion et c'est une très bonne nouvelle car les médicaments tels qu'ils ont été développés jusqu'à ont leurs limites. Les molécules chimiques qui composent aujourd'hui l'essentiel de la pharmacopée ne pourront jamais soigner toutes les maladies et présentent une certaine toxicité.

Pour bien comprendre, il faut s'imaginer une protéine de l'organisme avec sa forme particulière.

Pour moduler son activité, la molécule chimique doit pouvoir interagir avec elle. Or, des freins de nature physique (par exemple la forme) ou chimique (comme des liaisons impossibles à effectuer) empêchent cette interaction dans un certain nombre de cas. Sur environ 20 000 protéines humaines, les scientifiques estiment que seulement 3 000 environ sont « médicamentables » et en 2017, seulement 667 étaient la cible d'un médicament ! Sans compter toutes les maladies liées à l'absence totale ou quasi-totale d'une protéine, ce qui ne permet même plus de

la cibler. Les ARN thérapeutiques permettent de contourner ces problèmes en modulant le niveau de production de toutes ces protéines. C'est dire le champ des possibles ! ●●●

Les nouveaux traitements à base d'ARN sont en pleine expansion et c'est une très bonne nouvelle car les médicaments tels qu'ils ont été développés jusqu'à ont leurs limites.



3 000

protéines « médicamentables » parmi les environ 20 000 protéines humaines que nous possédons

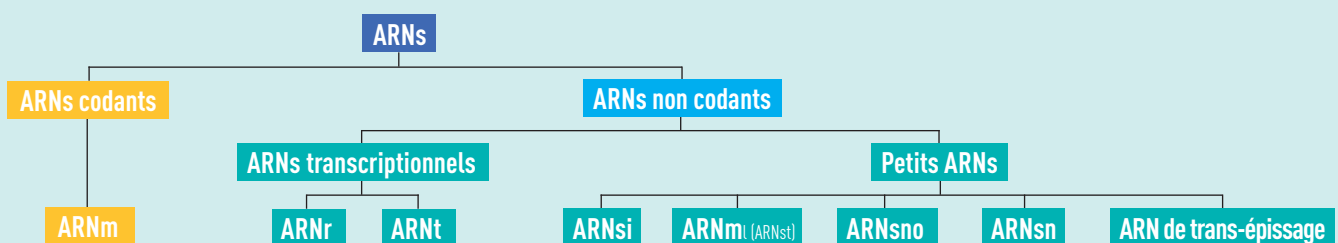
667

d'entre elles seulement sont la cible d'un médicament en 2017

L'ARN QU'EST-CE QUE C'EST ?

L'ARN est une molécule très proche de l'ADN, composée d'un enchaînement de quatre composants appelés ribonucléotides (adénine, cytosine, guanine et uracile) et formant un seul brin (alors que l'ADN est une hélice à deux brins). Il existe plusieurs types d'ARN dans une même cellule,

possédant des structures ou des fonctions différentes. Les chercheurs continuent d'en découvrir de nouveaux dont les rôles restent à préciser. Chez certains virus (le virus de la grippe, le VIH, le SARS-CoV2...) l'ARN constitue même le génome à la place de l'ADN.



ARN : différents types d'ARN, ARNm : ARN messenger, ARNr : ARN ribosomique, ARNt : ARN de transfert, ARNsi : *small interfering RNA* ou petit ARN interférent, ARNmi : micro ARN (qui comprennent les ARNst [*small temporal RNA* ou petit ARN temporaire], ARNsno : *small nucleolar RNA* ou petit ARN nucléolaire, ARNsn : *small nuclear RNA* ou petit ARN nucléaire.

•••

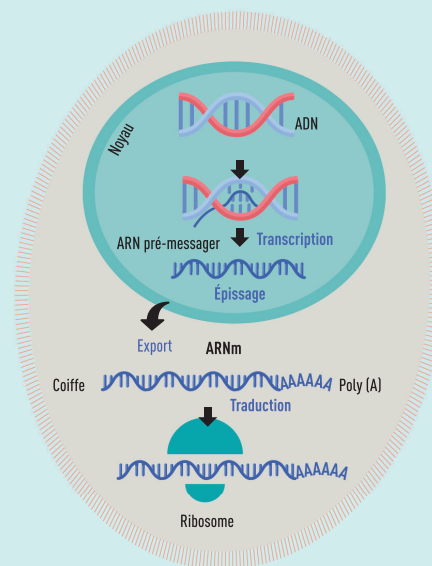
Sans compter la spécificité de cette approche. Alors qu'une molécule chimique interagit au minimum avec 5 à 10 protéines de l'organisme (la cible et d'autres molécules non ciblées mais présentant des homologues de structure) entraînant des effets indésirables plus ou moins importants, l'ARN thérapeutique modifie l'activité uniquement d'une protéine cible. « Je crois vraiment en cette approche pour cette raison : la spécificité. Je pense que nous parviendrons à développer des traitements beaucoup moins traumatiques pour l'organisme que les molécules chimiques obtenues jusque-là. Dans un premier temps, l'association des deux sera probablement nécessaire, d'autant plus que le stockage des ARN thérapeutiques doit se faire à très basse température ce qui peut être un obstacle logistique, et que l'effet thérapeutique sera peut-être limité du fait de certains obstacles. Mais j'ai bon espoir que l'accélération très marquée de la chimie de l'ARN au cours des dernières années facilitera considérablement leur utilisation et qu'il s'agira d'un outil thérapeutique majeur à l'avenir », estime Magali Taulan-Cadars.

Mais plonger dans l'univers des ARN n'est pas chose facile car il en existe de nombreux sous-types aux fonctions variées et aux mécanismes d'actions pas toujours très simples ! Nous essayons à travers ce dossier de vous faire découvrir cette nouvelle approche thérapeutique à l'aide d'exemples et de schémas. Le but étant de vous faire découvrir les enjeux dans la mucoviscidose et les espoirs que cette nouvelle dynamique suscite. Nous parlerons ici uniquement des ARN déjà utilisés en médecine et qui offrent de nouvelles pistes de recherche contre la mucoviscidose (voir encadrés) :

- les ARN messagers (ARNm) qui servent de patron pour la fabrication des protéines ;
- les ARN interférents, qui se lient spécifiquement à de l'ARNm et empêchent la production de protéine ;
- les oligonucléotides antisens, des fragments d'ARN (ou d'ADN) synthétiques, qui s'associent spécifiquement à une séquence d'ARNm pour en modifier la lecture. •••

L'ARN MESSAGER

L'ARN messager porte bien son nom. C'est un véritable messenger de l'information génétique. Produit à partir d'une séquence d'ADN (un gène), il sert ensuite de support à la fabrication de la protéine codée par ce gène. L'ADN reste, lui, à l'abri dans le noyau et sera transmis de cellule en cellule. L'ARNm est en quelque sorte la photocopie d'une page d'ADN destinée à être lue



puis détruite. La durée de vie d'un ARNm est en effet courte, allant de seulement quelques minutes à quelques jours au plus, selon la présence de molécules stabilisatrices ou non. En comparaison, l'ADN reste présent toute la vie dans la cellule et même après ; on peut en effet en retrouver dans des restes datant de la préhistoire ! Si l'ARNm est désormais célèbre, c'est grâce aux vaccins à ARNm anti-Covid. Avant, ces trois lettres ne signifiaient pas grand-chose pour le grand public, de sorte que cette nouveauté a surpris, voire inquiété. Par contre, elle n'a pas étonné les scientifiques qui misent sur cette approche depuis plusieurs années. La littérature scientifique témoigne de l'intérêt constant de certains chercheurs pour l'ARNm au cours des dernières décennies et les travaux de Katalin Kariko, la chercheuse et vice-présidente de BioNTech qui a développé le vaccin à ARNm BioNTech/Pfizer, ont par exemple débuté dans les années 80.

Quel intérêt thérapeutique ?

L'idée est de faire produire une molécule d'intérêt pour la santé par nos propres cellules en administrant l'ARNm correspondant. Dans le cas de la vaccination anti-Covid, il s'agit de l'ARNm codant pour la protéine du virus SARS-CoV2 appelée « spike » qui lui sert à entrer dans les cellules de l'hôte. Le système immunitaire reconnaît cette protéine comme si elle était portée par le virus lui-même et apprend à l'éliminer. Ces vaccins ont ouvert une nouvelle voie. Il paraît désormais possible de développer rapidement des vaccins si de nouvelles maladies émergentes venaient à se déclarer. Mais surtout, nous détenons désormais la preuve formelle, et à l'échelle mondiale, que nos cellules savent produire des protéines qui pourraient avoir un intérêt thérapeutique, à condition de leur fournir le bon ARNm.

LES VACCINS À ARNm

Classiquement et depuis Louis Pasteur, les vaccins sont conçus à partir d'un agent infectieux atténué ou inactivé ou certains de ses composants. Administrés par injection sous-cutanée ou intramusculaire, ils sont reconnus par le système immunitaire qui développe des anticorps spécifiques et une réponse mémoire qui permettra de lutter contre l'agent infectieux s'il venait à être rencontré de nouveau.

Avec les vaccins à ARNm, l'idée est de faire produire des composants viraux ou bactériens par nos propres cellules, comme si elles étaient infectées mais sans développer de symptômes. Plus besoin de cultiver des germes potentiellement très dangereux en laboratoire ou de faire produire et de purifier certains de leurs composants *in vitro*. À l'inverse, fabriquer de l'ARNm sur mesure est devenu un jeu d'enfant pour des sociétés spécialisées. Seule difficulté : protéger ensuite ces ARNm de la dégradation ; d'où la nécessité de les maintenir à extrêmement basse température. C'est pour cette raison que les vaccins anti-Covid-19 doivent être stockés à une température inférieure à -20 °C.

Les vaccins à ARNm sont-ils sûrs ?

Les vaccins à ARNm ont suscité un certain émoi au départ.

Utiliser du matériel génétique ? Dangereux !

Un développement en quelques mois ? Inconscient !

Si les interrogations étaient légitimes, les réponses ont été progressivement apportées, notamment sur la sécurité d'utilisation : un ARNm ne peut tout simplement pas s'intégrer dans notre patrimoine génétique. En revanche, comme tout produit de santé, ces vaccins peuvent entraîner des effets indésirables, y compris à long terme, que les autorités de santé suivent avec la plus grande attention.

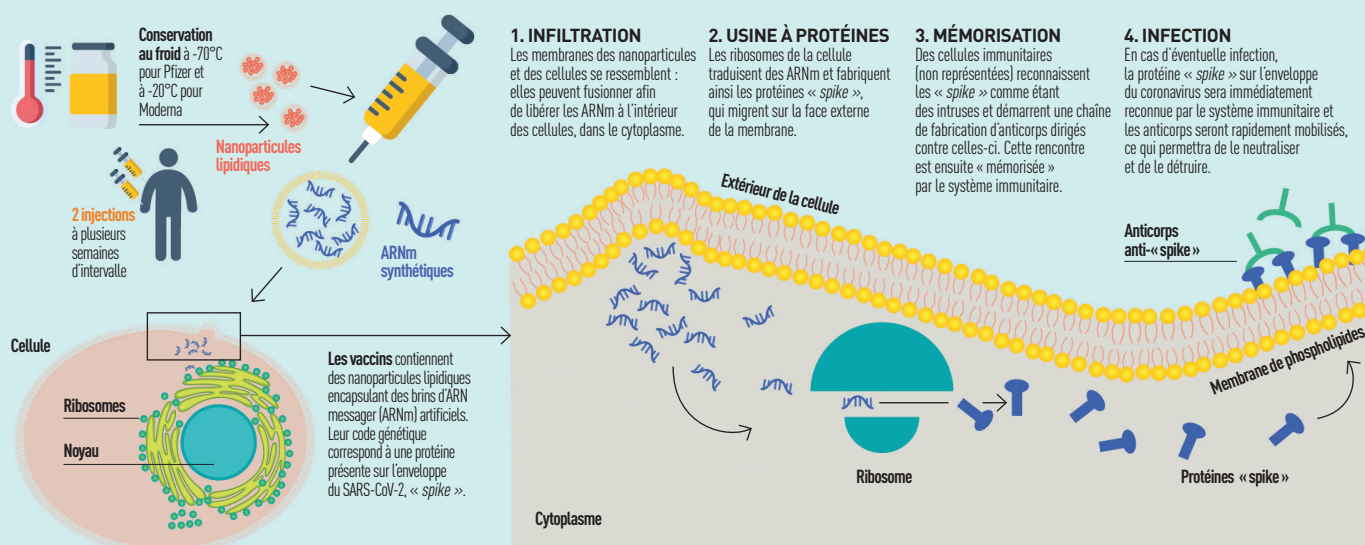
Quant à la rapidité du développement, quelques mois seulement contre plusieurs années pour les vaccins développés jusque-là, elle s'explique également. Les sociétés qui les ont produits travaillaient en fait depuis plus de dix ans sur ces vaccins. Des essais étaient déjà en cours contre le virus Zika, de la grippe ou le VIH et les premiers résultats étaient concluants. La pandémie a simplement servi d'accélérateur à un concept déjà exploré depuis plusieurs années.

Sans compter l'importance des financements publics, la mobilisation des autorités sanitaires et la quantité de personnes volontaires pour les essais cliniques compte tenu de l'importance de la circulation du virus ; autant de facteurs qui ont permis de réduire les délais à chaque étape.

Non, le développement n'a pas été bâclé ; oui, il a été effectué dans les normes. Les chercheurs étaient juste dans les starting-blocks !

Les vaccins à ARN messenger, comment ça marche ?

Les vaccins de Moderna et Pfizer utilisent de l'ARN messenger pour déclencher la production d'anticorps dirigés contre le SARS-CoV-2.



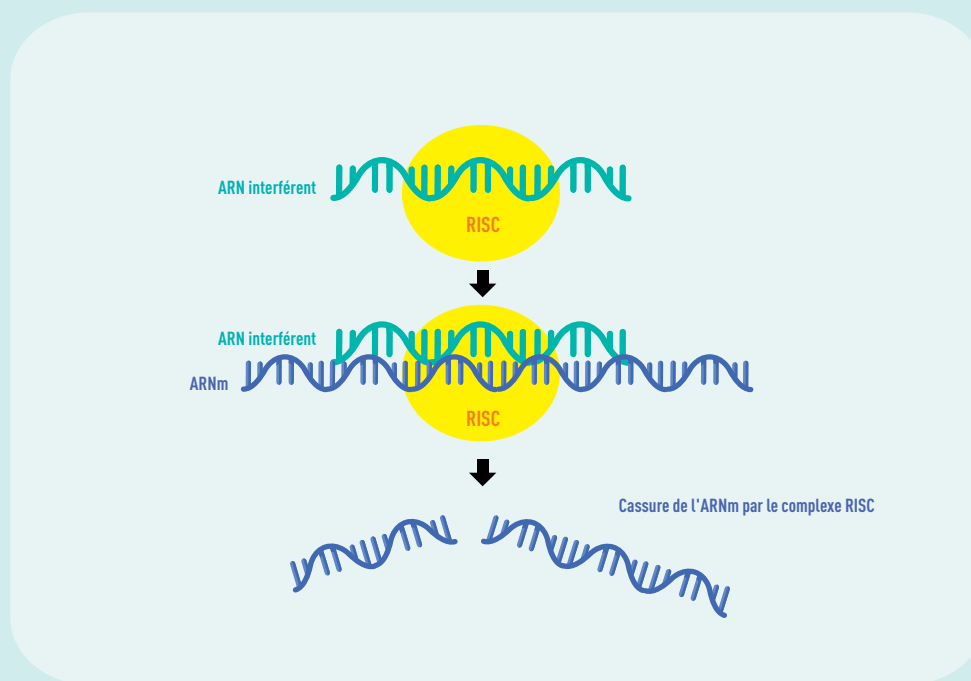
LES ARN INTERFÉRENTS

En parallèle, les chercheurs étudient également depuis plusieurs années un autre type d'ARN : les ARN interférents. Leur découverte a valu le prix Nobel à deux Américains en 2006 et ils ont déjà marqué plus de points à ce jour que les ARNm, puisque plusieurs médicaments sont déjà commercialisés sur la base de leur fonctionnement.

Là encore, il existe plusieurs types d'ARN interférents (ARNmi, ARNsi) mais focalisons-nous sur leurs points communs ! Il s'agit d'ARN de petite taille se fixant sur une région particulière d'un ARNm cible, entraînant la dégradation de cet ARNm et empêchant la production de la protéine correspondante. De plus en plus d'ARN interférents sont découverts. Ils ont un rôle physiologique très important et une dérégulation de leur expression est observée dans différentes pathologies allant des maladies rares aux plus communes jusqu'aux maladies cardiovasculaires ou le cancer.

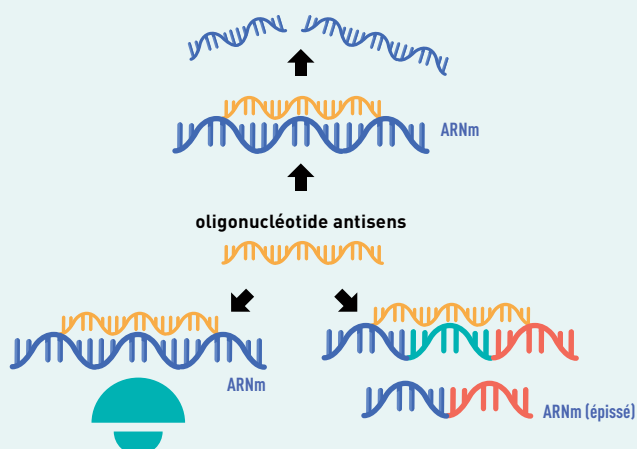
Quel intérêt thérapeutique ?

Les chercheurs se sont inspirés de ces ARN interférents pour en produire des synthétiques permettant de bloquer la production de protéines toxiques, responsables de certaines maladies autres que la mucoviscidose. Il suffit de connaître la séquence de l'ARNm à cibler, de fabriquer un petit ARN interférent spécifique et de l'administrer au malade : le tour est (presque) joué. Étant spécifiques d'un ARNm particulier, ils seront sans effet dans les cellules ne renfermant pas l'ARNm cible. Plusieurs médicaments à base d'ARN interférent sont déjà disponibles. À l'image du patisiran, commercialisé en 2017 et indiqué dans l'amylose hépatique héréditaire, une maladie sévère provoquée par l'accumulation d'une protéine, la transthyrétine. Le patisiran cible l'ARNm de cette protéine produite par les cellules du foie et s'y lie, entraînant sa destruction. Mais ces traitements à ARN interférent ne concernent pas que des maladies rares puisque l'agence européenne du médicament vient d'en autoriser un, l'inclisiran, destiné à lutter contre l'excès de cholestérol dans le sang, qui est un facteur de risque d'accident cardiovasculaire fréquent en population générale. Des dizaines d'autres sont en développement.



LES OLIGONUCLÉOTIDES ANTISENS

1. DÉGRADATION CIBLÉE DE L'ARNm ET FIXATION DE L'ASO



2. PRODUCTION D'UNE NOUVELLE PROTÉINE

3. MODIFICATION DE L'ÉPISSAGE

Il s'agit de courtes séquences d'ARN (ou d'ADN) synthétisées en laboratoire et complémentaires d'une région spécifique sur un ARNm cible. Selon l'endroit où l'oligonucléotide se fixe, il a un impact différent sur la production de la protéine. Il peut corriger un défaut sur l'ARNm pour obtenir une protéine fonctionnelle, ou encore augmenter ou réduire la quantité de cette dernière.

Quel intérêt thérapeutique ?

Plusieurs médicaments sont déjà à base d'oligonucléotides administrés par différentes voies et dans des indications variées contre une maladie de la vision (la dégénérescence liée à l'âge), l'hyper cholestérolémie ou encore l'amyotrophie spinale, une maladie rare. Et beaucoup d'autres sont en cours de développement dans tous les domaines thérapeutiques : cancer, infectiologie, maladies métaboliques. Les maladies génétiques représentent 13% de ces développements, incluant la mucoviscidose.

...

ARN thérapeutiques et mucoviscidose

Plusieurs équipes travaillent déjà sur l'utilisation d'ARN thérapeutiques dans le domaine de la mucoviscidose. L'objectif est de restaurer l'activité de CFTR mais aussi de jouer sur d'autres voies dans le but de réduire les symptômes de la maladie. Ce domaine de recherche est de plus en plus actif, offrant l'espoir de pouvoir un jour soigner tous les patients, y compris ceux qui ne répondent pas aux modulateurs de la protéine CFTR en raison de la nature de leur mutation et pour qui il n'y a actuellement pas de traitement spécifique.

...

Ce domaine de recherche est de plus en plus actif, offrant l'espoir de pouvoir un jour soigner tous les patients.



Administrer une copie saine de l'ARNm de CFTR dans les cellules des malades pour restaurer la production d'une protéine fonctionnelle

Cela a été tenté *in vitro* dans des modèles de cellules épithéliales (revêtement des poumons) de patients et *in vivo* chez la souris. Les chercheurs ont constaté une augmentation de la quantité et d'activité du canal CFTR. Cette stratégie aurait l'avantage d'apporter une solution à tous les patients, quelle que soit leur mutation. Mais un long travail reste à parcourir pour entrevoir une utilisation clinique chez l'Homme.

« Pour traiter une maladie comme la mucoviscidose, il faudrait des quantités considérables d'ARNm et des administrations très fréquentes. Or, les particules dans lesquelles ils sont véhiculés ne sont pas anodines. À base de lipides, elles déstabilisent les membranes cellulaires pour y introduire l'ARNm. Pour une administration ou deux comme dans le cas des vaccins anti-Covid à ARNm, cela ne présente pas de danger, mais pour des injections très régulières à très long terme, cela pose réellement question. À ce stade, il me semble illusoire de passer par là. Je pense beaucoup plus à la réussite d'une stratégie basée sur les ARN interférents si certains contribuent à améliorer la fonction des cellules », explique Jean-Christophe Pagès.



Visuel théorique
d'une molécule
d'ARN

Augmenter

la quantité d'ARNm de CFTR à l'aide d'oligonucléotides antisens

Magali Taulan-Cadars, à l'Université de Montpellier, explore cette voie avec le soutien financier de l'association Vaincre la Mucoviscidose, en partenariat avec l'AFM. Son équipe a déjà identifié deux petits ARN qui entraînent une dégradation de l'ARNm de CFTR dans le noyau des cellules, juste après sa fabrication à partir de l'ADN. En inhibant ces petits ARN à l'aide d'oligonucléotides, les chercheurs sont parvenus à augmenter la production de CFTR. De même, toujours à l'aide d'oligonucléotides, ils ont pu augmenter la production de CFTR en empêchant l'action d'un ARN interférent sur l'ARNm de CFTR. Leurs expériences sont concluantes dans

des modèles cellulaires d'épithélium reconstitué à partir de cellules de patients porteurs de la mutation F508del, avec une administration par semaine. Ce projet a été pris sous l'aile de la SATT AXLR, une société publique d'accélération d'innovations de la recherche pour des applications cliniques. « **Nous espérons passer bientôt chez l'animal avec une administration par voie inhalée, voire par voie orale afin de cibler également les organes digestifs touchés dans la maladie** », prévoit la chercheuse. En outre, couplés aux modulateurs de protéine CFTR, ces oligonucléotides renforcent l'efficacité de ces produits.

ONB : oligonucléotide bloqueur qui empêche la fixation des miARNs sur l'ARNm

Gapmer : oligonucléotide qui reconnaît la séquence lncRNA

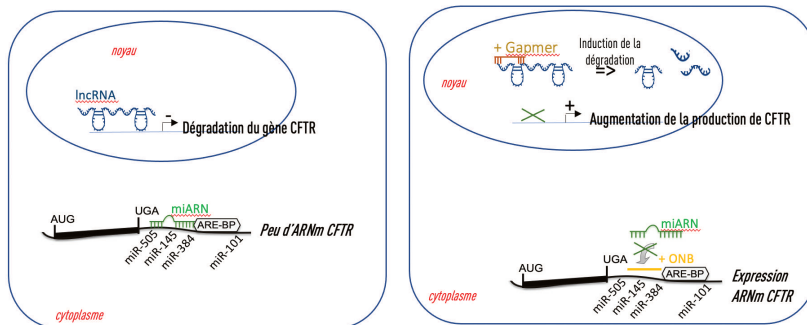
miARN : petit ARN non codant

lncRNA : long ARN non codant

ARE-BP : protéine de liaison à l'ARN qui participe au contrôle de la quantité d'ARNm

AUG : 1^{er} codon l'ARNm = codon initiateur

UGA : codon stop



Configuration de base chez un patient atteint de mucoviscidose : deux petits ARN (miARN et lncRNA) entraînent une dégradation de l'ARNm de CFTR dans le noyau des cellules.

En inhibant ces deux petits ARN, à l'aide d'oligonucléotides, les chercheurs sont parvenus à augmenter la production de CFTR.



Visuel théorique d'une cellule avec son noyau

Piste | 2

Riste | 3

10%

des malades concernés par la mutation "non-sens"



Visuel théorique de molécules

Restaurer

la production de protéine CFTR en cas de mutation « non-sens »

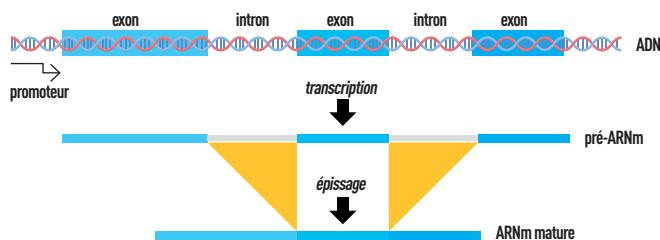
Ces mutations empêchent toute production de protéine CFTR, ce qui explique qu'aucun traitement modulateur de la protéine CFTR ne fasse effet chez ces patients. Environ 10% des malades sont concernés. Les mutations non-sens provoquent la formation d'un signal particulier sur l'ARNm qui entraîne sa dégradation rapide. **« Grâce au soutien de l'association, nous travaillons prioritairement sur la mucoviscidose, mais ces mutations ne sont pas spécifiques de cette maladie. Elles sont retrouvées chez environ 10% des patients atteints d'autres maladies monogéniques, comme la myopathie de Duchenne. S'y attaquer et trouver des moyens de contourner cette anomalie pour restaurer la production de la protéine est donc un enjeu majeur pour l'ensemble de ces maladies »**, explique Fabrice Lejeune.

Pour cela, lui et son équipe essaient de masquer ces mutations non-sens avec des molécules chimiques pour forcer la machinerie de lecture à ne pas s'interrompre. **« C'est un peu comme si on l'obligeait à faire une erreur pour passer outre : cela s'appelle la translecture »**. Ils ne sont pas les seuls à travailler dessus. Deux molécules mises au point par d'autres laboratoires sont déjà en développement mais l'une d'elles, l'Ataluren également développée dans la myopathie de Duchenne, a connu un arrêt forcé dans la dernière ligne droite du développement (phase 3) en raison de l'absence de bénéfice pour les patients. L'autre est développée par le laboratoire Eloxx, l'ELX-02, et est en phase 2 d'essai clinique. Elle s'adresse aux patients ayant une mutation non-sens G542X sur au moins l'une des copies du gène CFTR. Ce traitement est évalué en association avec l'ivacaftor (Kalydeco®). L'idée est de permettre la production de la protéine puis d'en augmenter l'activité. Fabrice Lejeune travaille sur une troisième molécule appelée 2,6 diamino-purine qui cible la mutation W1282X et apporte des résultats positifs dans des modèles cellulaires et chez la souris. **« La translecture est aujourd'hui l'approche thérapeutique la plus avancée pour traiter ces mutations. J'ai bon espoir qu'un médicament arrive d'ici quelques années »**. À noter que plusieurs traitements indiqués contre ces mutations non-sens ne seront pas de trop car ces dernières entraînent des modifications différentes sur l'ARNm ne pouvant pas être toutes reconnues par les mêmes molécules thérapeutiques, en tout cas à ce stade.

Restaurer

la production de protéine CFTR en cas de mutations « d'épissage »

L'une d'elles, c.3718-2477 C>T, est la 10^e mutation la plus fréquente dans le monde chez les sujets atteints de mucoviscidose. L'épissage est une étape de maturation de l'ARNm avant qu'il ne soit tout à fait prêt à être lu pour être traduit en protéine. Au cours de cette étape, des fragments sont éliminés (on les appelle les introns). Pour cela, une machinerie d'épissage reconnaît des signaux sur l'ARNm, des petites séquences spécifiques, qui lui indiquent à quel endroit il faut couper. Les mutations d'épissage se situent dans ces petites régions, ce qui perturbe la machinerie d'épissage qui coupe au mauvais endroit ou ne coupe pas du tout ! La version finale de l'ARNm mature s'en trouve modifiée et la protéine qui en résulte, dysfonctionnelle.



Nombreuses sont les équipes à s'y intéresser dans le but de corriger ces erreurs. C'est le cas de celle d'Alexandre Hinzpeter, chercheur INSERM à l'Institut Necker Enfants malades. « **Selon les mutations, nous cherchons à masquer certains sites d'épissage ou au contraire à augmenter leur reconnaissance. La première option est plus facile. L'utilisation d'oligonucléotides antisens permet de cacher des motifs à la machinerie d'épissage pour passer outre. Dans le second cas, il est nécessaire de créer un motif, en modifiant par exemple une base grâce à une enzyme spécifique positionnée sur un guide ARN, afin de restaurer un site d'épissage sain** », explique le chercheur. Alexandre Hinzpeter travaille à apporter la preuve de concept dans des modèles de cellules de patients atteints de mucoviscidose, dans un premier temps pour la mutation c.1585-1G>A.

Magali Taulan-Cadars y travaille également. Elle y est parvenue pour deux mutations très proches sur l'ADN, c.1680-883 G>A et c.1680-886 G>A dont les conséquences sont identiques. En administrant des oligonucléotides spécifiques de cette séquence mutée, son équipe est parvenue à rétablir la production de CFTR dans environ 70% des cellules de leur modèle d'épithélium *in vitro*. Depuis, les chercheurs ont « dessiné » cinq nouveaux oligonucléotides pour cibler spécifiquement six autres mutations d'épissage différentes. Ils vont les tester en cocktail ou individuellement, une stratégie destinée à accélérer le développement de cette association d'oligonucléotides, en incluant plus rapidement des patients atteints d'une de ces six mutations.

D'autres équipes y travaillent en parallèle, notamment aux États-Unis où des chercheurs ont développé un oligonucléotide ciblant la mutation c.3718-2477, permettant de restaurer la production de protéine sauvage dans des modèles de cellules de patients. Ces approches sont par ailleurs développées dans le cadre de plusieurs autres maladies monogéniques : la dystrophie musculaire de Duchenne ou l'amyotrophie spinale.

70%

des cellules de leur modèle d'épithélium *in vitro* connaissent un rétablissement de la production de CFTR

Piste | 4



Visuel théorique d'ARN et d'ADN

Piste | 5

Visuel d'une coupe semi-fine en résine de 0,5 micromètre d'épaisseur colorée au bleu de toluidine

Cibler des partenaires modificateurs

Alors que beaucoup travaillent sur l'ARNm de CFTR, d'autres se concentrent sur des cibles différentes. L'idée est de réduire, ou au contraire augmenter l'activité d'autres protéines impliquées dans les transports ioniques, l'immunité, l'oxydation ou encore la régénération cellulaire, jouant un rôle dans la maladie. Pour Jean-Christophe Pagès, cette piste est très prometteuse. **« En bloquant différents mécanismes qui contribuent à l'aggravation des symptômes de la mucoviscidose, nous devrions obtenir un effet significatif »**, espère-t-il.

L'équipe du Dr Olivier Tabary, au Centre de Recherche de l'hôpital Saint Antoine à Paris, travaille par exemple sur un canal chlorure ; pas le canal CFTR, mais un autre, ANO1, qui fonctionne mal chez les personnes atteintes de mucoviscidose, contribuant à la sécrétion de mucus et à l'inflammation. L'équipe a découvert qu'un ARN interférent appelé miR-9, surexprimé chez les patients, bloquait la production d'ANO1. Cette découverte a logiquement conduit les chercheurs à vouloir réduire la quantité de miR-9 dans les cellules. Pour cela, ils ont développé un oligonucléotide antisens se fixant spécifiquement sur l'ARNm d'ANO1 au niveau du site de reconnaissance de miR-9, pour l'empêcher de s'y lier. Ce travail a permis d'augmenter le nombre de canaux ANO1 dans des modèles de cellules de patients atteints de la mutation F508del, et dans un modèle de souris. **« Le traitement a considérablement amélioré l'état de santé des animaux, indépendamment de l'activité de la protéine CFTR elle-même. Alors que les souris meurent généralement d'occlusion intestinale dans les 20 à 40 jours après le sevrage, leur survie a été prolongée jusqu'à 200**

jours. En outre, elles avaient un poids corporel presque normal et pouvaient se reproduire alors que la maladie les rend habituellement stériles », explique Olivier Tabary. L'oligonucléotide est administré toutes les deux semaines par inhalation pour atteindre directement les cellules pulmonaires mais une voie sous cutanée est à l'étude pour que le médicament pénètre aussi dans les cellules des autres organes touchés comme le pancréas.

Forts de cette preuve de concept, les chercheurs veulent maintenant comparer l'efficacité avec les modulateurs de la protéine CFTR et tester cette approche dans des modèles présentant d'autres types de mutation afin de vérifier s'il s'agit d'une solution pour tous.

Un autre produit, cette fois en cours de développement clinique (phase 2) cible encore un autre canal appelé ENaC. Développé par le laboratoire Ionis, il s'agit d'un oligonucléotide antisens qui se fixe à l'ARNm d'ENaC pour en réduire la quantité. ENaC est en effet un canal important dans la régulation des échanges ioniques au niveau des cellules pulmonaires. Chez les personnes atteintes de mucoviscidose, ce canal est suractivé, entraînant une accumulation de mucus et une inflammation. Évaluées chez 98 patients atteints de mucoviscidose en Allemagne et au Royaume-Uni, quatre doses ont été testées et bien tolérées, et entraînent une réduction de moitié du taux d'ARNm d'ENaC.

« À terme, on pourrait imaginer un cocktail d'ARN thérapeutiques ayant pour cible des protéines directement impliquées dans la maladie ou contribuant à améliorer l'état général du patient, ciblant tous les niveaux de la maladie », espère Magali Taulan-Cadars. Maintenant, il reste à transformer l'essai...



Deux obstacles : stabilité et adressage

Pour développer des ARN médicaments, les chercheurs doivent contourner plusieurs difficultés majeures. « Pendant des années, les scientifiques ont boudé les ARN thérapeutiques en raison de leur instabilité car ils sont fragiles et très facilement digérés par des enzymes présentes dans toutes cellules et fluides biologiques, clarifie Palma Rocchi, directrice de recherche à l'INSERM, mais les scientifiques ont progressivement modifié leur structure et ont réussi à contourner en partie cet obstacle. C'est pourquoi l'entrée dans cette ère thérapeutique est enfin là ». Cependant, le Pr. Jean-Christophe Pagès, médecin et chercheur au CHU de Toulouse, prévient ; « Je ne pense pas que ce soit possible ou souhaitable que ces ARN présentent une stabilité à long terme. Dans la cellule, il y a un renouvellement régulier des protéines et des molécules qui s'y trouvent. Ces régulations sont essentielles à leur fonctionnement et ont fait l'objet de millions d'années d'évolution. Même en modifiant chimiquement les ARN, leur durée de vie devrait rester limitée. Je crois qu'il faudra se résoudre à des administrations continues avec ces produits » indique-t-il. De manière générale, il faudra d'ailleurs vérifier que ces ARN injectés en grande quantité ne génèrent pas une inflammation chronique comme le fait un virus à ARN par exemple.

Le ciblage des cellules est une autre préoccupation. Pour une bonne efficacité, l'ARN doit rentrer en quantité suffisante dans les bonnes cellules. Outre leur fragilité, les petits ARN et oligonucléotides sont rapidement filtrés au niveau des reins et éliminés. Et les ARNm sont au contraire un peu grands pour rentrer facilement dans les cellules.



Pour contourner ces obstacles, les ARN thérapeutiques sont le plus souvent empaquetés dans des particules qui permettent de franchir les membranes cellulaires.

Mais ce système est non spécifique : toutes les cellules rencontrées peuvent recevoir des ARN venant de l'extérieur. Les chercheurs tentent donc d'améliorer le ciblage afin qu'ils soient plus concentrés dans les cellules d'intérêt. Pour cela, des molécules reconnaissant spécifiquement les cellules d'intérêt sont fixées à la surface des nanoparticules. Cette approche a de beaux jours devant elle.

Des start-up se lancent déjà dans la course

Au moins trois start-up parient sur l'utilisation des ARN pour lutter contre la mucoviscidose. Les développements n'en sont qu'aux prémices mais ces engagements confortent les espoirs de voir des médicaments efficaces arriver d'ici quelques années. C'est le cas d'Arcturus, société américaine qui propose un ARNm de CFTR destiné à faire produire la protéine fonctionnelle par les cellules cibles du patient. ReCode, également américaine, s'attaque aux mutations non-sens et SpliSense, entreprise israélienne, a recours aux oligonucléotides pour corriger des mutations d'épissage. Tous ces projets en sont au stade pré-clinique ce qui signifie que les essais ont lieu sur des modèles de cellules en laboratoire ou chez l'animal. La prochaine étape, si tout se passe bien, sera l'essai clinique chez l'homme...

Nouveaux outils, nouvelles connaissances, nouveaux acteurs, la thérapie de l'ARN progresse à pas de géant. Nous attendons maintenant avec impatience des retombées concrètes pour lutter plus efficacement contre la mucoviscidose et pour apporter, espérons-le, de nouvelles solutions à tous ceux qui ne peuvent pas bénéficier des modulateurs de CFTR.



Dans la cellule, il y a un renouvellement régulier des protéines et des molécules qui s'y trouvent. Ces régulations sont essentielles à leur fonctionnement et ont fait l'objet de millions d'années d'évolution.

PR. JEAN-CHRISTOPHE PAGÈS,
MÉDECIN ET CHERCHEUR AU CHU
DE TOULOUSE