

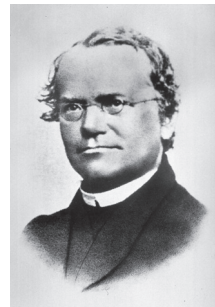
HISTORIQUE ET ENJEU MÉDICAL DE LA THÉRAPIE GÉNÉTIQUE

1

1• *L'aboutissement d'un siècle de recherches en génétique*

La thérapie génique n'est pas le fruit du hasard. Elle est au contraire le résultat d'un siècle de recherches en génétique qui ont d'abord permis de dégrossir peu à peu les règles fondamentales de cette science, et depuis un demi-siècle d'en comprendre en détail les mécanismes moléculaires.

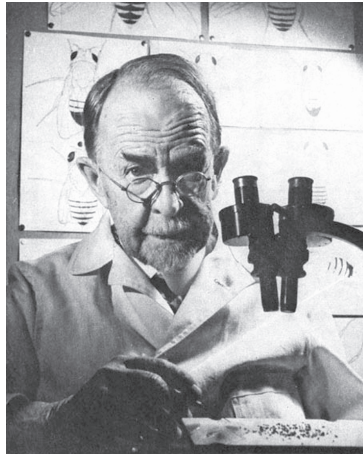
L'histoire officielle de la génétique débute aux environs de 1870 avec le moine autrichien Gregor Mendel. En croisant des pois de senteur dans le jardin de son monastère de Brno, Mendel met en évidence les règles de transmission des caractères héréditaires. Malheureusement pour Mendel, ses découvertes étaient trop en avance sur leur temps et furent ignorées (dans les deux sens du mot) par ses contemporains.



Gregor Mendel
(1822-1884), le « père »
de la Génétique

En pratique, les fondements de la génétique en tant que science ont été posés par l'austère TH Morgan au tout début du vingtième siècle. Travaillant sur la célèbre mouche drosophile encore très utilisée de nos jours, Morgan « redécouvre » les lois de Mendel* sur la transmission des caractères héréditaires entre générations, et y ajoute les siennes.

* Les mots en gras figurent dans le glossaire.

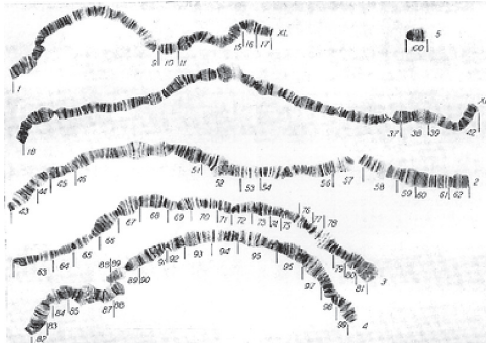


L'austère TH Morgan (1866-1945) redécouvrit et compléta les lois de Mendel en travaillant sur la mouche drosophile.

Peu après, ses élèves, en particulier Muller et Sturtevant, font le lien entre la génétique « informelle » de Morgan et ce qu'on voit au microscope : les chromosomes. Ils obtiendront tous les deux le prix Nobel pour ces découvertes essentielles. À partir des années 1920, on sait désormais de manière certaine que les chromosomes sont les porteurs de l'hérédité et que certaines altérations de ces chromosomes (mutations) visibles au microscope sont la cause directe de désordres morphologiques ou physiologiques.

Il faudra attendre 60 ans de plus pour que l'on sache identifier finement les mutations présentes dans les maladies génétiques, mais le concept est déjà là. D'autant que dans le même temps, c'est-à-dire durant le premier quart du XX^e siècle, la médecine a progressé dans la direction de ce qui deviendra la génétique médicale. Alors que jusqu'aux premières années du XX^e siècle, on considérait comme tares héréditaires aussi bien les véritables maladies génétiques que l'alcoolisme, le manque d'hygiène et l'illettrisme, les années 20 et 30 voient une clarification de cette confusion. Des médecins éclairés font le rapprochement entre les travaux réalisés sur la mouche drosophile par Morgan et ses élèves d'une part,

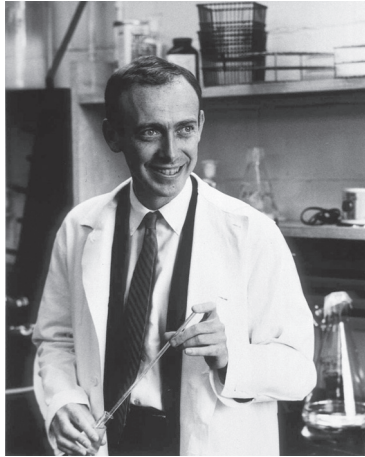
et leur pratique de la médecine d'autre part. Seules les véritables maladies génétiques ont une transmission dite « mendélienne », c'est-à-dire respectant des proportions précises dans la descendance, alors que les autres « tares » — pour reprendre le mot de l'époque — sont dues aux conditions de vie, et ne sont pas attachées strictement à la personne.



Les chromosomes géants de la drosophile permettent de démontrer que les gènes sont situés sur les chromosomes.

Deux autres grands caps devront pourtant encore être franchis avant que puisse émerger l'idée même de thérapie génique. Le premier l'est juste après la seconde guerre mondiale, au cours d'une décennie qui fut extrêmement productive pour la biologie. En 1944, L'américain Avery montre que l'acide désoxyribonucléique (ou ADN), une grande molécule que l'on avait négligée jusque-là, est le constituant fondamental des chromosomes. En effet, si depuis les travaux de Muller, on sait que les chromosomes tels qu'on les voit au microscope sont les porteurs de l'information héréditaire, on ignore de quoi ils sont faits. Avery résout donc cette énigme, et de découverte en découverte, le voile se leva progressivement sur cette molécule très particulière. En 1950, Chargaff montre que l'ADN est constitué de 4 éléments (appelés bases), l'Adénine, la Thymine, la Guanine, et la Cytosine (A, T, G, C en abrégé). En 1953, deux jeunes anglais, Watson et Crick, deviennent célèbres en déterminant la structure spatiale de l'ADN, ce qui permet du même

coup de comprendre comment l'ADN est transmis de cellule en cellule et de génération en génération.



Jim Watson,
co-découvreur à 25 ans
de la structure de l'ADN.

En 1966, on déchiffre le **code génétique**, le fameux code à trois lettres qui, en associant les bases par groupes de 3, permet de convertir en protéines l'information contenue dans l'ADN. La même année, on découvre aussi l'**ARN messenger**, une molécule servant d'intermédiaire entre l'ADN et les protéines, et dont l'existence avait été prédite par les Français Jacob et Monod.

Le second grand cap est celui de l'apparition du **génie génétique**, qui intervient au milieu des années 1970. En 1972, l'américain Berg ouvre la voie en montrant qu'on peut au laboratoire construire des molécules d'ADN artificielles. Pour cela, il suffit d'utiliser à bon escient des **enzymes** existant naturellement dans les bactéries, et qui sont à la biologie ce que les ciseaux et le fil sont à la couture. Les années suivantes verront un raffinement de ces outils, mais les principes de base restent les mêmes ; en coupant, raboutant, et recollant des morceaux d'ADN pris çà et là, on peut créer virtuellement n'importe quelle molécule d'ADN. De plus, on peut prédire, grâce au code génétique, la protéine qu'elle

générera. Deux inventions importantes viennent encore s'ajouter à la boîte à outils des biologistes moléculaires. À la fin des années 1970, les Anglais Sanger et Coulson mettent au point le **séquençage**, une technique qui permet de « lire » une séquence d'ADN, c'est-à-dire de connaître l'enchaînement exact des 4 bases qui le composent. En 1986, l'américain Mullis invente la méthode **PCR**, qui permet de multiplier à l'infini une molécule d'ADN à partir de quantités infinitésimales.

Quelques grandes dates de la Génétique et de la thérapie génique

| | |
|-----------|--|
| 1860-1870 | Mendel découvre les lois du même nom. |
| 1900-1910 | Redécouverte des lois de Mendel, complétées par Morgan. |
| 1913 | Démonstration que les gènes sont situés sur les chromosomes. |
| 1926 | Découverte des altérations chromosomiques. |
| 1944 | Découverte du rôle de l'ADN en tant que molécule support de l'hérédité. |
| 1953 | Les Anglais Watson et Crick déterminent la structure de l'ADN. |
| 1955 | Démonstration que le génome de l'homme comporte 46 chromosomes. |
| 1956 | La drépanocytose est la première maladie génétique identifiable moléculairement. |
| 1973 | Début du génie génétique. |
| 1977 | Mise au point de la technique de séquençage de l'ADN. |
| 1981 | Création de la première drosophile (mouche) transgénique. |
| 1982 | Création de la première souris transgénique. |
| 1986 | Mise au point de la technique de la PCR. |
| 1997 | Naissance de la brebis Dolly, premier mammifère cloné. |
| 2000 | Premier succès de thérapie génique dans le traitement d'une maladie génétique (le X-SCID). |
| 2004 | Séquençage complet du génome humain (3 000 000 000 bases). |

2• La notion de gène-médicament

Si on peut considérer l'année 1986 comme la fin de la période de mise au point des outils du génie génétique, par une étrange coïncidence, cette même année 1986 est aussi une année clé dans le monde des maladies génétiques. En 1986, s'ouvre une période au cours de laquelle on va réussir à identifier les gènes responsables de centaines de maladies génétiques grâce au développement de la génétique humaine. Jusqu'alors, à l'exception de quelques rares maladies particulières (la drépanocytose et la trisomie 21), les chercheurs se trouvaient dans une impasse.



Le Français Jérôme Lejeune avait montré dès 1959 que le mongolisme (ou trisomie 21) est dû à la présence d'un chromosome surnuméraire.

Trouver la base mutante responsable d'une maladie génétique parmi les 3 milliards de bases du génome humain semblait aussi insurmontable que de trouver une aiguille dans une botte de foin. La résolution de ce problème complexe a été le fruit de plusieurs contributions : tout d'abord l'identification de **marqueurs moléculaires** des chromosomes humains, c'est-à-dire de séquences uniques que l'on peut situer précisément sur les chromosomes, véritables bornes kilométriques du **génome**. Ensuite, la mise en évidence de **polymorphismes**, c'est-à-dire de séquences, elles aussi uniques dans le génome, mais qui varient entre individus. Ensuite, la mise au point d'une méthodologie statistique, qui n'est

que l'application à l'homme des règles de génétique formulées par le grand TH Morgan sur la drosophile, et qui permet de faire le meilleur usage des données de polymorphisme. Et enfin, le développement des techniques de séquençage rapide, grâce auxquelles on peut « lire » les chromosomes d'une personne en un endroit donné et y repérer d'éventuelles anomalies.

Vingt ans plus tard, on connaît les gènes responsables de plus de 1 500 des 5 000 maladies génétiques répertoriées. Sur le plan médical, les maladies génétiques sont particulières en ce que la cause de la maladie ne peut être éliminée par des traitements classiques. La cause d'une infection peut être éliminée en détruisant les bactéries avec des antibiotiques, la cause d'un cancer peut être éliminée en éradiquant les cellules cancéreuses de l'individu, la cause de l'obésité par un régime adapté. Rien de cela n'est possible avec les maladies génétiques. Les maladies génétiques cumulent deux handicaps. Ainsi qu'il vient d'être vu, la cause primaire de la maladie, c'est-à-dire la mutation, ne peut être éliminée par les moyens classiques. De plus, la **physiopathologie** de ces maladies est souvent complexe et mal comprise. Par ce terme, on entend, les dérèglements que la mutation entraîne au niveau des cellules et des organes. Or, moins on comprend ces dérèglements, moins les médecins sont à même d'indiquer un traitement adéquat, même palliatif (c'est-à-dire s'attaquant aux symptômes et non aux causes). La notion de **gène-médicament** est née de ce constat. *Puisqu'il semble n'y avoir aucun autre moyen de guérison possible que d'aller réparer le gène endommagé dans les cellules du patient, alors faisons-le.* On peut résumer ainsi l'esprit dans lequel les premiers chercheurs se sont lancés dans l'aventure de la thérapie génique, ou autrement dit, du gène-médicament. La tâche était immense, pour ne pas dire utopique. Certains commentateurs ont alors comparé ces chercheurs à des pay-

sans qui essaient de faire pleuvoir en lançant des projectiles contre les nuages.

3• *Le génie génétique constitue le fondement technique de la thérapie génique*

L'outil premier du chercheur en thérapie génique est le génie génétique. Sans lui, rien ne serait possible. Non seulement la notion de thérapie génique ne serait pas apparue sans lui, mais, d'un point de vue pratique, le génie génétique est l'ensemble des techniques de biologie moléculaire qui permet de bricoler (pour reprendre l'expression de Jacques Monod) un morceau d'ADN pour en faire un gène-médicament.

La thérapie génique peut se décliner sous de nombreuses formes. Communes à toutes les formes est la connaissance préalable de la mutation dont sont atteints les patients. Ensuite, quelle que soit l'option de thérapie génique retenue (réparation ou remplacement complet du gène atteint – pour ne citer que les principales), sa mise en œuvre nécessite une manipulation extensive d'ADN au laboratoire afin d'introduire dans les cellules du patient le fragment d'ADN que l'on juge le plus approprié en vue du résultat recherché. Tout ceci se fait grâce aux techniques de génie génétique, techniques qui se sont banalisées au fil des années jusqu'à devenir la « cuisine » de base des laboratoires de biologie. Couper, rabouter, recoller, amplifier par PCR, séquencer pour vérifier que l'on a le morceau voulu, couper encore, coller un autre morceau, etc. Certaines « constructions », pour prendre un mot du jargon, peuvent requérir une dizaine d'étapes et plusieurs mois de travail. Cela est l'ordinaire du laborantin en thérapie génique et constitue l'énorme travail de biologie moléculaire préparatif à tout essai biologique proprement dit.