

Un espoir de la thérapie génique : le traitement de la cystinose par greffe de moelle chez la souris



Pr Etienne Bérard

Introduction

Le mécanisme par lequel une transplantation de cellules souches hématopoïétiques pourrait corriger certaines maladies métaboliques reste controversé : remplacement cellulaire par trans-différentiation, fusion cellulaire ou effet paracrine. La cystinose résulte de l'absence du gène de la cystinosine, transporteur membranaire de la cystine. L'accumulation intralysosomiale de la cystine est responsable de la pathologie. Un modèle de souris KO pour le gène de la cystinosine reproduit la maladie humaine. S. Cherqui et al ont montré chez la souris KO qu'une transplantation de cellules souches hématopoïétiques à partir d'une souris wild-type, corrige tous les signes de la maladie, de même qu'une autotransplantation médullaire après transfection du gène de la cystinosine par un lentivirus.

Cette équipe montre aussi qu'après transplantation médullaire, seules les macrophages résidents du foie et du rein portent le gène corrigé de la cystinosine, mais que la cystinosine était présente dans les autres cellules non porteuses du gène. Leurs recherches pour comprendre le phénomène leur a fait valider l'hypothèse de Tubular Nano Tubes (TNT). Les macrophages développent des TNT qui vont au contact des cellules tubulaires natives. Les membranes du TNT et de la cellule non corrigée peuvent fusionner, permettant le transfert de vésicules de cystinosine mais aussi de lysosomes dans les cellules malades (voir les superbes vidéos et photos par le lien ci-dessous). Ce modèle montre aussi comment les cellules interstitielles du rein, considérées jusqu'à présent comme de simples agents de surveillance immunitaire, peuvent être des acteurs régulateurs des cellules fonctionnelles du rein.

L'équipe du Docteur Cherqui a fait une demande auprès de la FDA (Food and Drug Administration) pour transposer à l'homme ce modèle de correction de cette maladie par autotransplantation médullaire après transfection. Malgré le risque de la transplantation médullaire, compte tenu de la gravité de la cystinose (même traitée par Cysteamine), l'autorisation devrait leur être accordée.

[Cherqui S. Is genetic rescue of cystinosis an achievable treatment goal? Nephrol Dial Transplant. 2014 29:522-8.](#)

➤ [En savoir plus](#)

Insuffisances et espoirs en pharmacologie de la transplantation



Pr Etienne Bérard

Le devenir, l'efficacité et la toxicité d'un médicament restent un souci constant des néphrologues, notamment en transplantation rénale. Depuis une dizaine d'années, beaucoup de travaux ont essayé, de prédire de façon exacte la dose nécessaire, efficace et non toxique, pour un patient donné, en analysant de nombreux polymorphismes des gènes responsables du métabolisme des médicaments. Le tacrolimus est métabolisé préférentiellement par CYP3A5. Les porteurs de l'allèle *1, nécessitent une dose supérieure de 50%. La proportion de patients *1, varie de 5-15% chez les caucasiens à 30% chez les asiatiques et 70% chez les africains. La non connaissance du génotype expose au risque de sur ou sous dosage.

Deux publications récentes ont analysé les résultats à long terme de l'ajustement précoce de la dose de tacrolimus au génotype de CYP3A5 pour être dans la fenêtre thérapeutique (10-15 ng/ml). Dans l'étude TACTIQUE (1), les 236 patients ont soit reçu du tacrolimus à dose calculée selon le poids soit une dose déterminée selon le poids et leur génotype CYP3A5. Une plus forte proportion de patients était dans la cible thérapeutique à J3 (43.2 vs 29.1%). Dans la deuxième étude (2), selon un même schéma, l'utilisation du génotype ne change pas la proportion de patients dans la cible thérapeutique à J3. Dans ces deux études, ils n'observent pas de différences significatives en termes de devenir de la greffe, survie du patient ou complications de l'immunosuppression.

Il faut sans doute introduire de nouveaux algorithmes plus complexes faisant intervenir le délai post greffe, l'utilisation d'inhibiteurs calciques et de stéroïdes, l'âge du receveur et le génotypage d'autres CYP comme le CYP A4*22 .

Une nouvelle voie de recherche serait de mesurer le taux de médicaments ou son effet, par des mesures intracellulaires ou dans les urines à l'aide de nouvelles techniques (IRM intracellulaire, protéomique, métabolomique, etc...) (3-4).

1-Pallet N, Etienne I, Buchler M, Hurault de Ligny B, Choukroun G, Colosio C, Thierry A, Vigneau C, Moulin B, Le Meur Y, Heng AE, Legendre C, Beaune P, Lorient MA, Thervet E . Long-term clinical impact of adaptation of initial tacrolimus dosing to CYP3A5 genotype. *Am J Transplant*. 2016 Mar 17.

2-Shuker N, Bouamar R, van Schaik RH, Clahsen-van Groningen MC, Damman J, Baan CC, van de Wetering J, Rowshani AT, Weimar W, van Gelder T, Hesselink DA. A Randomized controlled trial comparing the efficacy of CYP3A5 genotype-based with bodyweight-based tacrolimus dosing after living donor kidney transplantation. *Am J Transplant*. 2015 Dec 29.

3-Luchinat E, Banci L. A Unique Tool for Cellular Structural Biology: In-cell NMR. *J Biol Chem*. 2016;291:3776-84

4-Lutsenko S. Introduction to the Minireview Series on Modern Technologies for In-cell Biochemistry. *J Biol Chem*. 2016;19;291:3757-8.

Un plus pour le diagnostic génétique : le Variome



Pr Etienne Bérard

Une revue de 2010 recensait plus de 60 maladies liées à une mutation d'un gène. On sait par l'observation clinique qu'avec la même mutation, la maladie peut avoir une pénétrance variable. Avec le développement des techniques de séquençage d'exome, on trouve fréquemment des variants dont on connaît mal la pathogénicité. La détermination de la pathogénicité nécessite des recherches dans les données publiées, mais aussi des hypothèses en fonction de la localisation dans le gène, la nature de l'anomalie biochimique, la recherche chez de sujets réputés sains, ou des analyses fonctionnelles avec des programmes calculant la vraisemblable conséquence d'une telle modification. Un variant non pathogène n'est, le plus souvent, pas publié, ni mis à la disposition de la communauté scientifique, ce qui provoque des pertes de temps et de moyens pour d'autres laboratoires.

Le Human Variome Project (HVP) propose la mise en commun de registres internationaux de variants et de leur rôle pathogène ou non, ce qui permettrait de meilleures corrélations génotype/phénotype. Cette base de données est hébergée par l'université de Leiden (Leiden Open Variation Database) et contient actuellement 95% des variants publiés. Ce projet nécessite l'adoption d'un vocabulaire commun, de bases de données partagées, de classifications communes, et d'un comité d'experts chargé du tri et de la mise à disposition des milliers de données déjà acquises et à venir sur les variants. Cela suppose une collaboration étroite des généticiens pour déclarer les variants qu'ils ont découverts, des cliniciens pour rapporter les observations, des patients (et de leurs familles) pour qu'ils acceptent que les données cliniques soient transmises à ces bases de façon anonyme. Actuellement, pour les maladies rénales, il existe de nombreuses bases de données qui pour la plupart sont incomplètes ou seulement centrées sur un gène ou une pathologie, soit qu'elles soient non exhaustives, soit qu'il n'y ait pas la corrélation clinique. Certaines sont payantes ou leur financement n'est pas pérenne, et d'autres dépendent de l'énergie d'un petit nombre de personnes.

Le but du HVP est d'avoir une seule base pour chaque gène, collectant tous les variants, et rapportant la clinique de la population étudiée, en accès libre pour les chercheurs, et d'assurer la pérennité de ces bases. Mais aussi de créer des bases par symptômes cliniques (syndrome néphrotique, hématurie, CAKUT.)

Les néphrologues cliniciens sont concernés principalement pour accepter (et faire accepter à leurs patients) que les données cliniques soient transmises à la base de donnée au diagnostic et pendant le suivi pour le patient et sa famille. Dans les projets de recherche ou les publications d'articles, ils peuvent aussi s'engager à utiliser le HVP.

[Savage J, Dalgleish R, Cotton RG, den Dunnen JT, Macrae F, Povey S. The Human Variome Project: ensuring the quality of DNA variant databases in inherited renal disease. *Pediatr Nephrol.* 2015;30:1893-901](#)

Tolérance d'organes en transplantation : chimère ou espoir ?



Pr Etienne Bérard

Depuis les premières transplantations dans les années 50, la tolérance de l'organe greffé sans traitement est le Graal qu'espèrent médecins et patients. Actuellement on ne peut parler que de tolérance fonctionnelle induite par le traitement, et tout traitement a ses risques d'effets secondaires. Si dans les dernières années, des progrès importants ont été fait pour éviter les rejets précoces (1-2 ans), la perte tardive du greffon reste problématique avec des responsabilités partagées entre le rejet (non tolérance), la toxicité des traitements anti rejet et les infections notamment virales liées à l'immunosuppression. On connaît un très petit nombre de patients qui ont pu à terme arrêter tout traitement immunosuppresseur sans rejet.

Les tentatives de régulation des populations lymphocytaires T réactive par la génération de T régulateur (Treg) ou des manipulations de leurs récepteurs n'ont à ce jour pas fait leurs preuves. Les essais de déplétion prolongée des cellules immunes responsables du rejet (en plus des traitements d'induction), n'ont pas été suivis de succès et exposent aux complications infectieuses. Plusieurs autres population cellulaires régulatrices de la réponse T ont été découvertes, mais sans application humaines pour le moment. Par contre les lymphocytes B auraient un rôle régulateur (Breg). L'idée d'expansion in vitro de sous population Treg (ou Breg) est à l'étude avec des premières études chez l'homme. Pour garder l'efficacité sur les T effecteurs tout en diminuant la toxicité sur les Treg, le Sirolimus semble préférable aux inhibiteurs calciques, et l'effet d'anticorps monoclonaux est à l'étude.

La réalisation concomitante d'une greffe d'organe et d'une transplantation médullaire, est efficace dans les modèles animaux avec la création d'un chimérisme immunitaire. Ce concept a été vérifié chez des patients atteints d'insuffisance rénale secondaire à un myélome ayant eu une greffe rénale et médullaire. Des premiers essais de chimérisme partiel avec des cellules hématopoïétiques d'un donneur vivant, sans conditionnement myéloablatif du receveur, sont prometteurs à court terme sur une trentaine de patients, mais nécessitent plus de recul.

La transplantation hépatique est tolérogène sur le rein mais ne peut être envisagée qu'en cas de pathologie hépatique associée.

Une autre piste serait de savoir identifier les patients chez qui on pourrait proposer une immunosuppression allégée. Un des pistes intéressantes serait le suivi des Treg ou de la population B. L'analyse du chimérisme global n'a pas tenu ses promesses actuellement mais celle du chimérisme T semble prometteuse. Deux consortiums internationaux réunissent les chercheurs et les données pour identifier des marqueurs de tolérance. L'autre but est de coordonner les recherches sur l'induction de tolérance pour proposer dans l'avenir aux patients la greffe sans traitement dont on rêve.

[Salisbury EM, Game DS, Lechler R. Transplantation tolerance. *Pediatr Nephrol.* 2014;29:2263-72.](#)

Une dialyse portable : rêve ou futur proche ?



Pr Etienne Bérard

Depuis les débuts de la dialyse dans les années 70, l'idée d'une dialyse miniaturisée portable permettant au patient de poursuivre son activité habituelle, tout en ayant une épuration améliorée par l'augmentation du temps d'épuration, a fait l'objet de recherches et tentatives multiples. La DPCA était une première approche mais n'est pas applicable à tous les patients.

Avec le développement des nanotechnologies, de nouveaux matériaux et de l'informatisation, de nouveaux progrès ont été réalisés qui permettent actuellement de l'envisager. Que ce soit en dialyse péritonéale ou hémodialyse/hémofiltration, le challenge est de réduire le volume de dialysat en le recyclant. Avec l'utilisation combinée de carbones microporeux (retenant les métaux lourds, oxydants, chloramines, créatinine et composés organiques), d'uréase dégradant l'urée, de phosphate de zirconium (absorbant l'ammonium, potassium, calcium, magnésium, métaux et cations) et de carbonate de zirconium (absorbe les ions hydrogène, phosphates, fluor, et métaux lourds en produisant bicarbonate, acétate et sodium) et l'injection complémentaire de bicarbonate, glucose et électrolytes, on arrive à une régénération du dialysat.

Des essais cliniques sont en cours avec des appareils de dialyse péritonéale portable de 1-3 kg (pour le moment) avec une cartouche (contenant dialysat frais et adsorbants) à changer chaque jour.

Des essais d'hémofiltration portable par des nano-filtres de silicate, sont en cours chez l'animal. Des hémodialyses miniaturisées portables ont fait l'objet de premiers essais sur des patients pour le moment seulement pendant 8h, et doivent être testés sur de plus longues durées. L'idée de systèmes d'hémodialyse implantable fait l'objet de recherches, mais rencontre des difficultés pour la pérennité de l'accès vasculaire et de l'anticoagulation.

[Davenport A. Portable and wearable dialysis devices for the treatment of patients with end-stage kidney failure: Wishful thinking or just over the horizon? *Pediatr Nephrol.* 2015;30:2053-60](#)