

## LA RECHERCHE PRECLINIQUE

Intervention de M. Hervé Moine lors du weekend familial de l'association en Juin 2019

Hervé Moine est Directeur de Recherche au CNRS. Il dirige actuellement un programme de recherche sur le syndrome X Fragile à l'Institut de Génétique et Biologie Moléculaire et Cellulaire (IGBMC) à Illkirch et est membre du conseil scientifique de l'association depuis 2018.

### Quelques rappels

Le syndrome X Fragile est la maladie génétique responsable de la première cause familiale de déficience intellectuelle. La déficience intellectuelle peut être moyenne (QI < 50) à sévère (QI < 35) et accompagnée de troubles comportementaux parmi lesquels hyperactivité, hypersensibilité, troubles du langage ou encore anxiété.

Quelques caractéristiques faciales peuvent être observées comme un large front, un visage allongé, un strabisme, de grandes oreilles et une macro-orchidie.

Les otites, les problèmes orthopédiques et la scoliose se retrouvent également fréquemment chez les personnes X Fragile.

Au niveau cérébral, les techniques d'imagerie comme l'IRM (Imagerie par résonance magnétique) révèlent de subtiles modifications de la structure du cerveau, principalement au niveau du noyau caudé (véritable centre décisionnel du cerveau).

Au niveau microscopique, on observe dans plusieurs régions du cerveau des anomalies morphologiques subtiles des épines dendritiques (les petits renflements à la surface des prolongements neuronaux qui forment les connexions entre les neurones) qui sont en moyenne plus longues et plus fines. On pense que les anomalies des épines dendritiques sont directement liées à des perturbations de la communication entre les neurones.

### Quelle est la fonction de la protéine FMRP ?

Le syndrome X Fragile est causé par une mutation particulière du gène FMR1 : une répétition du triplet CGG.

Dans le cas de la mutation dite "complète", lorsque le nombre de triplets CGG dépasse 200 répétitions, le gène FMR1 est rendu inactif et le produit du gène, la protéine FMRP, est absent.

Or, dans la cellule chaque protéine (issue de nos 20 000 gènes) a une fonction bien spécifique. En dépit des nombreux travaux déjà réalisés, la fonction de la protéine FMRP n'est pas encore très bien comprise mais il apparaît clairement que l'absence de FMRP entraîne une dérégulation de la communication entre les neurones dans le cerveau. Cette communication fait intervenir le contrôle de la fabrication de nouvelles protéines dans les épines dendritiques.

Le rôle de la protéine FMRP est étudié grâce notamment au modèle souris chez qui le gène FMR1 est conservé évolutivement. La souris ne présente pas naturellement le syndrome X Fragile. Pour induire la maladie chez la souris, le gène FMR1 a été inactivé par une mutation de délétion (souris KO). La souris Fmr1-KO reproduit de nombreux aspects de la maladie et représente donc un excellent modèle pour étudier les mécanismes de la pathologie.

Ce modèle animal a permis de mettre en évidence les anomalies de fonctionnement des récepteurs au glutamate (responsables de troubles comme l'anxiété, les difficultés d'apprentissage...) et a permis de poser les premières bases pour tenter d'interférer avec l'absence de FMRP.

## Premières tentatives de traitement

Le syndrome X Fragile intéresse beaucoup de chercheurs à travers le monde, car FMR1 est un des premiers gènes identifiés de déficience intellectuelle et la compréhension de sa fonction offre des perspectives de mieux comprendre les mécanismes, sinon de l'intelligence, tout du moins du fonctionnement du cerveau.

De nombreux essais ont déjà été réalisés depuis la découverte de la mutation. Les premiers essais cliniques ont visé les récepteurs au glutamate (Mavoglurant, Novartis et Basimglurant, Roche) et au GABA (Arbaclofen, Seaside Therapeutics) mais se sont révélés être décevants. Plusieurs essais thérapeutiques sont actuellement en cours, parmi lesquels on peut citer :

- La Metformine

C'est le médicament le plus prescrit actuellement pour le diabète de type II.

Il permet de corriger l'hyperphagie et l'obésité, et il prévient les déficiences cognitives d'origine diabétique.

L'action de cette molécule a été identifiée pour l'amélioration de la mémoire, du langage et du comportement. Ce produit est bien connu car il est beaucoup prescrit, il représente une piste encourageante pour l'X fragile. Après une validation préclinique chez la souris et une petite étude ouverte chez des patients il est actuellement testé dans des études contrôlées aux Etats-Unis et au Canada.

- Le Cannabidiol

Ce composé non psychotrope issu du cannabis administré sous forme de gel a montré des impacts positifs sur des patients autistes, spécifiquement pour l'anxiété, les troubles du sommeil et la douleur. Suite à la découverte de perturbations des voies endocannabinoïdes chez la souris Fmr1-KO et la correction de plusieurs de ses symptômes par des molécules agissant sur ces voies, un essai contrôlé avec le cannabidiol a été initié après un essai "ouvert" en Australie qui a montré une certaine efficacité (considérant les précautions à avoir vis-à-vis des essais "ouverts").

- Les Vitamines C et E

La présence de signes de stress oxydant chez les souris Fmr1-KO et leur correction (ainsi que des troubles de comportement) par les vitamines C et E a motivé la réalisation d'une étude contrôlée en Espagne. Aucun résultat n'a encore été publié à ce jour, aucune communication scientifique ne permet actuellement d'évaluer objectivement le résultat de ce travail.

- L'extrait de thé vert

Cet extrait enrichi en polyphénol anti-oxydant EGCG (epigallocatechin-3-gallate), qui a potentiellement des effets bénéfiques chez les patients avec trisomie 21, a été testé dans une étude contrôlée en Espagne. Certaines améliorations ont été rapportées mais les effets de ce complément alimentaire sont à considérer avec précaution car l'étude ne concerne pour l'instant qu'un petit nombre de patients et les méthodes d'analyse statistique des résultats peuvent être sujettes à débat.

Plusieurs autres molécules sont également actuellement en cours d'essai (Bumétamide, antagoniste mGluR combiné à un programme éducatif, agoniste GABAa, analogue du facteur de croissance IGF-1, inhibiteur de phosphodiesterase-4D, ouvreurs de canaux potassium BK, activateur de l'enzyme PKC Bryostatine-1,...). De nombreux autres essais sont également réalisés au stade préclinique chez la souris.

## De nouveaux outils sont en train de d'être développés pour proposer de nouvelles thérapies

- Crispr-Cas9 : les ciseaux génétiques

C'est une vraie révolution dans la biologie. Initialement découvert chez les bactéries pour se défendre contre les virus, le mécanisme Crispr-Cas9 a été modifié par les chercheurs pour découper ou modifier à façon une région d'intérêt dans un gène d'une cellule. Plusieurs équipes ont testé la preuve de concept que cet outil peut corriger la mutation du syndrome X Fragile mais également d'autres maladies génétiques.

Cette technique, dite des « ciseaux moléculaires ou génétiques », permet de couper les répétitions du triplet CGG dans le gène FMR1 (ou bien de les déméthyliser) : la preuve de concept a été validée dans des cellules. Mais si la technique fonctionne bien dans les cellules en culture "in vitro", il y a encore beaucoup de chemin à faire pour utiliser cette méthode dans le cerveau chez l'homme (où un problème d'efficacité se pose car il faudrait corriger au moins 70 % des neurones).

Ces travaux sont récents mais prometteurs, et des compagnies pharmaceutiques commencent à investir dans ce type de recherche.

- Les travaux sur les cellules souches et pluripotentes induites

Les cellules souches ont la capacité à être différenciées en n'importe quel autre type cellulaire de notre corps. Elles représentent un fort intérêt pour la recherche pour comprendre les maladies génétiques mais leur utilisation (quasi impossible en France) est hautement réglementée car issues d'embryons produits d'avortements. Les cellules pluripotentes induites peuvent elles, à partir de "simples" cellules de peau, par exemple, être aussi différenciées en neurones. Dans les deux cas ces cellules peuvent permettre d'identifier par criblage à haut débit des molécules avec de nouvelles propriétés thérapeutiques. On peut ainsi envisager de réactiver le gène FMR1 grâce à de nouvelles molécules.

- La thérapie génique aux AAV

La thérapie génique aux AAV consiste à utiliser un virus (virus adéno-associé), inoffensif pour l'homme, dans lequel une partie de l'ADN du virus a été remplacée par un gène "médicament". Le virus, en infectant une cellule "malade", va la "soigner" en apportant la copie saine du gène.

L'utilisation de cette méthode est maintenant validée et approuvée pour plusieurs maladies génétiques qui commencent à être traitées avec ce type d'approche.

La preuve de concept est faite et surtout, il s'agit d'un domaine en plein développement.

## Travaux de l'équipe du Dr Moine à Illkirch

L'équipe cherchait initialement à comprendre la fonction de la protéine FMRP. Pour cela, l'équipe a étudié comment et avec qui FMRP interagit dans les neurones. Les principaux partenaires de FMRP sont les ARN messagers qui sont des copies en multi-exemplaires des gènes et servent à fabriquer les protéines de la cellule. Dans les neurones l'équipe a trouvé que FMRP interagit principalement avec un ARN messenger particulier et contrôle la fabrication de la protéine correspondante : DGKK.

Cette dernière est une enzyme qui sert à transformer un lipide (le diacylglycerol) en un autre lipide (l'acide phosphatidique). En l'absence de FMRP, l'enzyme DGKK, normalement présente dans les épines dendritiques, est très fortement diminuée et l'activité de l'enzyme est donc perturbée.

L'accumulation du lipide non transformé (diacylglycerol) et le manque de fabrication de l'autre lipide (l'acide phosphatidique) dans les neurones permet d'expliquer leurs principales anomalies (surproduction de protéines neuronales, épines dendritiques anormales, perturbation de communication, ...)

La découverte de la dérégulation de l'enzyme DGKK permet de proposer une nouvelle théorie du mécanisme pathologique du syndrome X Fragile et surtout elle permet de proposer une nouvelle cible thérapeutique.

L'objectif de l'équipe est maintenant de cibler l'enzyme DGKK pour tester si la correction de son activité corrige les phénotypes de la souris Fmr1-KO. L'équipe teste actuellement en parallèle une approche pharmacologique et une approche de thérapie génique en partenariat avec la société Lysogene.

### **Que penser des annonces lues sur Internet concernant les recherches scientifiques ?**

D'une manière générale, il est important de rappeler que pour évaluer l'impact de tout travail de recherche seule la publication scientifique (article dont la publication dans un journal scientifique reconnu a été validé par des pairs) compte, on ne peut pas trop se fier aux annonces journalistiques ni aux communications des industriels.

Les contraintes liées aux intérêts des industriels est encore un autre sujet, mais le cas des antagonistes mGluR de Roche et Novartis (et aussi dans une certaine mesure de l'agoniste du GABA de Seaside Therapeutics) dont l'annonce prématurée en fanfare dans le New-York Times en 2010, non suivie d'effet (il faudra attendre 2016 pour qu'un article scientifique décrive l'absence d'effet mesurable de ces traitements) est encore bien présent dans nos mémoires pour nous rappeler qu'il faut être prudent avec les communications non-scientifiques (et que l'intérêt des familles et ceux des industriels ne sont pas forcément les mêmes).