

NOUVELLE

Progrès de la thérapie génique dans les maladies génétiques du système hématopoïétique

Marina Cavazzana¹⁻³

¹Département de biothérapie, hôpital universitaire Necker-Enfants malades, groupe hospitalier Paris Centre, AP-HP, Paris, France.

²Centre d'investigation clinique biothérapie, groupe hospitalier universitaire Paris centre, AP-HP, Inserm CIC 1416 Paris, France.

³Institut Imagine, université Paris Cité, Paris, France.
m.cavazzana@aphp.fr

► L'utilisation des vecteurs rétroviraux, en particulier des lentivirus, pour la correction *ex vivo* de défauts génétiques des cellules souches hématopoïétiques représente un progrès considérable dans le domaine de la médecine personnalisée. L'introduction des vecteurs lentiviraux a ouvert le champ d'application de cette approche thérapeutique à des maladies génétiques telles que le syndrome de Wiskott-Aldrich (WAS) et les β -hémoglobinopathies. Des unités transcriptionnelles complexes peuvent être introduites dans ces vecteurs, qui sont capables de transduire les cellules souches très efficacement sans qu'il soit nécessaire de les engager dans le cycle mitotique. L'absence d'intégration génomique biaisée dans les éléments de

régulation de l'expression des oncogènes cellulaires a fait de ces vecteurs des outils biologiques puissants, sans effet toxique.

Thérapie génique du syndrome de Wiskott-Aldrich

Le syndrome de Wiskott-Aldrich (WAS) est un déficit immunitaire sévère dû à la perte d'expression de la protéine WASp (*Wiscott-Aldrich syndrome protein*). Il existe une corrélation entre le génotype et le phénotype, dont la sévérité peut être prédite selon le type de mutation et son impact sur l'expression de WASp, ce qui permet de choisir le traitement le plus approprié pour chaque patient. Le score de sévérité est fondé sur la microthrombocytopénie (score 0,5 à 1),

l'eczéma, le degré du déficit immunitaire, la présence d'une auto-immunité et d'une hémopathie maligne [3]. Le fait que toutes les cellules du système hématopoïétique, sauf les globules rouges, expriment WASp explique l'hétérogénéité des signes cliniques.

Les patients ayant une absence totale d'expression de WASp (survie moyenne de 20 à 30 ans) sont des candidats à la greffe allogénique de cellules souches hématopoïétiques. L'efficacité de cette stratégie thérapeutique, mise en œuvre dès 1968, s'est depuis améliorée de façon spectaculaire. Il est donc impossible de discuter des résultats de la thérapie génique dans cette maladie sans les comparer à ceux de la greffe conventionnelle.



Deux études rétrospectives effectuées à partir des données du registre européen des greffes (en collaboration avec la Société européenne des déficits immunitaires) et du registre nord-américain, ont récemment fait état d'une survie globale de respectivement 89 % et de 91 %, tout en soulignant l'importance d'un âge inférieur à cinq ans au moment de la greffe [5, 6]. Elles ont également montré l'importance d'un chimérisme élevé (plus de 95 % des cellules provenant du donneur) pour obtenir une correction complète du nombre de plaquettes circulantes et pour une réduction significative, voire une complète disparition de l'auto-immunité.

La thérapie génique dans cette maladie a connu deux périodes distinctes : tout d'abord, le recours initial à des rétrovirus de type gamma a été assombri par le développement d'hétopathies malignes chez tous les patients traités [4]. Par la suite, l'introduction des lentivirus de troisième génération auto-inactivés a profondément modifié les résultats cliniques en entourant ces essais de phase I/II de la sécurité virologique nécessaire. La survie globale, et celle avec guérison, des patients traités par thérapie génique se comparent favorablement aux résultats globaux obtenus après une greffe allogénique à partir d'un donneur sain HLA-géno-identique. Quatre centres médicaux (Milan, Londres, Paris et Boston) ont rapporté les résultats du traitement de 34 patients, avec une réduction significative des symptômes cliniques après la thérapie génique chez 31 d'entre eux [5]. Dans le premier groupe de 15 patients traités (Paris et Milan), 7 étaient âgés de plus de cinq ans, avec un score de gravité de la maladie supérieur à 4 [6]. Parmi ces patients, six présentaient des manifestations auto-immunes, des infections et des saignements spontanés, qui se sont corrigés après le traitement. Ces résultats sont meilleurs que ceux de la plus grande étude portant sur la greffe allogénique (survie globale de 66 % dans ce groupe d'âge à risque). Cependant, le faible

nombre de patients traités par thérapie génique invite à la prudence quant à la portée de cette comparaison.

De plus, la correction variable du nombre de plaquettes circulantes chez les patients traités par thérapie génique appelle une optimisation de cette stratégie thérapeutique. Une thrombocytopénie profonde et réfractaire à tout traitement peut comporter plus de risque au début de la maladie, et peut même menacer la survie chez les plus jeunes patients [7]. Parmi les patients traités dans notre essai clinique de phase I/II, un seul a vu le nombre de ses plaquettes circulantes se normaliser après l'autogreffe des cellules génétiquement modifiées, et il s'agit du seul patient avec un chimérisme total [6]. Chez tous les autres, le nombre de plaquettes circulantes était inférieur à 50 000/mm³. Deux paramètres semblent influencer le taux sanguin des plaquettes après la thérapie génique : l'intensité du conditionnement préalable (busulfan associé à la fludarabine) et le niveau de correction génétique obtenu dans le greffon autologue. Il est difficile d'intensifier le conditionnement sans payer le prix d'une augmentation de la toxicité des médicaments utilisés, en attendant de disposer, pour une utilisation clinique, d'anticorps monoclonaux spécifiquement dirigés contre les cellules souches et progénitrices hématopoïétiques. Quant à la correction génétique du greffon, il est difficile d'expliquer pourquoi les patients recevant un nombre similaire de cellules souches génétiquement corrigées ont des chimérismes différents dans le greffon. Des facteurs génétiques et épigénétiques en relation avec la maladie peuvent modifier les capacités d'auto-renouvellement des cellules souches : identifier ces facteurs afin d'agir sur eux pourrait permettre d'améliorer les résultats cliniques. Malgré cette limitation, la reconstitution immunitaire du compartiment des lymphocytes T naïfs obtenue chez deux patients adultes traités par thérapie génique prouve que leur thymus est resté fonctionnel malgré les nombreuses années d'infection et d'auto-immunité

dues à la maladie, repositionnant ainsi la thérapie génique comme traitement de première ligne pour les patients plus âgés.

Thérapie génique de la β -thalassémie

Les β -hémoglobinopathies (β -thalassémie et drépanocytose), maladies monogéniques aux conséquences systémiques, constituent un problème de santé publique à l'échelle mondiale. La β -thalassémie est la conséquence d'une mutation (plus de 400 mutations différentes possibles) dans le gène codant la chaîne β de la globine, entraînant la diminution ou l'absence de synthèse de cette protéine. L'excès des chaînes α non associées à une chaîne β est responsable d'une érythropoïèse inefficace, d'une hémolyse intra-médullaire et d'une anémie hémolytique chronique. La gravité clinique varie en fonction de la mutation et de la présence simultanée éventuelle d'une α -thalassémie ou de mécanismes compensatoires comme la persistance héréditaire de l'hémoglobine fœtale. Dans la forme la plus sévère de la maladie, les patients présentent une anémie, une surcharge en fer, une hépatosplénomégalie et de multiples atteintes d'organes. La sévérité de ces manifestations cliniques dépend de la qualité de la prise en charge médicale, fondée sur des transfusions sanguines mensuelles et l'administration d'agents chélateurs du fer. Le succès du traitement curatif consistant en une greffe de cellules souches hématopoïétiques à partir d'un donneur familial HLA-géno-identique est étroitement lié à l'âge au moment de la greffe, à la présence ou non d'une allo-immunisation, et à la sévérité des atteintes d'organes.

Le développement de la thérapie génique dans cette indication a demandé vingt ans de recherche fondamentale et translationnelle en raison de la complexité de la régulation de l'expression des chaînes de l'hémoglobine. Le premier essai clinique de thérapie génique pour la thalassémie autorisé en France en 2006 (LG001) utilisait un vecteur lentiviral comportant deux copies de l'insulateur du locus de la β globine du poulet dans chaque LTR

(*long terminal repeat*, séquence d'ADN nécessaire à l'intégration du gène thérapeutique dans le génome de la cellule transduite), en plus de l'ADN complémentaire codant la β globine et des éléments indispensables à sa transcription [8]. L'ajout de cet insulateur visait à augmenter la sécurité virale en isolant l'unité transcriptionnelle thérapeutique, après son intégration dans le génome de la cellule transduite, des gènes voisins du site d'intégration. Le premier patient traité est devenu indépendant de la transfusion sanguine un an après la greffe. La concentration d'hémoglobine est restée stable pendant plus de huit ans : environ 8,5 g/L, dont le tiers était produit par le nouveau gène introduit. Fait marquant, un clone dominant avec une insertion lentivirale dans le gène *HMG2* (*high mobility group A2*), après une expansion initiale, s'est stabilisé pendant trois ans après la thérapie génique, avant de diminuer significativement. Aucun effet toxique n'a été rapporté en relation avec cette expansion clonale. Cet essai clinique pionnier a permis d'apporter la preuve de principe que la thérapie génique par addition de gène pouvait corriger la β -thalassémie des individus atteints et supprimer leur dépendance à la transfusion sanguine. L'utilisation d'un vecteur optimisé avec la délétion de l'insulateur (cause d'instabilité génique) ainsi que l'introduction du promoteur du cytomégalovirus (promoteur CMV) pour augmenter le titre viral ont ensuite été des éléments déterminants pour les bons résultats cliniques obtenus lors du second essai clinique de phase I/II [9].

Trois stratégies ont permis d'améliorer significativement le recueil de cellules souches hématopoïétiques et la prise de ces cellules génétiquement modifiées dans la moelle permettant l'expression stable de l'hémoglobine thérapeutique (donc l'efficacité de la thérapie génique dans cette indication) : 1) l'introduction d'un régime « hyper-transfusionnel » pendant environ trois mois avant la mobilisation des cellules souches, pour diminuer l'érythropoïèse inefficace

médullaire ; 2) la mobilisation des cellules souches hématopoïétiques grâce à l'association du facteur de croissance hématopoïétique granulocytaire G-CSF (*granulocyte-colony stimulating factor*) et du plérixaflo (un médicament antagoniste sélectif et réversible du récepteur de chimiokine CXCR4 [*C-X-C motif chemokine receptor 4*]) ; 3) la surveillance de la pharmacocinétique du busulfan, administré à des doses entraînant une destruction des cellules hématopoïétiques de la moelle osseuse. Les résultats publiés pour 22 patients dans deux essais cliniques de phase I/II (HGB-204 et HGB-205) [10] et les résultats du suivi prolongé des quatre patients traités en France [11] confirment la stabilité de production de l'hémoglobine thérapeutique et par conséquent, l'indépendance transfusionnelle des patients. L'arrêt des transfusions s'accompagne de la correction de tous les paramètres d'hémolyse et de la surcharge en fer, ce qui représente un progrès considérable dans le traitement de cette maladie du globule rouge.

Thérapie génique de la drépanocytose

La drépanocytose est due à une mutation remplaçant le résidu valine en position 6 de la chaîne β de la globine par l'acide glutamique (Val6Glu), ce qui produit l'hémoglobine S. Ce changement d'acide aminé est responsable de la polymérisation de cette hémoglobine à l'état désoxygéné. Ce premier évènement provoque un changement de conformation des globules rouges, entraînant une cascade d'évènements tels que l'hémolyse, l'augmentation de la viscosité sanguine, des crises vaso-occlusives, des infarctus cérébraux et une atteinte de tous les organes [12]. La correction de cette anémie par addition du gène thérapeutique présente donc une difficulté supplémentaire par rapport à la β -thalassémie. En effet, la nouvelle chaîne β produite par le vecteur intégré est en compétition avec la chaîne β^S pour la formation des tétramères d'hémoglobine. Dans l'essai clinique que nous avons réalisé, l'hémoglobine thérapeutique contient une mutation ponctuelle déri-

ivée de la séquence protéique de l'hémoglobine fœtale : un résidu glutamine en position 87 de la chaîne β . La présence de cette mutation lui confère un double avantage : elle inhibe la polymérisation de l'hémoglobine S aussi efficacement que l'hémoglobine fœtale, et elle rend cette hémoglobine thérapeutique détectable par chromatographie en phase liquide [9]. Ce dernier avantage permet de suivre la production de l'hémoglobine thérapeutique en la distinguant de l'hémoglobine A¹ transfusionnelle. Nous avons décidé de traiter le premier patient atteint de drépanocytose après avoir montré que la production de l'hémoglobine thérapeutique permettait d'obtenir une quantité normale d'hémoglobine A chez deux patients atteints de β -thalassémie, dépendants de la transfusion sanguine. Ce patient drépanocytaire a bénéficié de la thérapie génique, qui l'a « transformé » cliniquement et biologiquement en porteur sain hétérozygote pour la mutation de la drépanocytose [13]. Par la suite, nous avons traité deux autres patients, avec un résultat également favorable pour l'un d'entre eux. Chez deux de ces trois patients, la correction de la maladie est stable plus de sept ans après la thérapie génique [11]. Cette stabilité est évaluée par le taux de production de l'hémoglobine thérapeutique, par la correction des paramètres d'hémolyse et de la surcharge en fer, mais bien plus encore, par la disparition complète de la douleur quotidienne, l'arrêt de la prise des médicaments antalgiques, la disparition des crises vaso-occlusives et des syndromes thoraciques aigus². Chez le troisième patient, malgré une réduction significative des échanges transfusionnels, une reprise des symptômes a été observée.

Malgré le petit nombre de patients traités, cet essai clinique a permis de recueillir de multiples informations essentielles pour l'amélioration de cette stratégie

¹ L'hémoglobine A ($\alpha_2\beta_2$) constitue plus de 97 % de l'hémoglobine totale des globules rouges d'un adulte sain.

² Le syndrome thoracique aigu est une complication grave et la première cause de mortalité de la drépanocytose. Il résulte d'une occlusion des capillaires pulmonaires, suivie de phénomènes physiopathologiques complexes.



thérapeutique. Tout d'abord, la nécessité de mobiliser dans le sang périphérique les cellules souches hématopoïétiques de la moelle osseuse de ces patients pour obtenir le greffon nécessaire à l'autogreffe. Cela a donné naissance à un essai clinique de phase I, dans lequel la mobilisation de ces cellules a été obtenue exclusivement, et sans toxicité, par l'action du plérixaflo, en raison de la dangerosité du G-CSF dans cette indication³ [16]. Par ailleurs, on a découvert que le transcriptome de ces cellules est altéré chez les patients drépanocytaires, avec une expression plus élevée des gènes impliqués dans la réponse inflammatoire que chez des sujets sains. Plusieurs études ont récemment montré le rôle de l'inflammation dans la perte des capacités d'auto-renouvellement des cellules souches et dans la diminution du réservoir médullaire de ces cellules [17, 18]. La correction de l'inflammation pourrait permettre d'améliorer les résultats de la thérapie génique, en particulier pour les patients chez lesquels existe un syndrome inflammatoire. Ce profil inflammatoire était notamment présent chez le patient n'ayant pas montré un bénéfice de la thérapie génique dans l'essai clinique HGB205 [10]. Les résultats rapportés pour ces trois patients drépanocytaires nous renseignent également sur le niveau de correction génétique nécessaire, supérieur à une copie de vecteur viral par cellule, pour obtenir une guérison de la maladie. Ce constat soulève la question suivante : combien de copies du vecteur peut-on introduire dans une cellule souche sans entraîner une toxicité ? En l'absence de réponse à cette question, nous essayons, par précaution, de rester en deçà de trois copies du vecteur par cellule, comme cela est recommandé par l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé.

Par ailleurs, le niveau de correction génétique n'est pas un critère absolu d'efficacité et doit être considéré en fonction du fonds génétique du patient : la présence d'un trait α -thalassémique ou des polymorphismes génétiques favorisant la production d'hémoglobine fœtale doivent également être pris en compte [19].

Enfin, l'essai clinique HGB205 a montré que le niveau de chimérisme obtenu par thérapie génique joue un rôle essentiel dans le succès de cette thérapie [11]. En effet, alors qu'un chimérisme de 30 % est suffisant pour faire disparaître les symptômes des patients après une greffe allogénique, la grande variabilité de contenu des globules rouges en hémoglobine thérapeutique après la thérapie génique peut être responsable d'une persistance des signes cliniques de cette anémie chronique, surtout dans des conditions de stress ou d'infection et en l'absence d'un fonds génétique favorable [19].

Malgré ces réserves, nous pouvons nous réjouir des grands progrès réalisés grâce à l'introduction de la thérapie génique dans la prise en charge des patients atteints de drépanocytose ainsi que dans la physiopathologie de cette maladie.

Conclusion

Grâce aux progrès réalisés pendant les vingt dernières années, la thérapie génique représente désormais une arme efficace pour traiter les patients atteints du syndrome de Wiskott-Aldrich, de β -thalassémie ou de drépanocytose, lorsqu'il n'est pas possible de réaliser une allogreffe de moelle osseuse provenant d'un donneur familial HLA-compatible. Nous ne pouvons donc que regretter la disponibilité insuffisante de la thérapie génique contre ces trois maladies génétiques. Nous nous devons de trouver des solutions et de nouveaux modèles économiques pour soutenir l'innovation, surtout quand les entreprises industrielles décident de se retirer de ce domaine d'application médicale. ♦

Advances in gene therapy in genetic diseases of the hematopoietic system

LIENS D'INTÉRÊT

L'auteur déclare n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

- Candotti F. Clinical manifestations and pathophysiological mechanisms of the Wiskott-Aldrich syndrome. *J Clin Immunol* 2018 ; 38 : 13-27.
- Burroughs LM, Petrovic A, Brazauskas R, et al. Excellent outcomes following hematopoietic cell transplantation for Wiskott-Aldrich syndrome: a PIDTC report. *Blood* 2020 ; 135 : 2094-105.
- Albert MH, Slatter MA, Gennery AR, et al. Hematopoietic stem cell transplantation for Wiskott-Aldrich syndrome: an EBMT inborn errors working party analysis. *Blood* 2022 ; blood.2021014687.
- Horak P, Uhrig S, Witzel M, et al. Comprehensive genomic characterization of gene therapy-induced T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2020 ; 34 : 2785-9.
- Ferrua F, Marangoni F, Aiuti A, et al. Gene therapy for Wiskott-Aldrich syndrome: History, new vectors, future directions. *J Allergy Clin Immunol* 2020 ; 146 : 262-5.
- Magnani A, Semeraro M, Adam F, et al. Long-term safety and efficacy of lentiviral hematopoietic stem/progenitor cell gene therapy for Wiskott-Aldrich syndrome. *Nat Med* 2022 ; 28 : 71-80.
- Mahlaoui N, Pellier I, Mignot C, et al. Characteristics and outcome of early-onset, severe forms of Wiskott-Aldrich syndrome. *Blood* 2013 ; 121 : 1510-6.
- Cavazzana-Calvo M, Payen E, Negre O, et al. Transfusion independence and HMG2 activation after gene therapy of human β -thalassaemia. *Nature* 2010 ; 467 : 318-22.
- Negre O, Eggimann A-V, Beuzard Y, et al. Gene therapy of the β (A(T87Q))-globin gene. *Hum Gene Ther* 2016 ; 27 : 148-65.
- Thompson AA, Walters MC, Kwiatkowski J, et al. Gene therapy in patients with transfusion-dependent β -thalassaemia. *N Engl J Med* 2018 ; 378 : 1479-93.
- Magrin E, Semeraro M, Hebert N, et al. Long-term outcomes of lentiviral gene therapy for the β -hemoglobinopathies: the HGB-205 trial. *Nat Med* 2022 ; 28 : 81-8.
- Panepinto JA, Kato GJ, Smith WR. Health-related quality of life in sickle cell disease. *Nat Rev Dis Primers* 2019 ; 5 : 27.
- Ribeil J-A, Hacein-Bey-Abina S, Payen E, et al. Gene therapy in a patient with sickle cell disease. *N Engl J Med* 2017 ; 376 : 848-55.
- Abboud M, Laver J, Blau CA. Granulocytosis causing sickle-cell crisis. *Lancet* 1998 ; 351 : 959.
- Adler BK, Salzman DE, Carabasi MH, et al. Fatal sickle cell crisis after granulocyte colony-stimulating factor administration. *Blood* 2001 ; 97 : 3313-4.
- Lagresle-Peyrou C, Lefrère F, Magrin E, et al. Plerixafor enables safe, rapid, efficient mobilization of hematopoietic stem cells in sickle cell disease patients after exchange transfusion. *Haematologica* 2018 ; 103 : 778-86.
- Matatall KA, Jeong M, Chen S, et al. Chronic infection depletes hematopoietic stem cells through stress-induced terminal differentiation. *Cell Rep* 2016 ; 17 : 2584-95.
- Essers MAG, Offner S, Blanco-Bose WE, et al. IFN α activates dormant haematopoietic stem cells in vivo. *Nature* 2009 ; 458 : 904-8.
- Steinberg MH. Fetal hemoglobin in sickle cell anemia. *Blood* 2020 ; 136 : 2392-400.

³ Les essais de mobilisation des cellules souches hématopoïétiques par le G-CSF chez les patients drépanocytaires ont été marqués par la survenue d'événements indésirables graves allant du syndrome thoracique aigu jusqu'au décès d'un patient [14, 15]. Le G-CSF ne doit donc pas être utilisé chez les patients drépanocytaires.