

Fondation 101 Génomes

FONDATION PRIVÉE

Génome et médecine : conquêtes et frontières
Professeur Alain Fischer

Banque Delen
Bruxelles, 29 mars 2019

Fondation 101 Génomes

FONDATION PRIVÉE

La **Fondation 101 Génomes** a pour objectif de **faire avancer la recherche de 10 ans** en créant une **base de données inédite** qui permettra **d'appriivoiser le génome** pour mieux comprendre et pour mieux soigner **les maladies rares qui touchent les enfants.**

Le projet pilote de la Fondation est le **Projet 101 Génomes** dédié au **syndrome de Marfan**. Par la suite, d'autres projets dédiés à d'autres maladies rares pourront être mis en place.

La **Fondation Roi Baudouin** recueille les donations destinées à soutenir cette initiative.

www.f101g.org

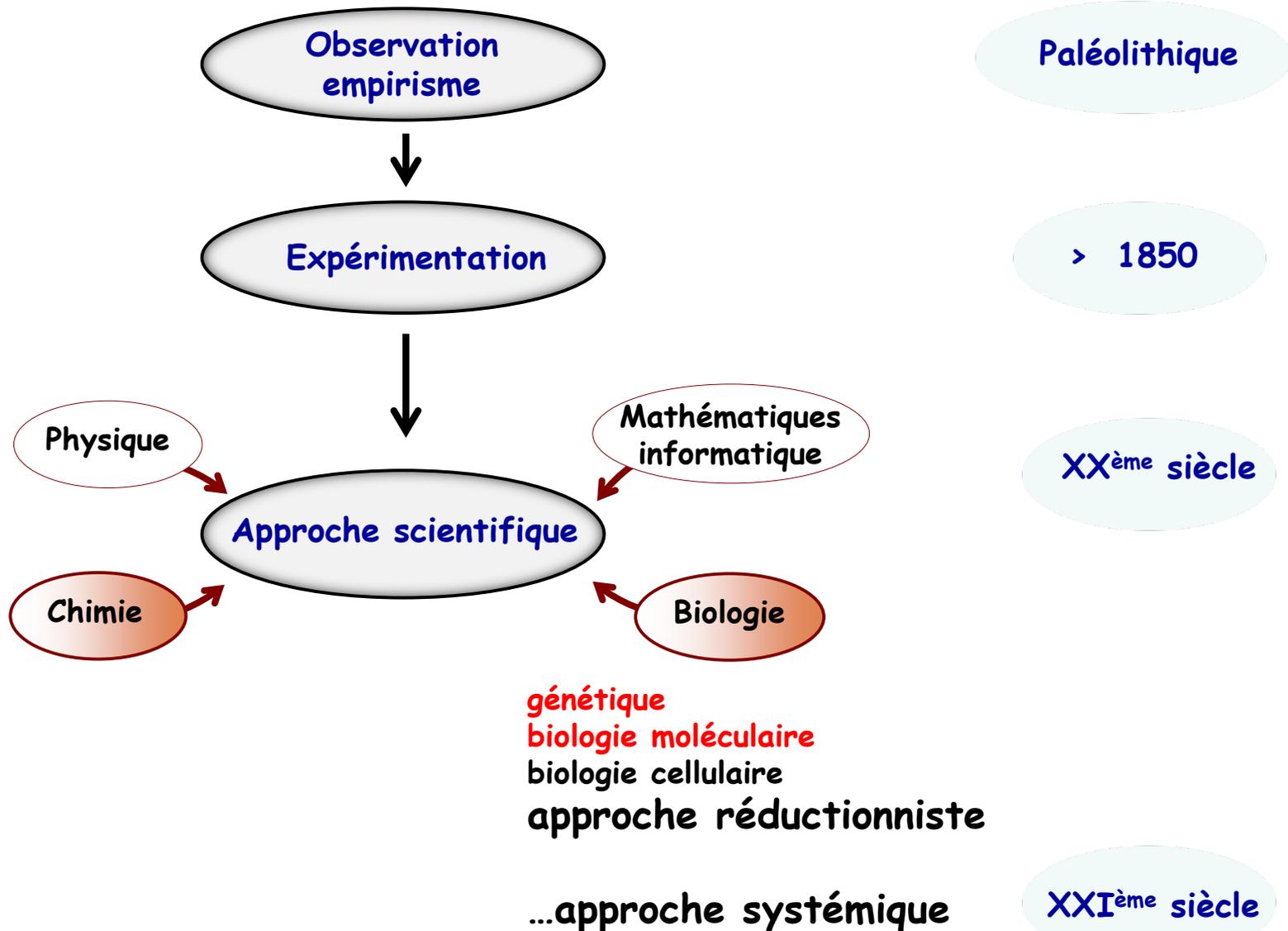
Génome et médecine: conquêtes et frontières

Alain Fischer

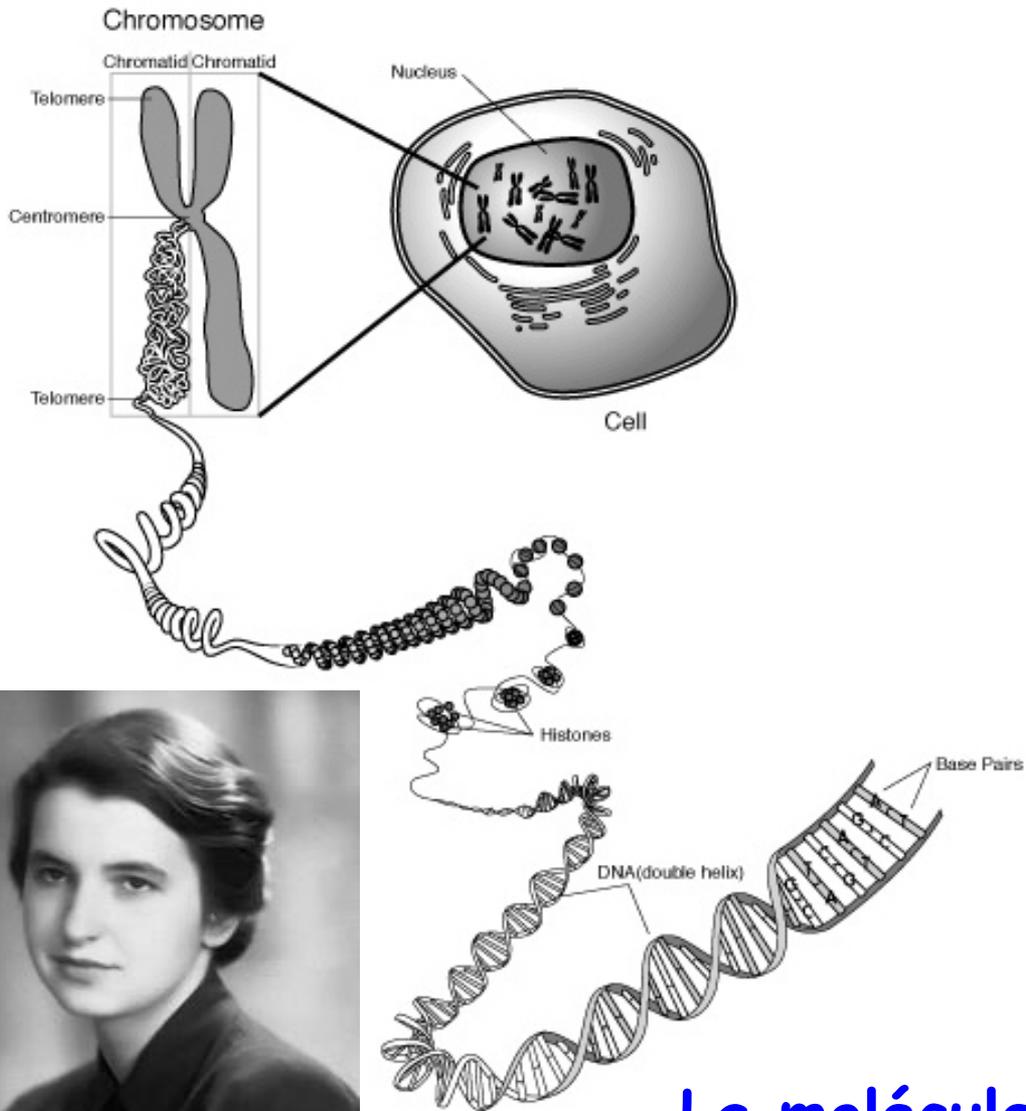
Hôpital Necker Enfants Malades, Inserm, Institut Imagine, Collège de France, Paris



Histoire de la médecine



Du chromosome à l'ADN



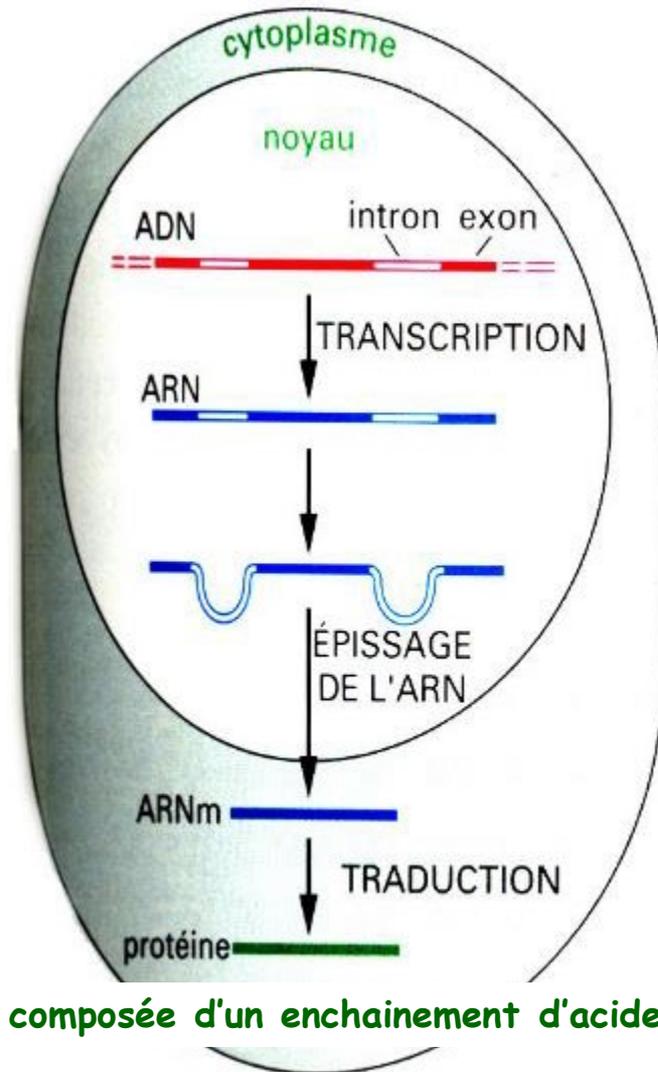
Watson et Crick face à la double hélice

La molécule support de l'hérédité !



Rosalind Franklin

Du gène (ADN) à la protéine en passant par l'ARN messager



- Information autorépliquative (recopiée à chaque division cellulaire)

- Code à 4 lettres (A,T,C,G)

- Mot de 3 lettres = 1 acide aminé

Environ 22 000 gènes
dont 8000 associés à des maladies génétiques

composée d'un enchainement d'acides aminés

La fabrique du "soi génétique" est complexe !

- 3 milliards de nucléotides (1 différence interindividuelle tous les 1000 nucléotides)

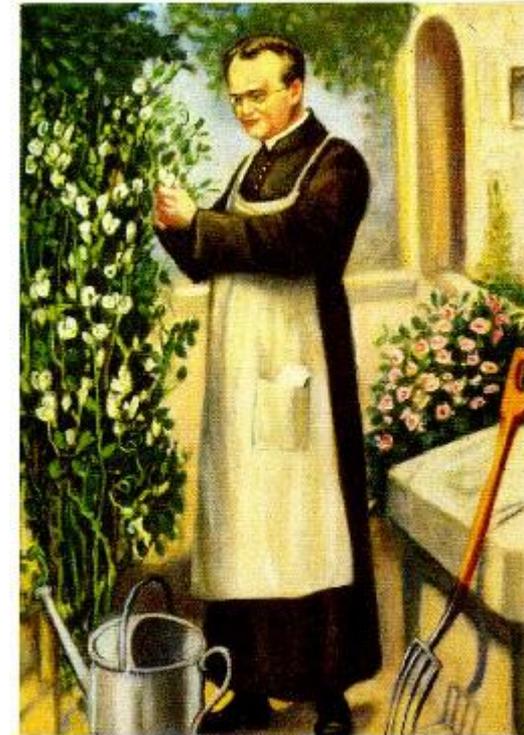
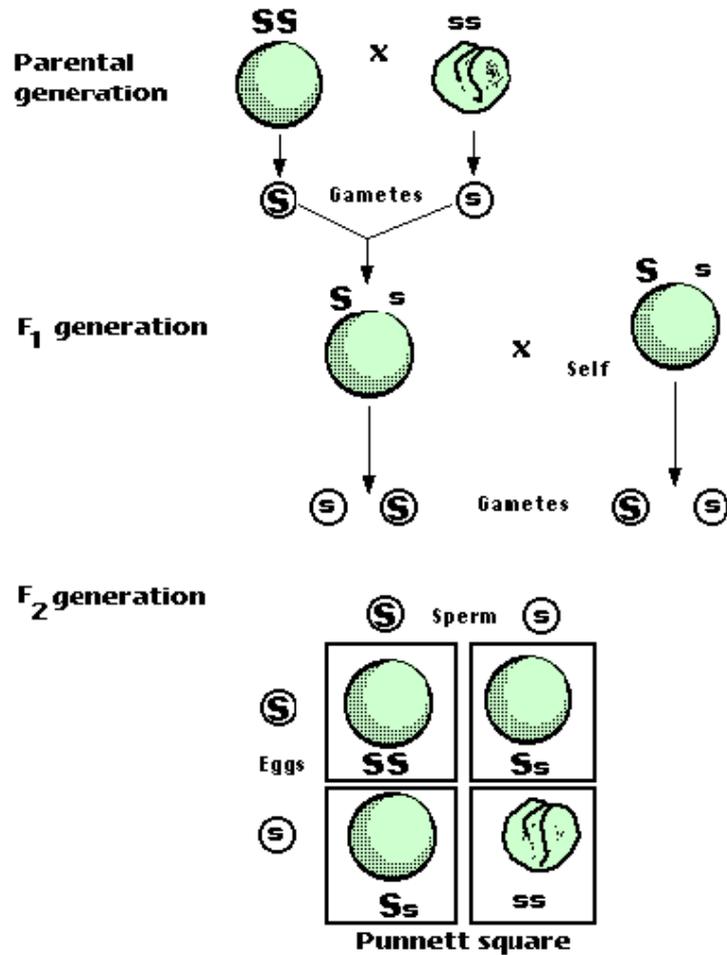
22 000 gènes (2% du génome)

100 000 ARN

1 000 000 protéines

- 200 types de cellules (10^{13} au total)
- 3 à 5000 gènes actifs à un temps donné dans une cellule
- ... 10^{14} bactéries dans l'intestin

Les petits pois de Mendel

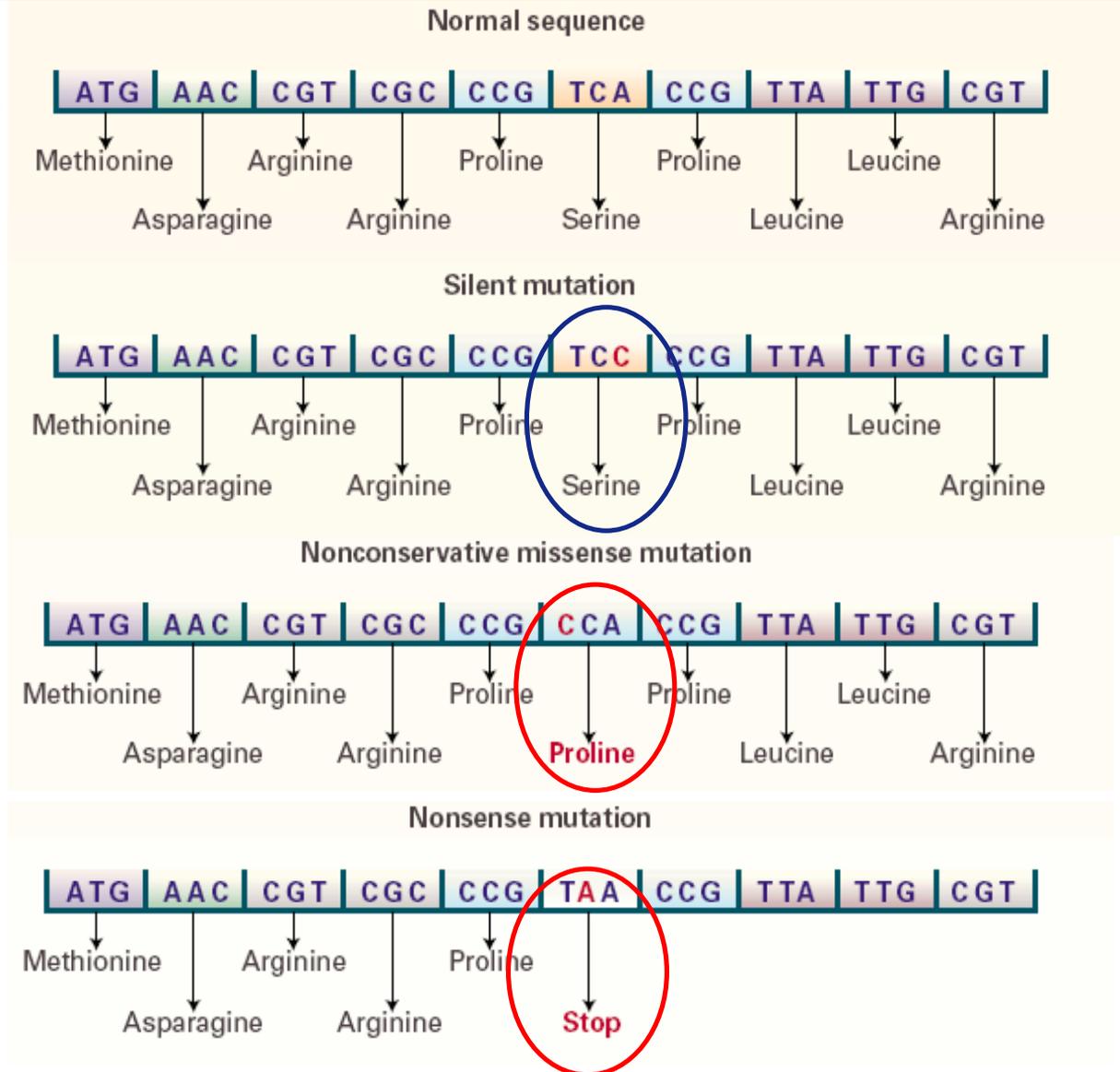


Gregor Mendel

Les mutations

Séquence d'ADN (lettres)

Acides aminés



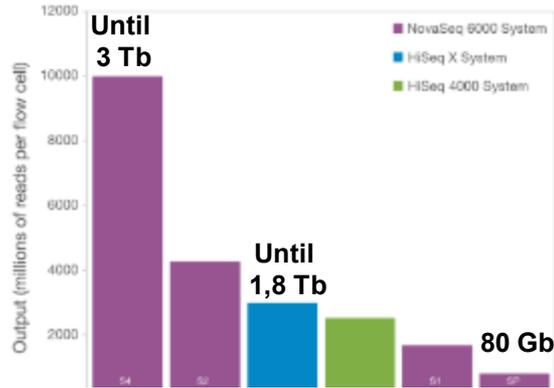
La survenue de mutations germinales n'est pas si rare !

De novo mutations observed with parental origin assigned

	Father's age (yr)	Mother's age (yr)	Number of <i>de novo</i> mutations in proband		
			Paternal chromosome	Maternal chromosome	Combined
Trio 1	21.8	19.3	39	9	48
Trio 2	22.7	19.8	43	10	53
Trio 3	25.0	22.1	51	11	62
Trio 4	36.2	32.2	53	26	79
Trio 5	40.0	39.1	91	15	106
Mean	29.1	26.5	55.4	14.2	69.6
s.d.	8.4	8.8	20.7	7.0	23.5
Variance	70.2	77.0	428.8	48.7	555.3

dont 10 % sont potentiellement délétères
...ou peut être bénéfiques, ..ou les 2 !!

Le séquençage du génome, des progrès fulgurants



Tb = 10^{12} bp !

Nova Seq 6000



HiSeq2500

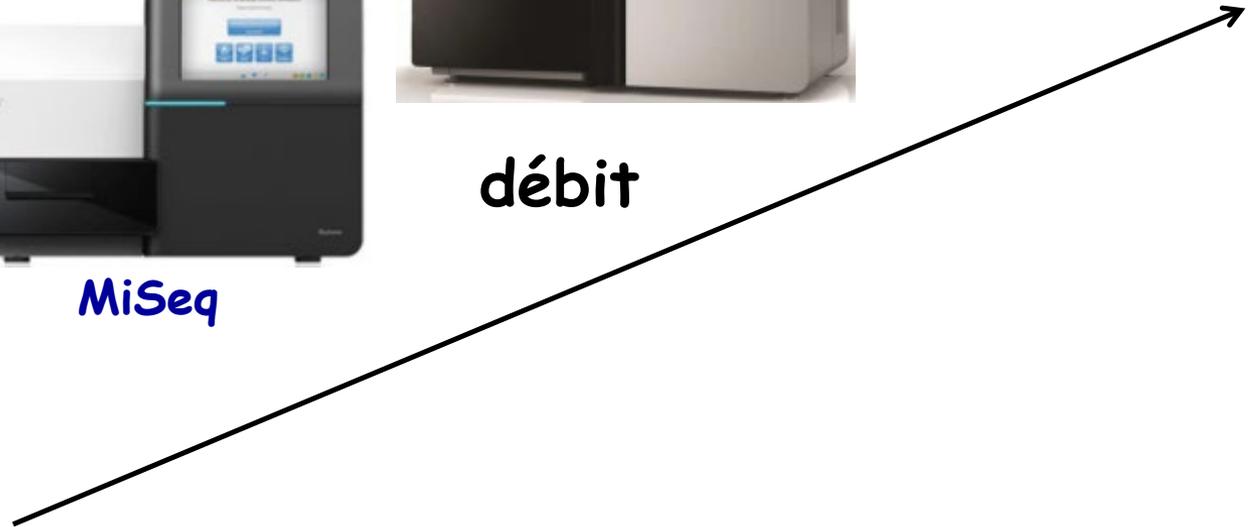


PGM IonTorrent



MiSeq

débit



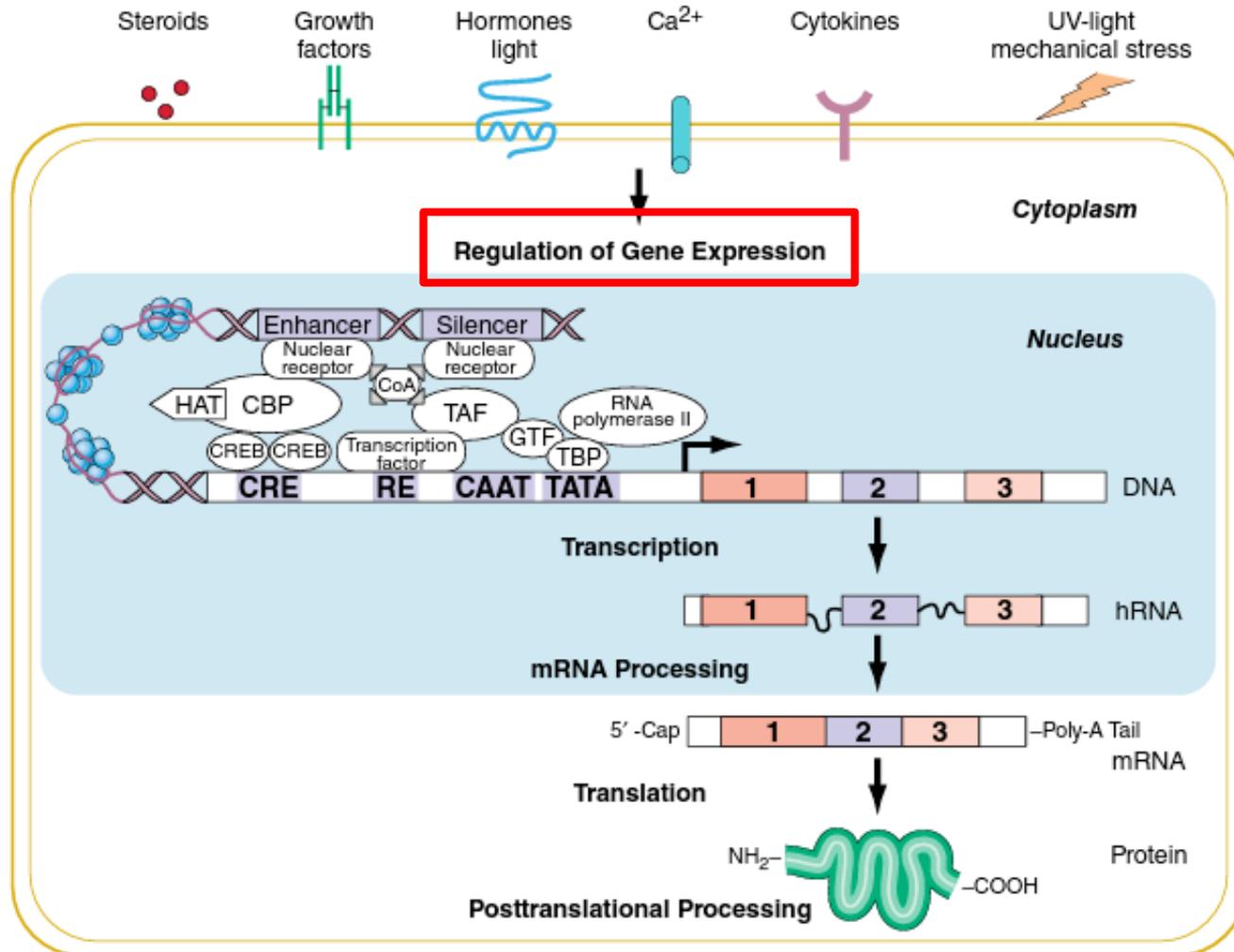
Etudier le génome humain, pourquoi faire ?

- **Comprendre son fonctionnement**
(la régulation de l'expression des gènes)
- **Reconstituer l'histoire de l'humanité**
- **Identifier les maladies liées à des mutations somatiques (cancer)**
- **Evaluer la prédispositions aux maladies complexes (neurodégénératives, cancer, maladies cardiovasculaires, autoimmunes, ...)**
- **Identifier les maladies héréditaires**

Etudier le génome humain, pourquoi faire ?

- **Comprendre son fonctionnement**
(la régulation de l'expression des gènes)
- Reconstituer l'histoire de l'humanité
- Identifier les maladies liées à des mutations somatiques (cancer)
- Evaluer la prédispositions aux maladies complexes (neurodégénératives, cancer, maladies cardiovasculaires, autoimmunes, ...)
- Identifier les maladies héréditaires

Comprendre son fonctionnement



Etudier le génome humain, pourquoi faire ?

- Comprendre son fonctionnement
(la régulation de l'expression des gènes)
- Reconstituer l'histoire de l'humanité**
- Identifier les maladies liées à des mutations somatiques (cancer)
- Evaluer la prédispositions aux maladies complexes (neurodégénératives, cancer , maladies cardiovasculaires, autoimmunes,...)
- Identifier les maladies héréditaires

Les marqueurs génétiques contribuent à reconstituer l'histoire de l'humanité

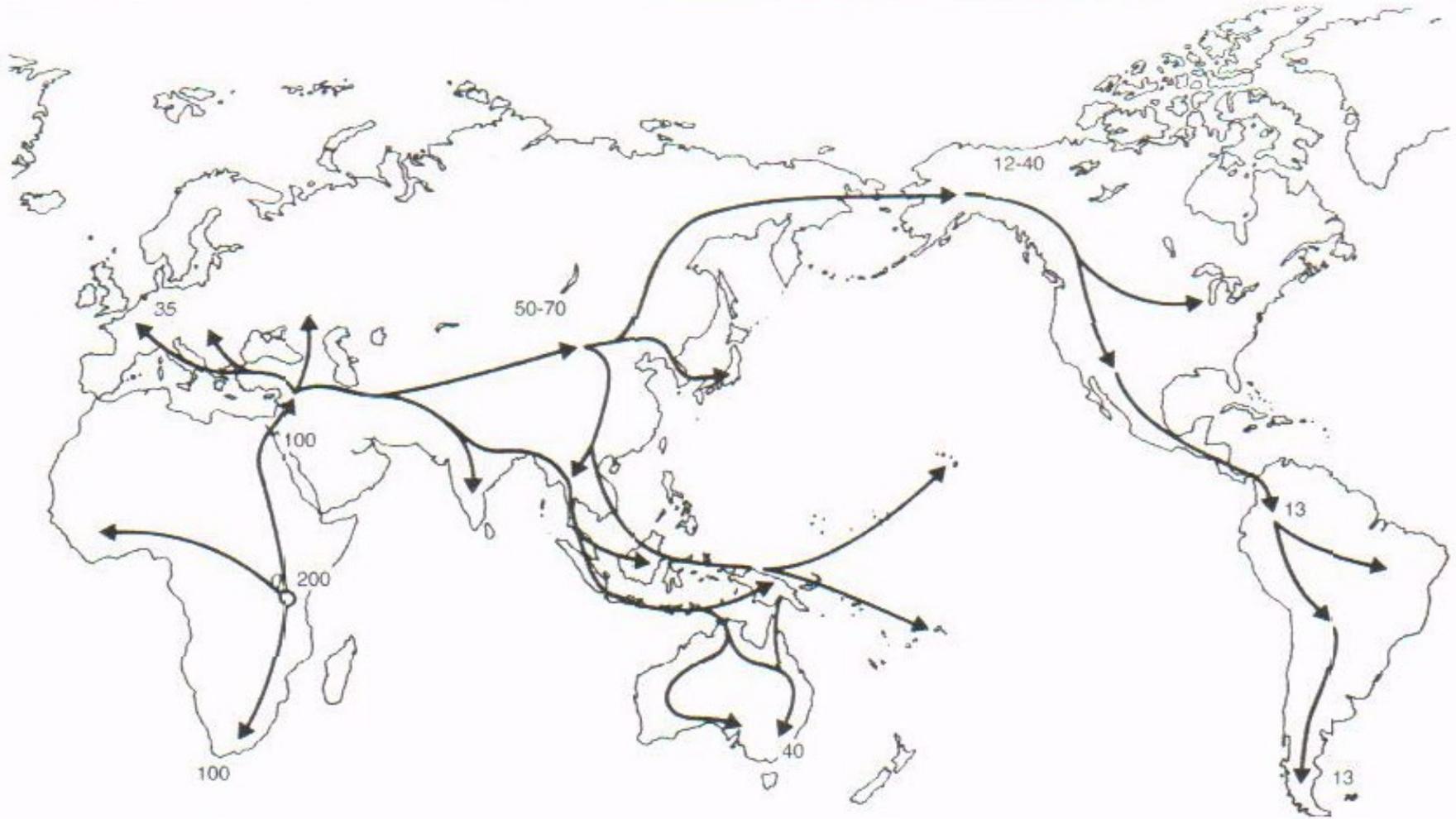
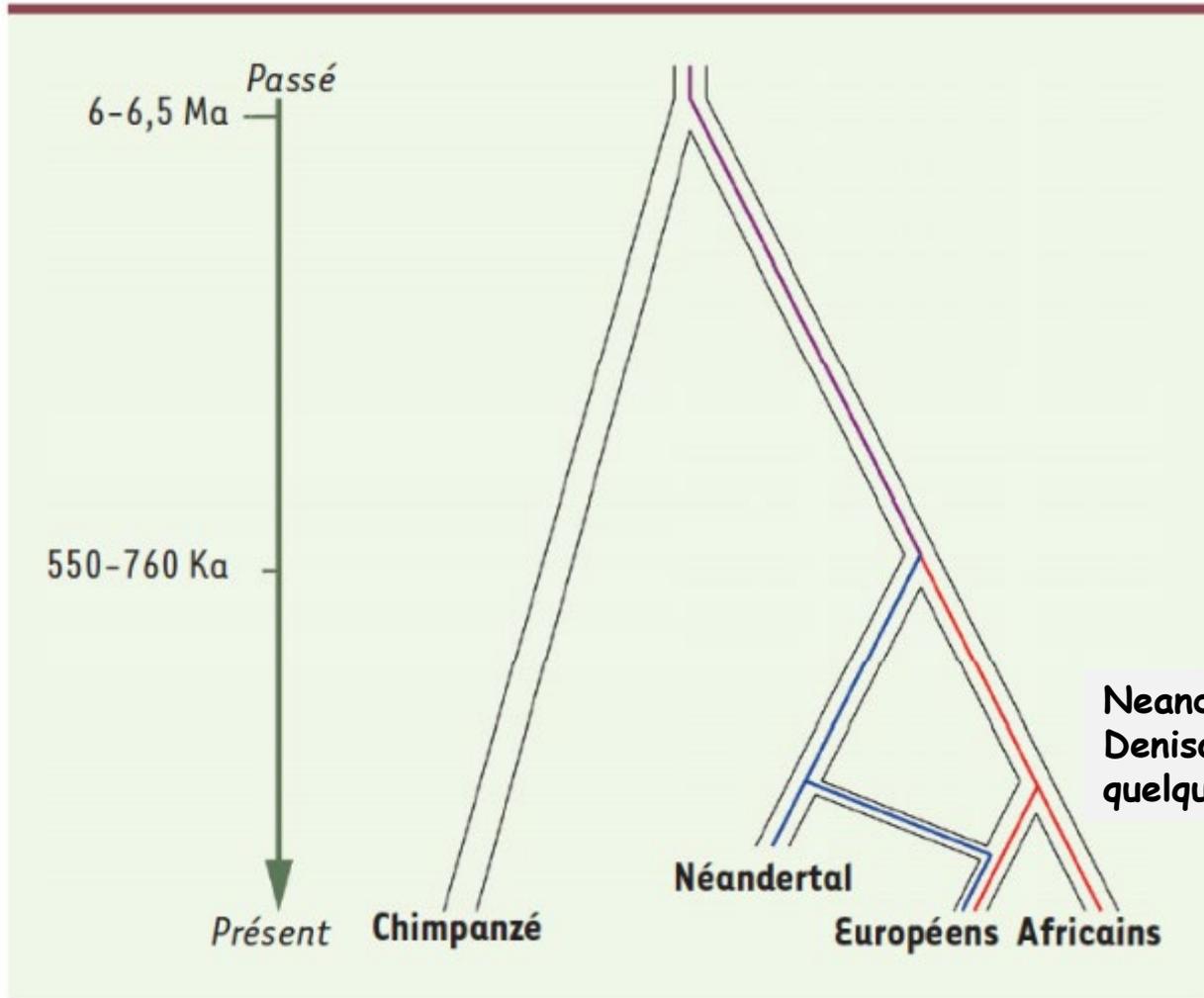


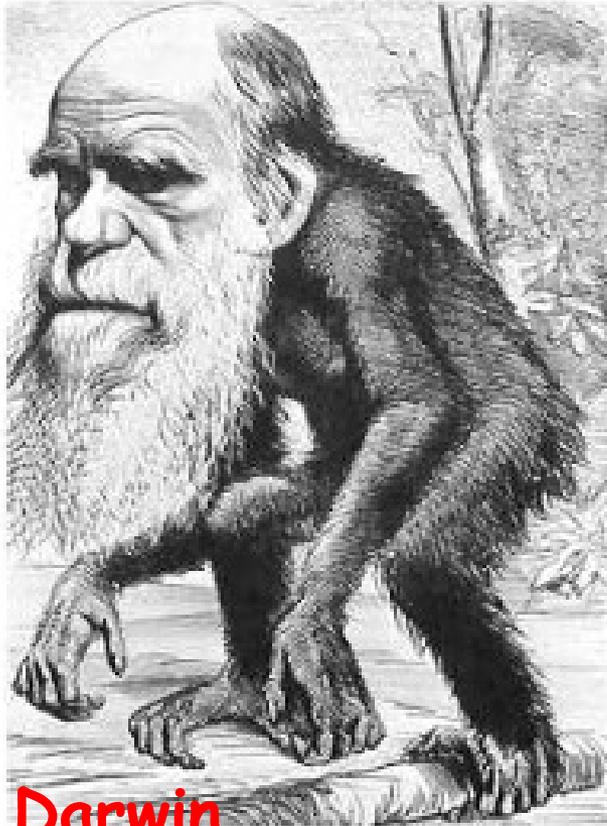
Figure 23.8 : Grandes voies de migration des hommes modernes au cours des derniers 100 000 ans. Les dates présumées sont indiquées en milliers d'années.

Brassage avec les populations humaines "archaïques"



Neandertal en Europe: il y a 50 000 ans
Denisova en Asie
quelques % du génome

Le génome évolue



Darwin

Mutations/sélection



Convergent adaptation of human lactase persistence in Africa and Europe

Sarah A Tishkoff^{1,9}, Floyd A Reed^{1,9}, Alessia Ranciaro^{1,2}, Benjamin F Voight³, Courtney C Babbitt⁴, Jesse S Silverman⁴, Kweli Powell¹, Holly M Mortensen¹, Jibril B Hirbo¹, Maha Osman⁵, Muntaser Ibrahim⁵, Sabah A Omar⁶, Godfrey Lema⁷, Thomas B Nyambo⁷, Jilur Ghoris⁸, Suzannah Bumpstead⁸, Jonathan K Pritchard³, Gregory A Wray⁴ & Panos Deloukas⁸

NATURE GENETICS VOLUME 39 | NUMBER 1 | JANUARY 2007

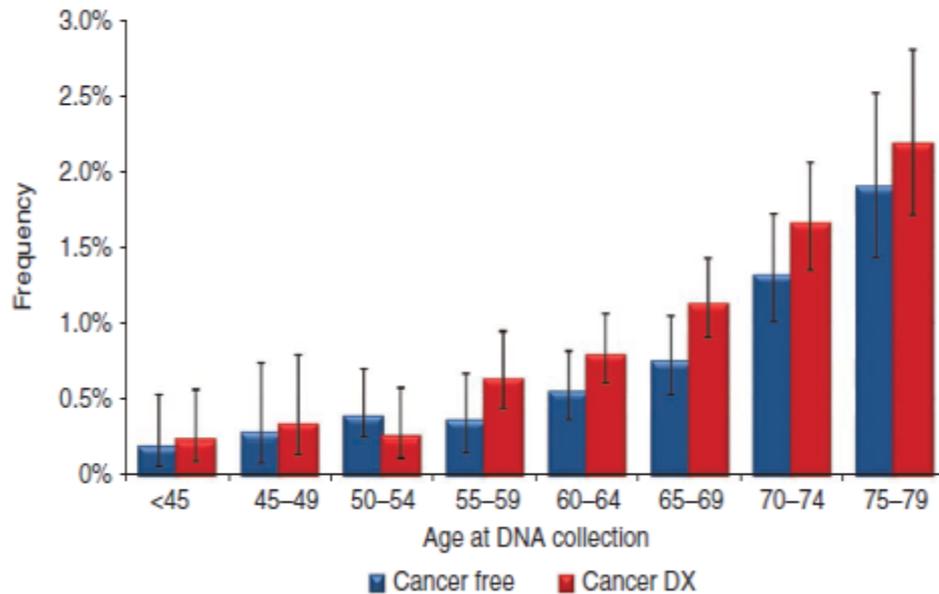


Avantage sélectif apporté par la possibilité de digérer le lactose à l'age adulte au moment du développement de l'élevage il y a 8-10 000 ans

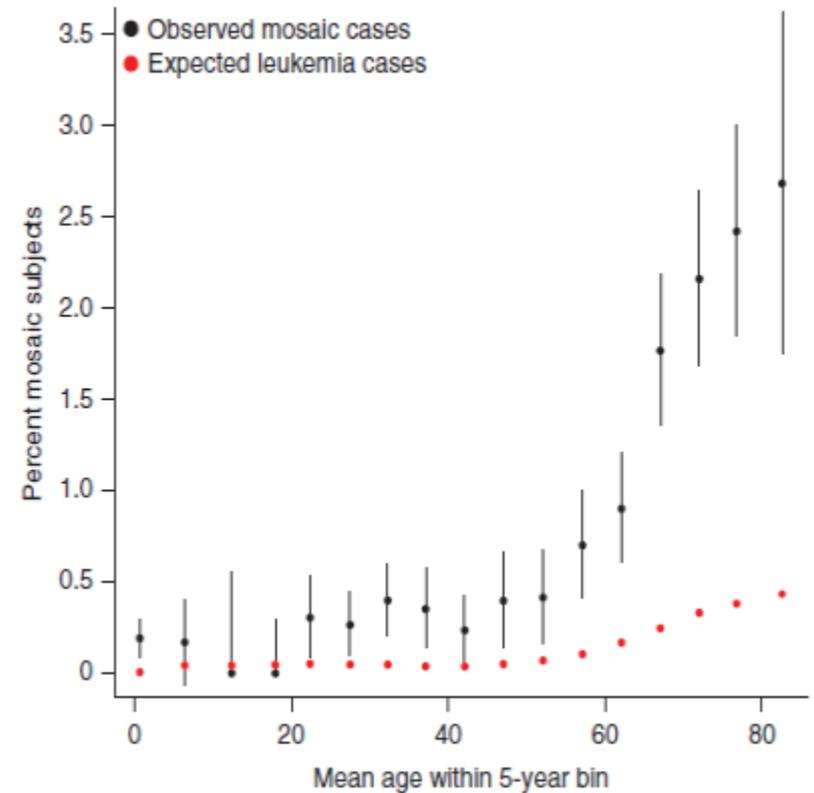
Etudier le génome humain, pourquoi faire ?

- Comprendre son fonctionnement
(la régulation de l'expression des gènes)
- Reconstituer l'histoire de l'humanité
- **Identifier les maladies liées à des mutations somatiques (cancer)**
- Evaluer la prédispositions aux maladies complexes (neurodégénératives, cancer, maladies cardiovasculaires, autoimmunes,...)
- Identifier les maladies héréditaires

Les mutations somatiques sont fréquentes et s'accumulent avec l'âge



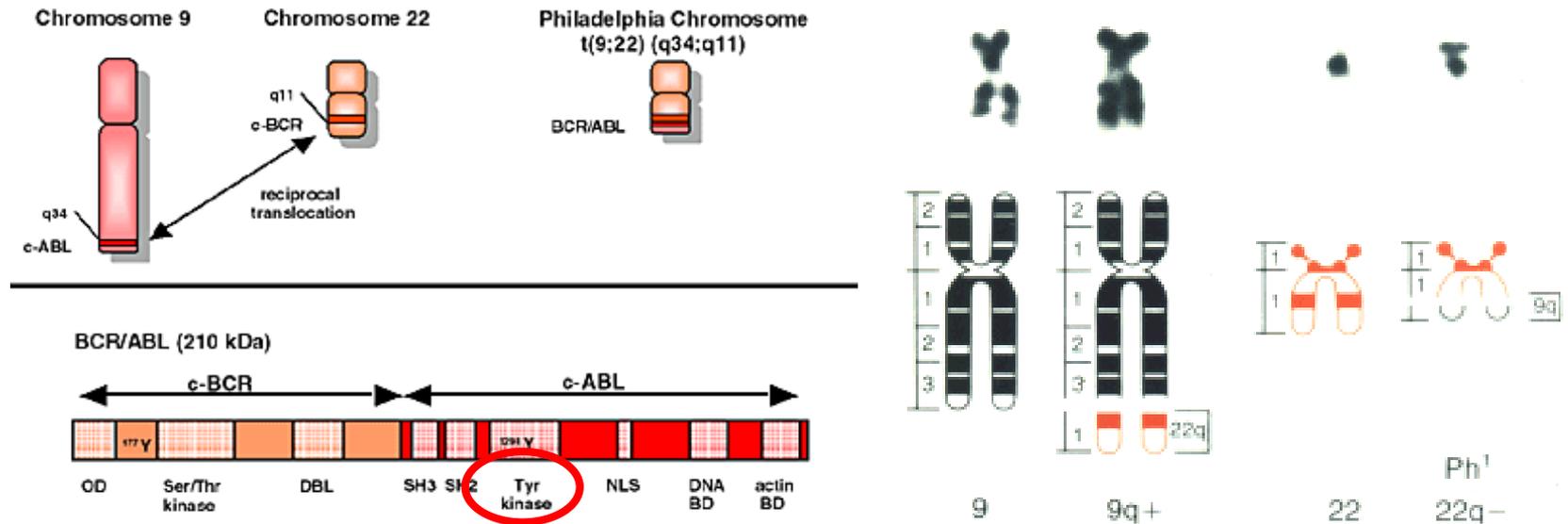
Jacobs KB et al, Nat Genet 2012



Laurie CC et al Nat Genet, 2012

% de globules blancs sanguins porteurs de mutations somatiques // cancer

Exemple de la leucémie myéloïde chronique



"fusion de gène" ⇒ nouvelle protéine ⇒ prolifération cellulaire anarchique

Mise au point d'un inhibiteur (Imatinib) de l'activité enzymatique de la protéine bcr/abl → longue rémission

Etudier le génome humain, pourquoi faire ?

- Comprendre son fonctionnement
(la régulation de l'expression des gènes)
- Reconstituer l'histoire de l'humanité
- Identifier les maladies liées à des mutations somatiques (cancer)
- **Evaluer la prédispositions aux maladies complexes (neurodégénératives, cancer, maladies cardiovasculaires, autoimmunes, ...)**
- Identifier les maladies héréditaires

Evaluer la prédispositions aux maladies complexes (neurodégénératives, cancer , maladies cardiovasculaires, autoimmunes,..) ??

- l' utilité dépend du niveau de risque et des possibilités d' action de prévention possible
- peu de situations (quelques dizaines)
ex. BRCA1 et cancer du sein
- un business fructueux pour certains..
- information et explications par un spécialiste nécessaires

Facteurs de risque polygéniques de maladies fréquentes

Score polygénique (association de variants)	% population
---	--------------

<u>Risque x 3</u> : maladie coronarienne	8
fibrillation auriculaire	6.1
diabète de type II	3.5
maladie inflammatoire de l'intestin	3.2
cancer du sein	1.5

Khera A.V. et al. Nature Genet, 2018

utilité clinique ?

Etudier le génome **microbien**, pourquoi faire ?

Exemple de l'épidémie à Ebola virus
en Afrique de l'ouest (2014-5)

Etudier aussi le génome des agents infectieux

exemple de l'épidémie d'Ebola en Afrique de l'Ouest
étude de la diffusion du virus par séquençage de son génome



Etudier le génome humain, pourquoi faire ?

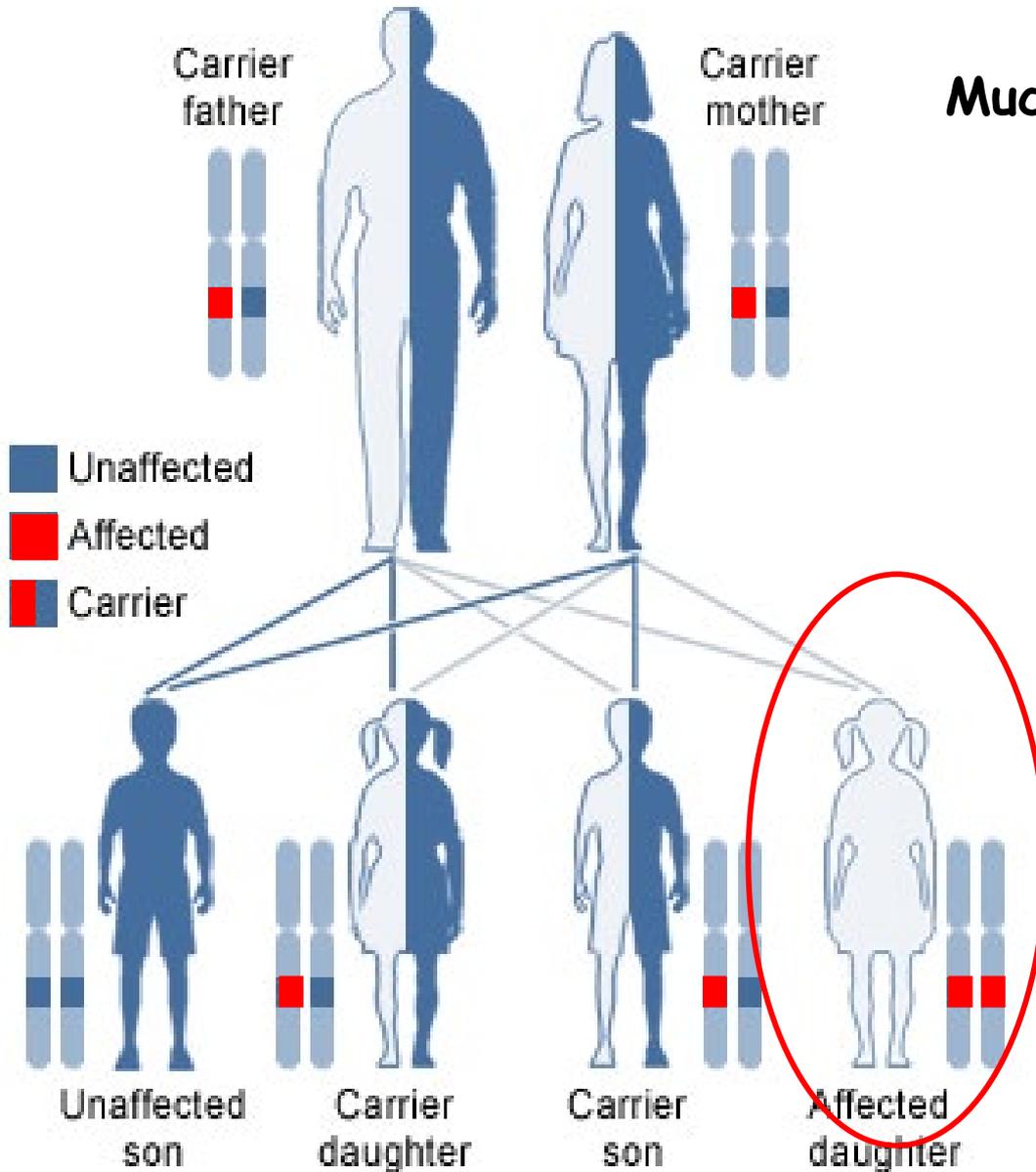
- Comprendre son fonctionnement
(la régulation de l'expression des gènes)
- Reconstituer l'histoire de l'humanité
- Identifier les maladies liées à des mutations somatiques (cancer)
- Évaluer la prédispositions aux maladies complexes (neurodégénératives, cancer, maladies cardiovasculaires, autoimmunes, ...)
- Identifier les maladies héréditaires

Hérédité mendélienne

1 gène, 1 maladie

Mucoviscidose, drépanocytose...

Autosomal recessive



Concept simple et "vrai"

Génétique des maladies héréditaires mendéliennes

8000 maladies, 3500 gènes responsables identifiés

- Gènes candidats ≥ 1984
- Cartographie génétique et physique ≥ 1984
- Séquençage de l'ensemble des exons ≥ 2010
- Séquençage du génome entier 2011...

Mutations = maladies ? :

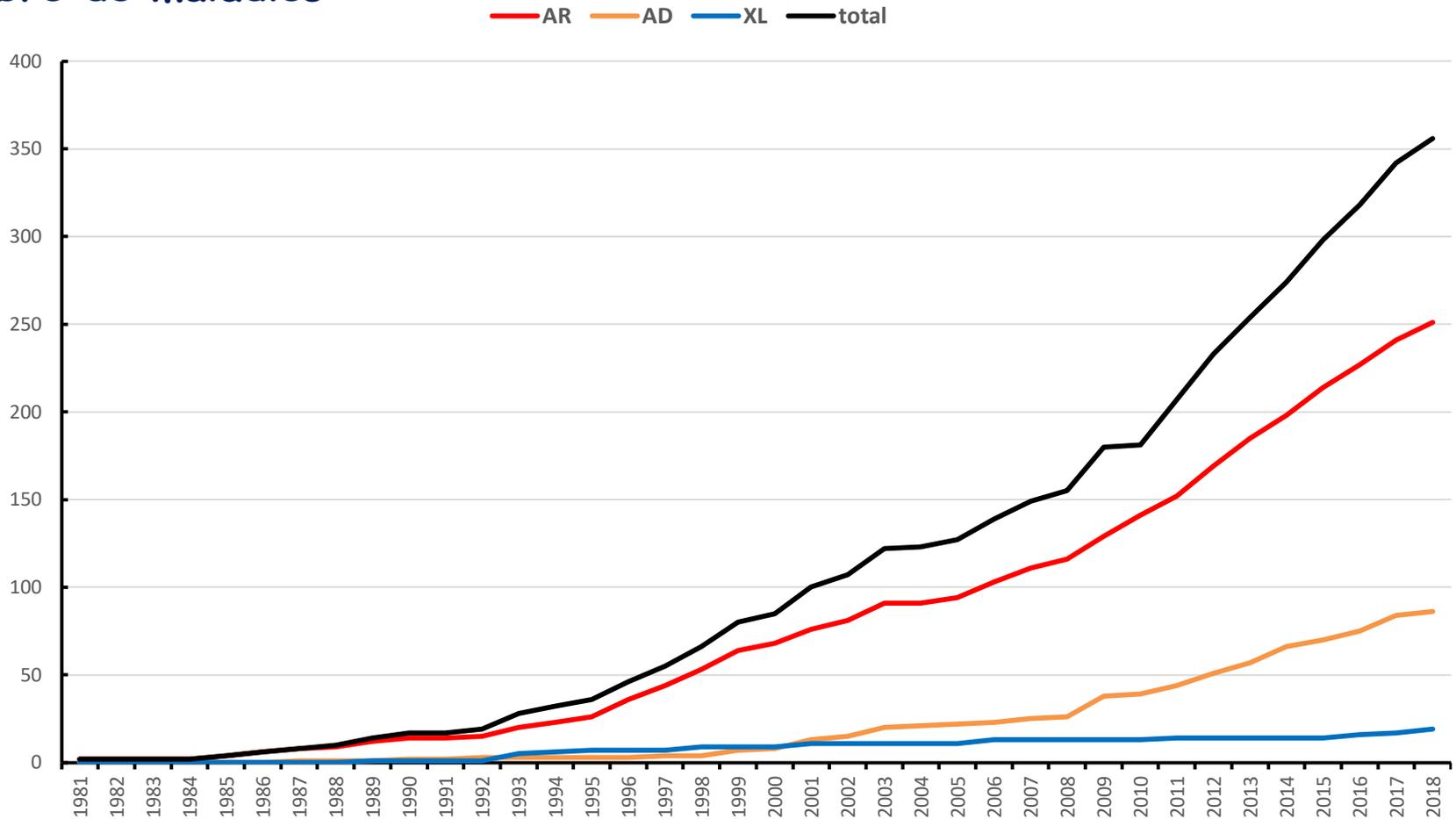
- > Oui : corrélation entre "phénotypes" et "génotypes"
- > Non : gènes modificateurs
- > Non : mutations somatiques modificatrices (+ ou -)
- > Non : l'environnement

A quoi sert le diagnostic génétique des maladies héréditaires ?

- ✓ nommer la maladie, préciser le diagnostic
- ✓ préciser le pronostic
- ✓ comprendre le mécanisme de la maladie
- ✓ choisir une thérapeutique (.. ciblée)
- ✓ proposer un conseil génétique
- ✓ envisager un dépistage génétique ??

L'exemple des maladies héréditaires du système immunitaire

Nombre de maladies



Environ 1/2000 naissances
Importance des bases de données/registres

Traitement des maladies héréditaires

- Encore peu de traitements curatifs
- Transplantation d'organes ou de moelle osseuse
- Thérapie ciblée fondée sur la connaissance du mécanisme de la maladie
 - régime diététique (phénylcétonurie)
 - substitution de la protéine déficiente (hémophilies, Gaucher, ...)
 - contournement d'un bloc métabolique (déficit en primitif en acides biliaires)
 - molécule inhibitrice d'un gain de fonction (maladie périodique, ...)
 - molécule stabilisatrice (mucoviscidose, ...)
 - **thérapie génique**

3 March 1972, Volume 175, Number 4025

SCIENCE

Gene Therapy for Human Genetic Disease?

Proposals for genetic manipulation in humans raise difficult scientific and ethical problems.

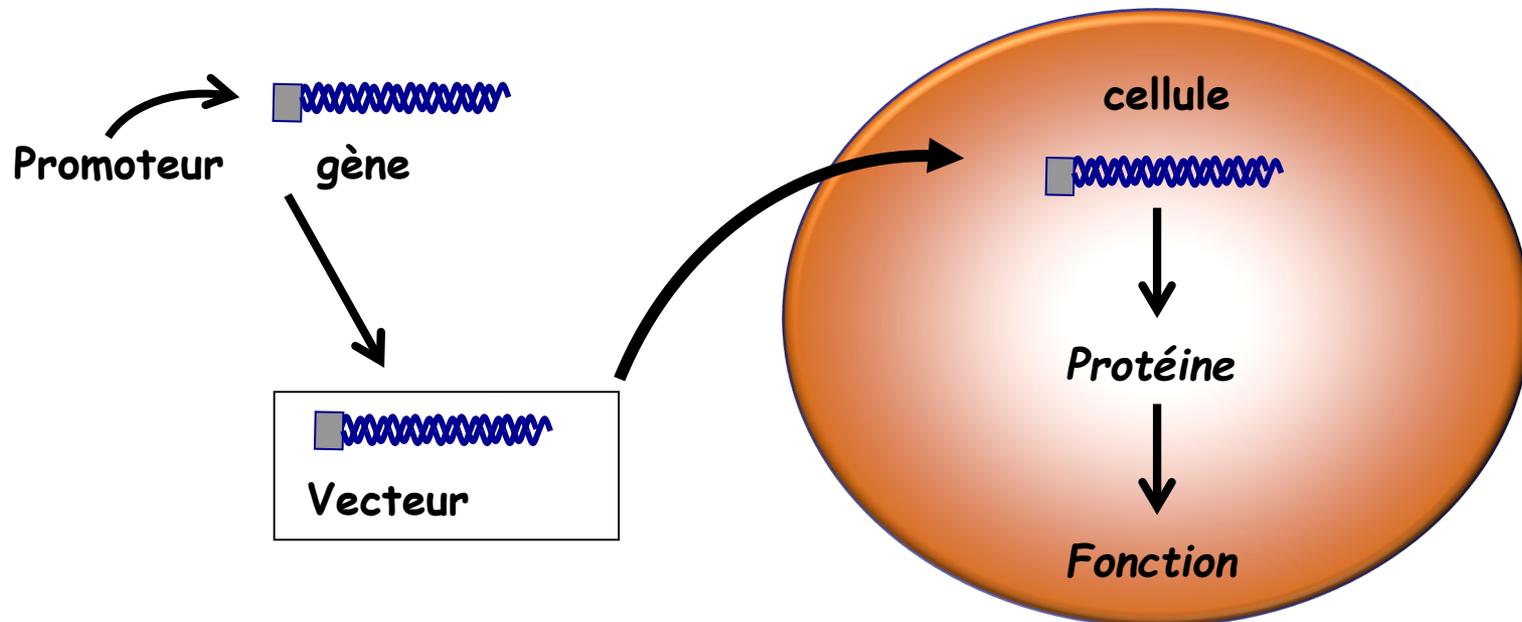
Theodore Friedmann and Richard Roblin

Schematic Model of Genetic Disease

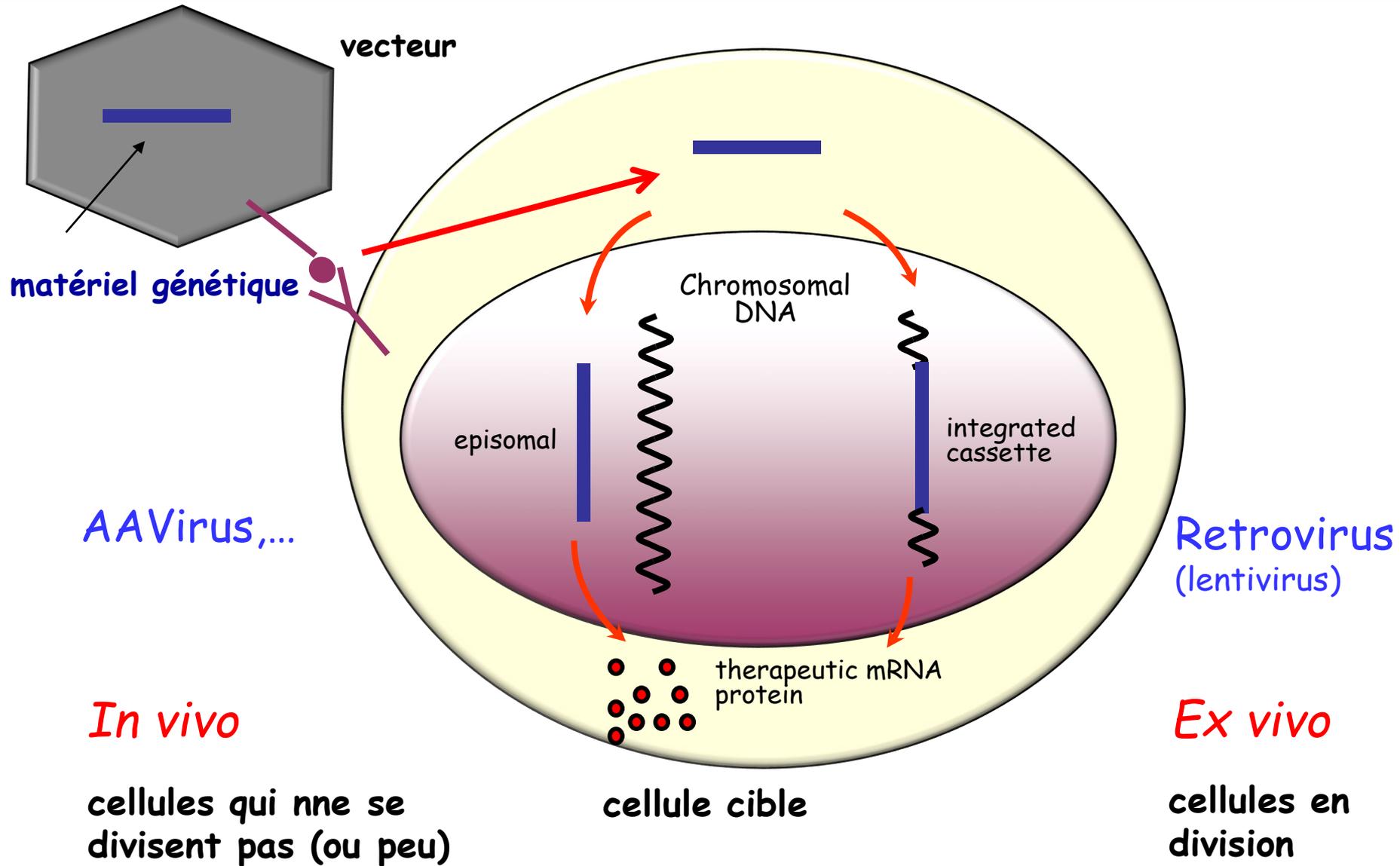
Some aspects of a hypothetical human genetic disease in which an enzyme is defective are shown in Fig. 1. The consequences of a gene mutation which renders enzyme E_3 defective could be (i) failure to synthesize required compounds D and F; (ii) accumulation of abnormally high concentrations of compound C and its further metabolites by other biochemical pathways; (iii) failure to regulate properly the activity of enzyme E_1 , because of loss of the normal feedback inhibitor, compound F; and (iv) failure of a regulatory step in a linked pathway because

Stratégies de thérapie génique

- Apporter une copie normale d'un gène
- Inhiber l'expression d'un gène (muté)
- Corriger une mutation
- Ajouter un "nouveau gène" pour créer une nouvelle fonction



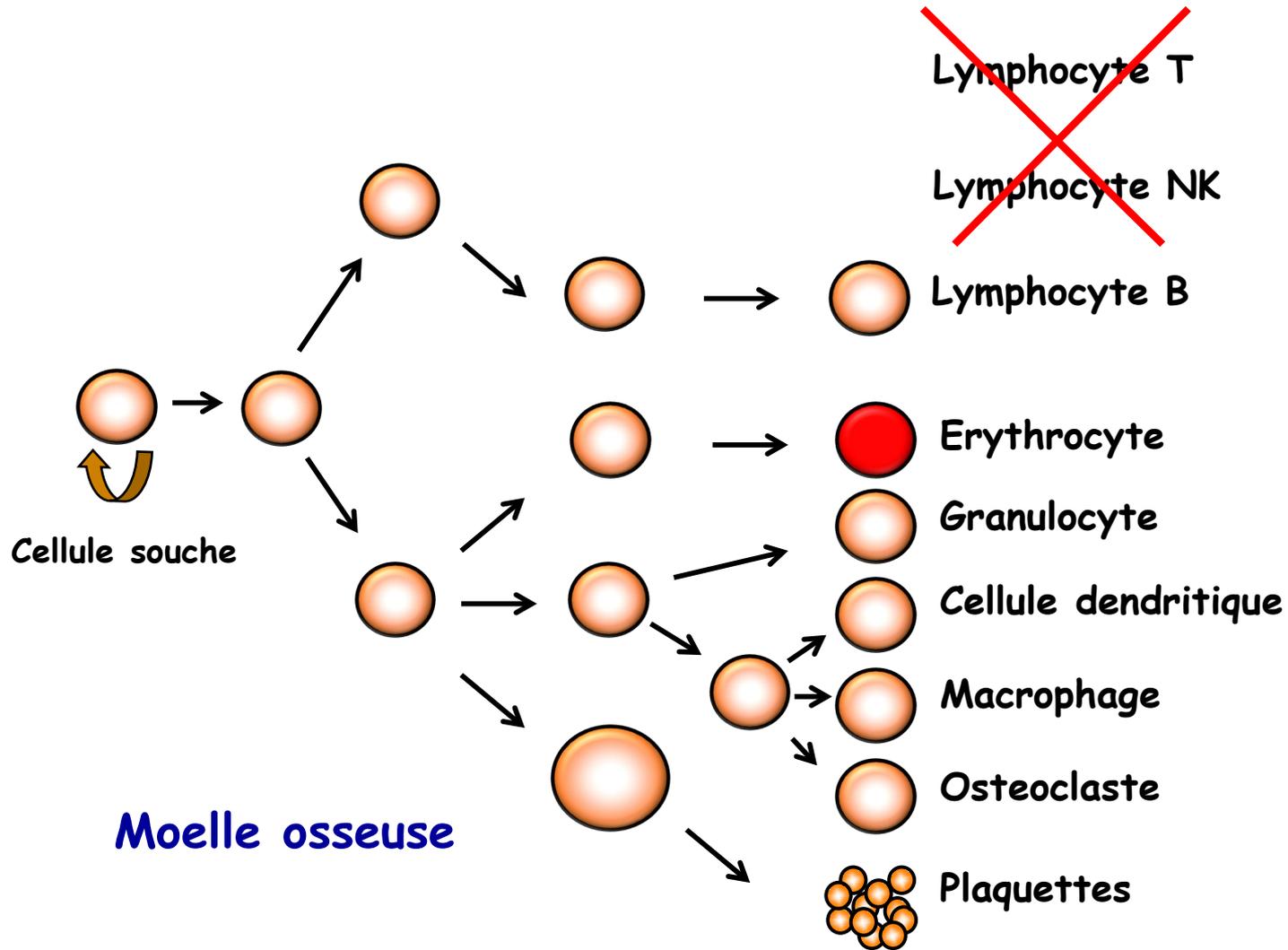
Comment faire ?



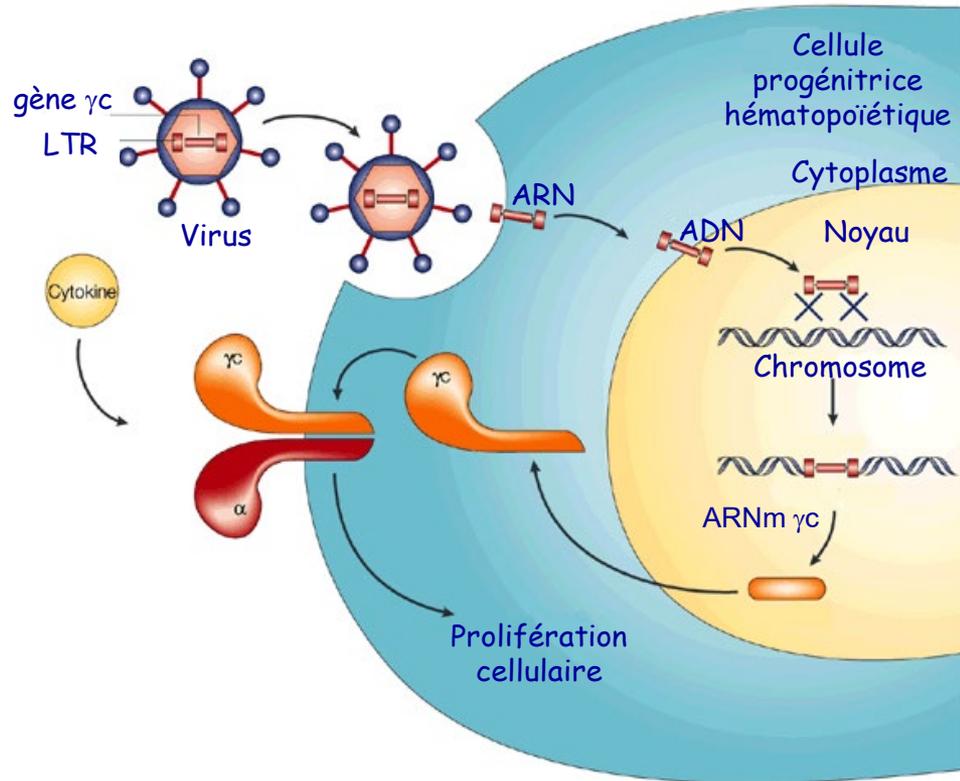
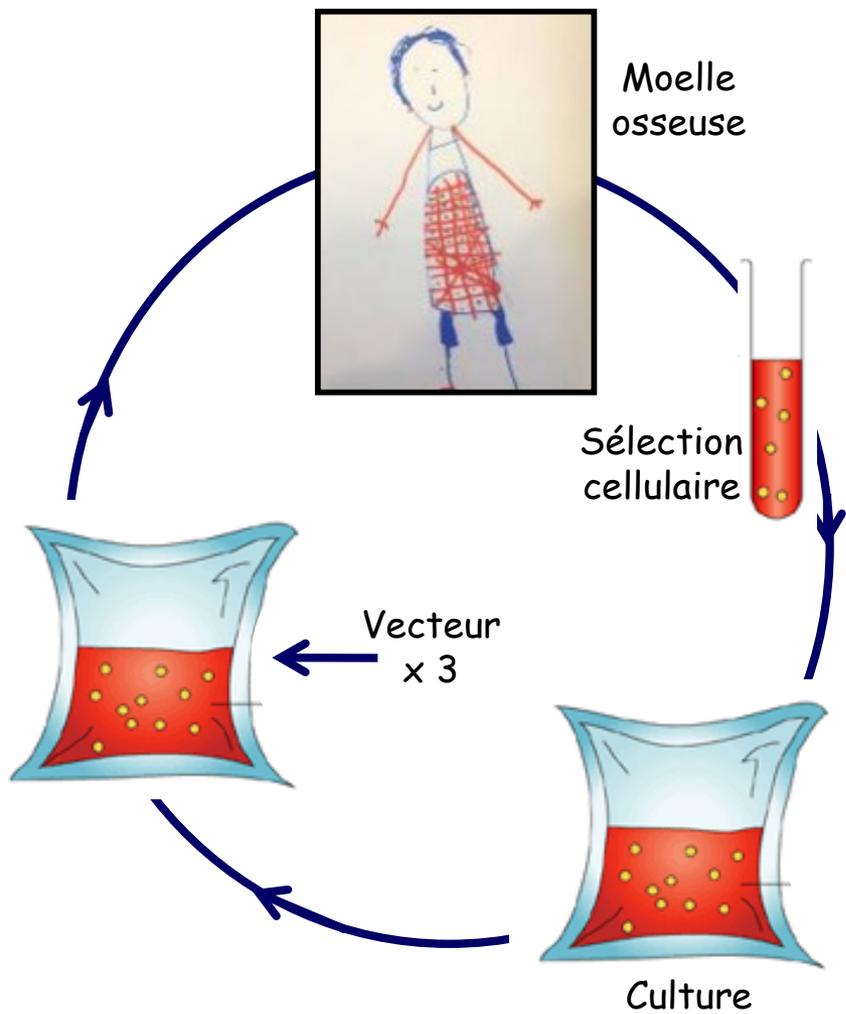
Succès de la thérapie génique à ce jour

- 2000 SCID-X1 (deficit immunitaire) *In vitro (RV)*
- 2002 SCID-ADA *In vitro (RV)*
- 2008 Amaurose *In vivo (AAV)*
- 2009 Adrenoleukodystrophie
- 2010 Béta thalassémie
- 2013 Wiskott-Aldrich syndrome
- 2013 leukodystrophie métachromatique
- 2014 Hémophilie B • 2014 leucémies B
- 2017 Drépanocytose
- 2017 Amyotrophie spinale
- 2017 Epidermolyse bulleuse
- 2017 Hémophilie A

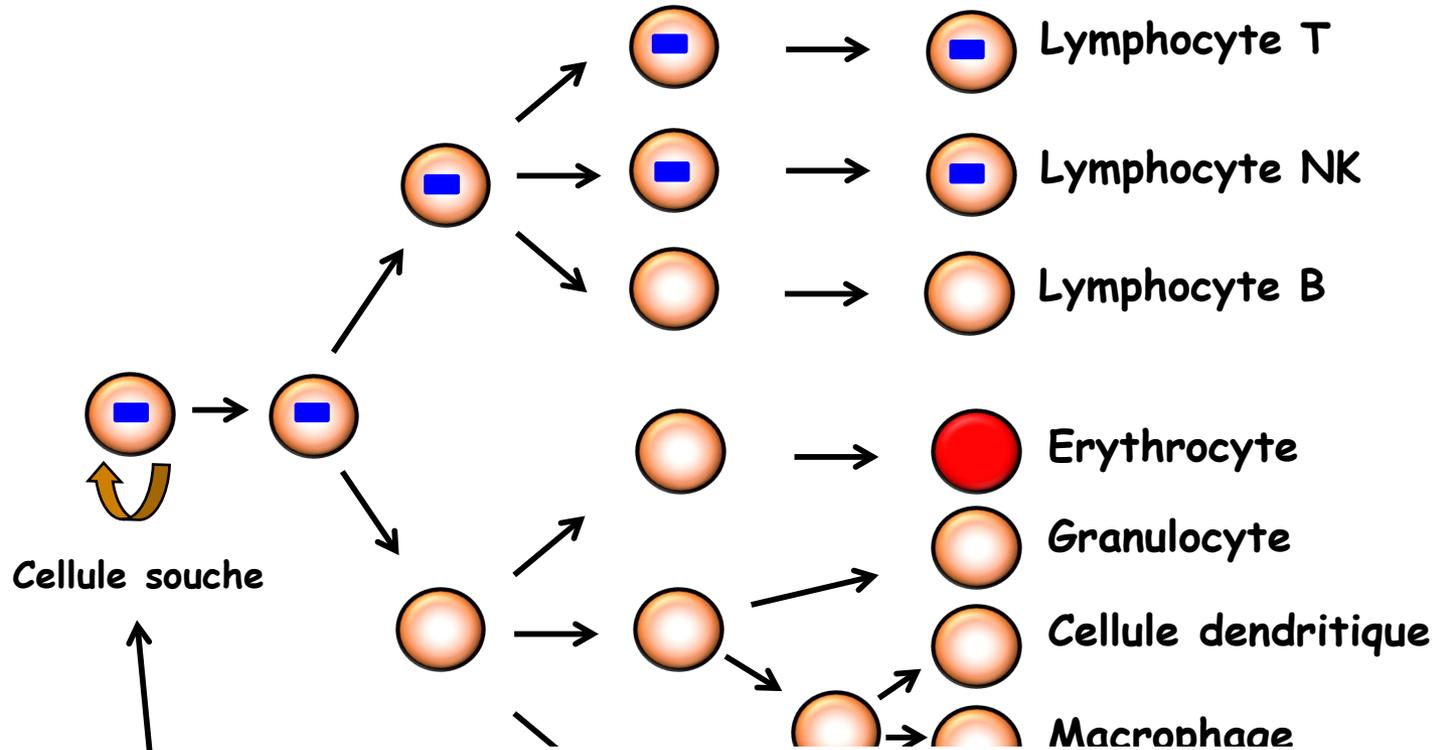
Déficit immunitaire combiné sévère (DICS) lié à l'X



Correction - Principe



Thérapie génique du DICS lié à l'X

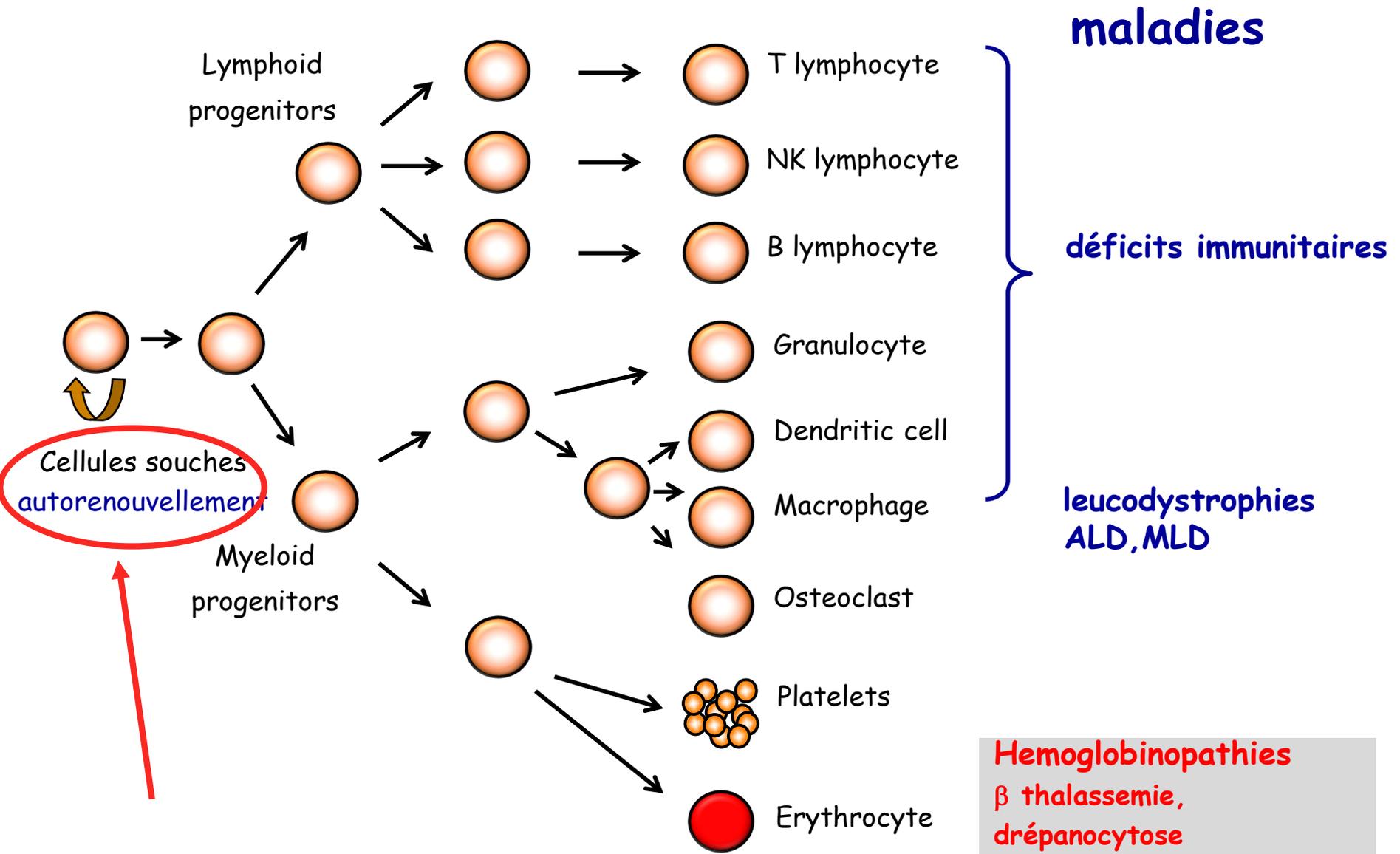


20 ans de recul

3 maladies soignées à ce jour:
SCID X1, ADA, WAS (>200 patients)
Multiples perspectives (CGD,...)

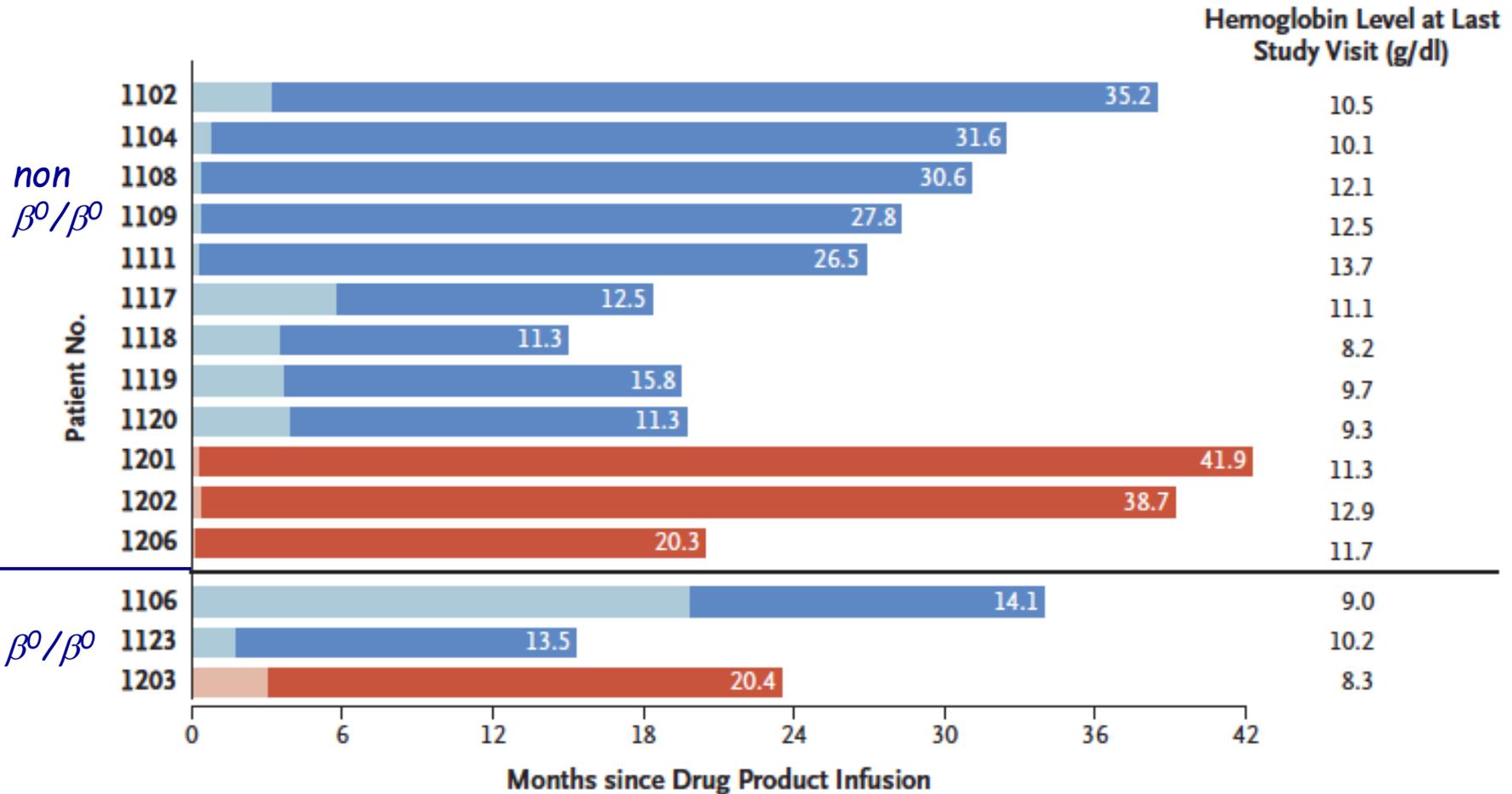
■ "gène thérapeutique"

Thérapie génique des maladies héréditaires du sang



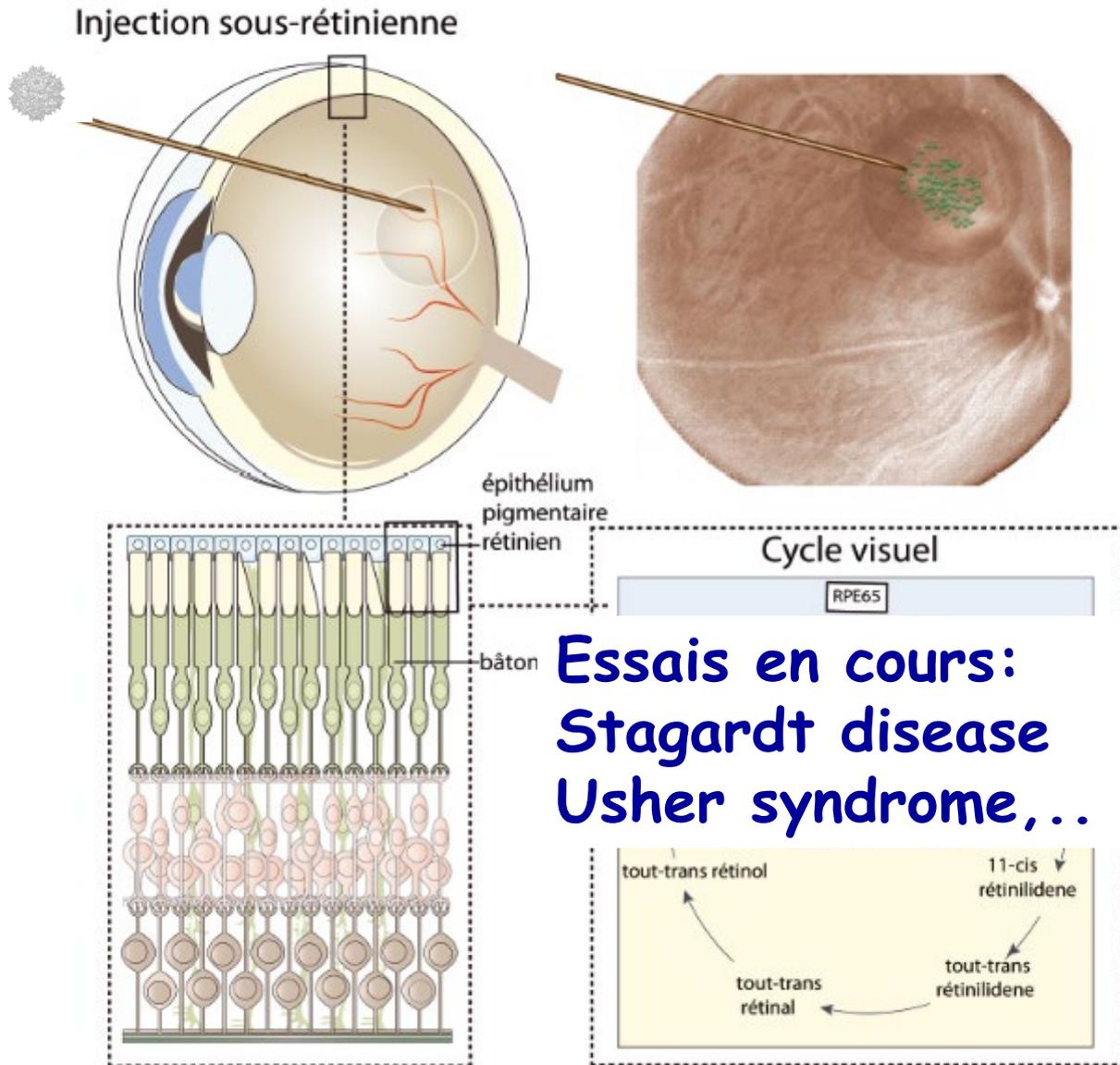
Thérapie génique de la Beta thalassémie

22 patients: 15/22 transfusion independent

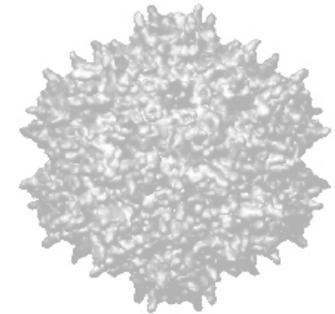
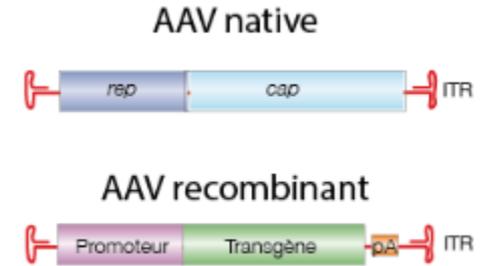


AA Thompson et al,
N Engl J Med 2018

Thérapie génique de l'amaurose de Leber



**Essais en cours:
Stagardt disease
Usher syndrome,...**



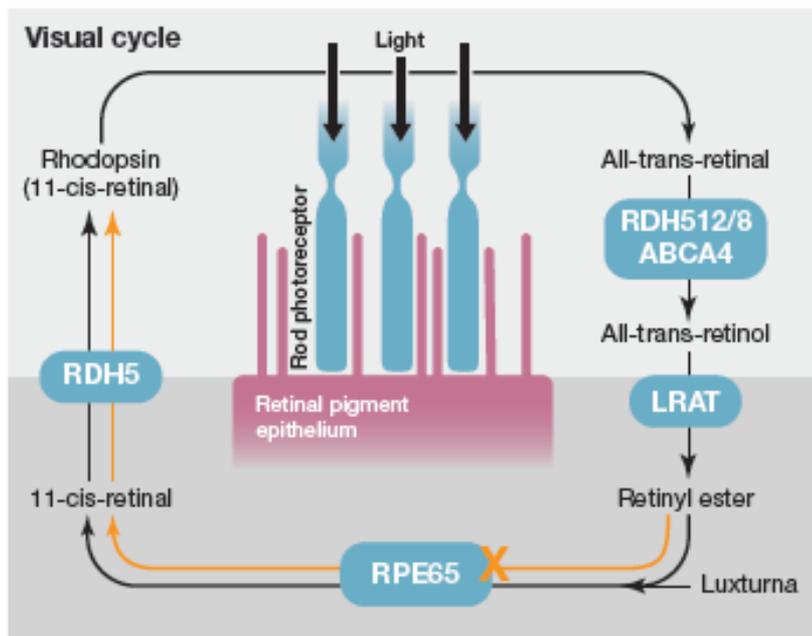
**AAV-
RPE65**

Le cycle visuel et l'implication de *RPE65* en cause dans l'ACL.

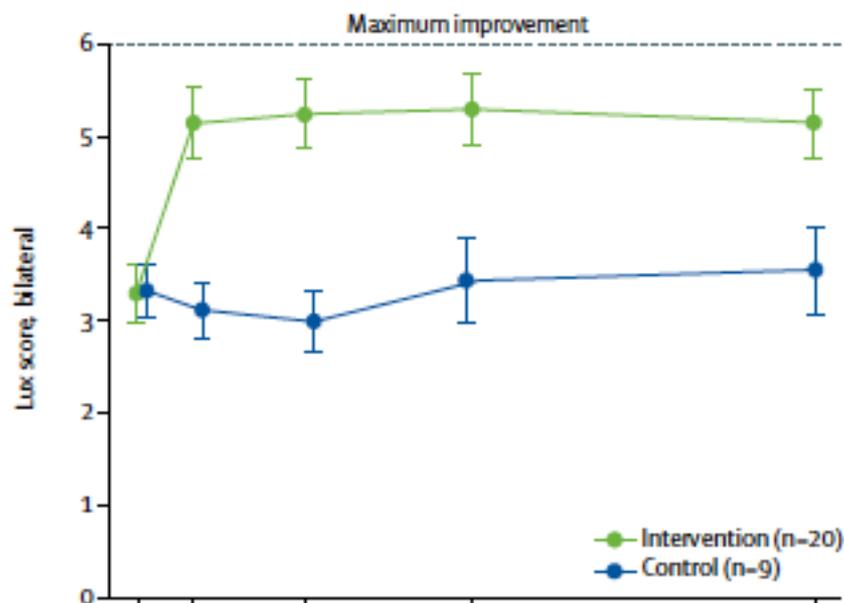
J.A. Sahel

Efficacy and safety of voretigene neparvovec (AAV2-hRPE65v2) in patients with RPE65-mediated inherited retinal dystrophy: a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial

S. Russel et al, The Lancet 2017



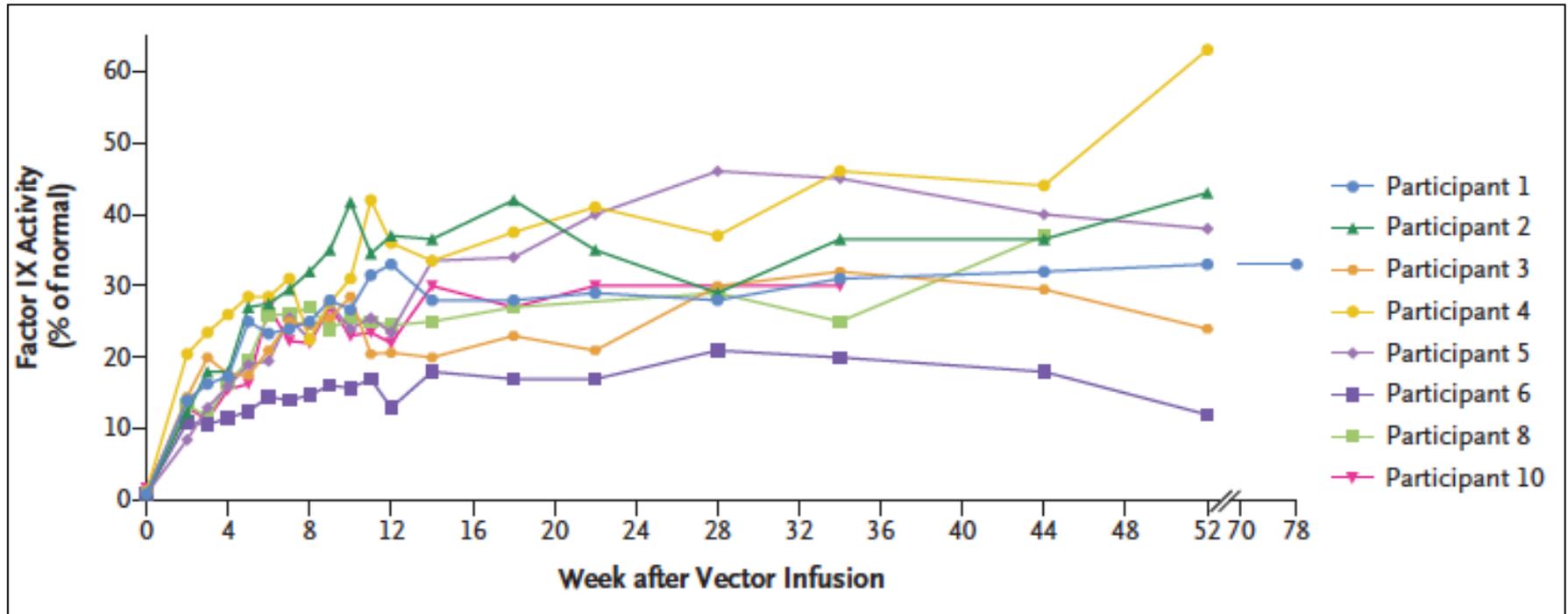
R.S. Apte, Cell 2018



Multiluminance mobility testing

Produit commercialisé aux Etats unis (Luxturna)

Thérapie génique de l'hémophilie B

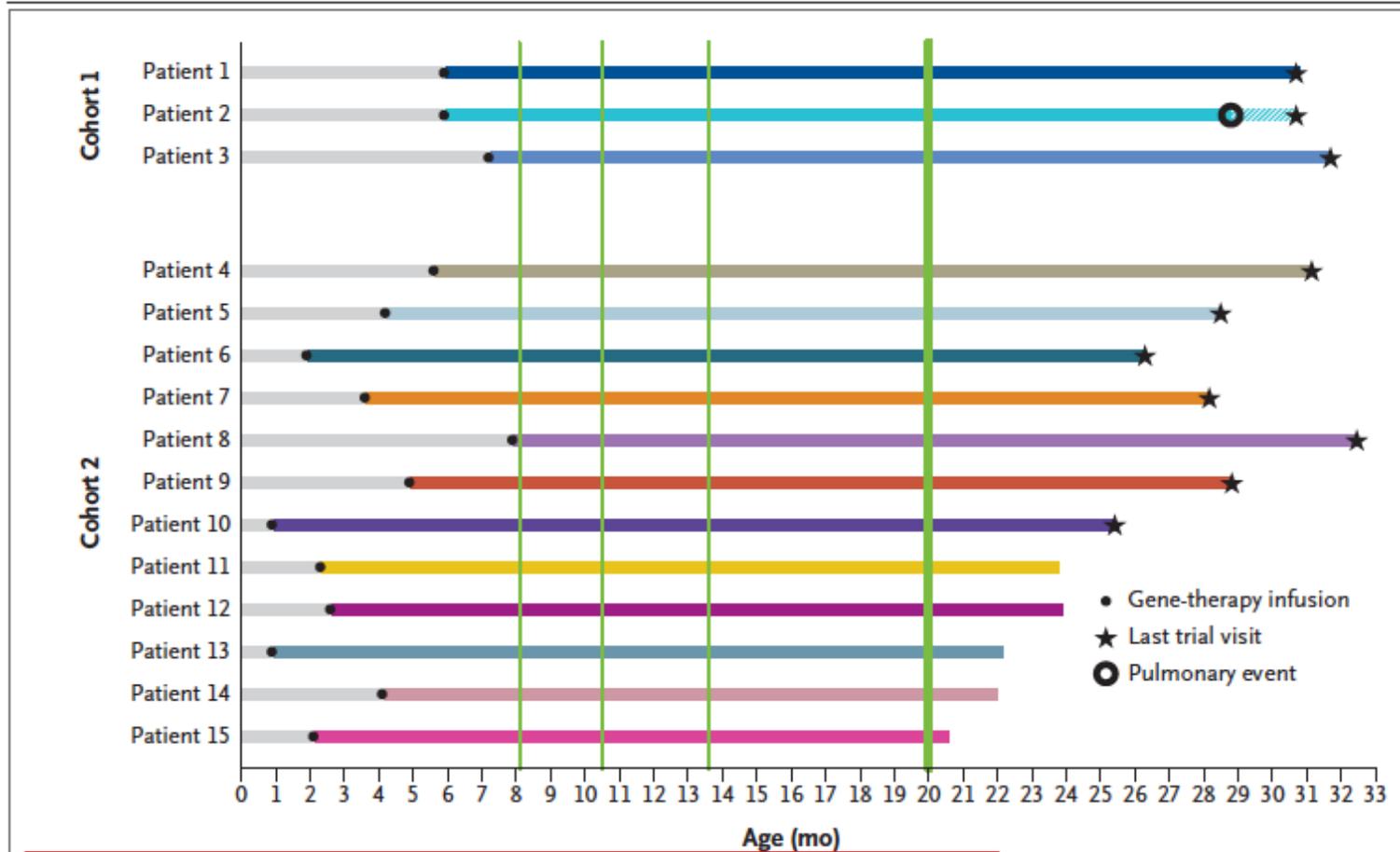


Une injection intraveineuse d'un vecteur AAV qui porte le gène d'un variant hyperactif du facteur IX de la coagulation*

*déficient dans l'hémophilie B

Thérapie génique de l'amyotrophie spinale

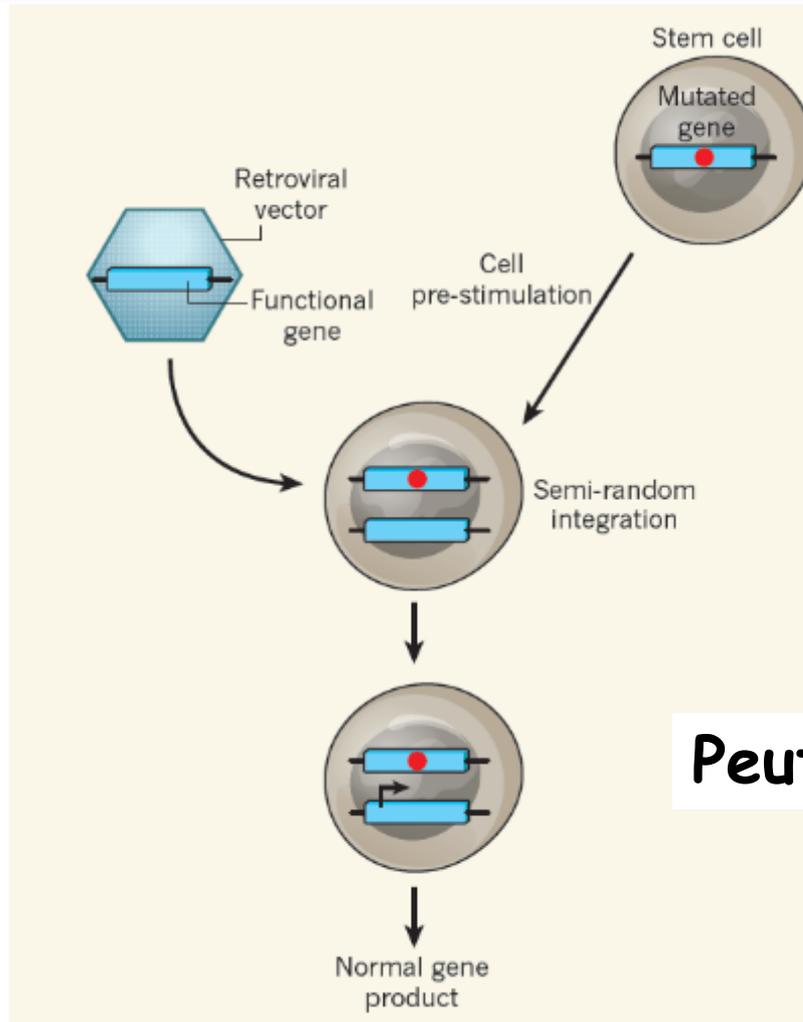
Survie en respiration spontanée



Results of Historical Study	75% Event-free	50% Event-free	25% Event-free	8% Event-free
------------------------------------	----------------	----------------	----------------	---------------

In vivo delivery AAV9 vector capable de franchir la barrière hémato-méningée!!

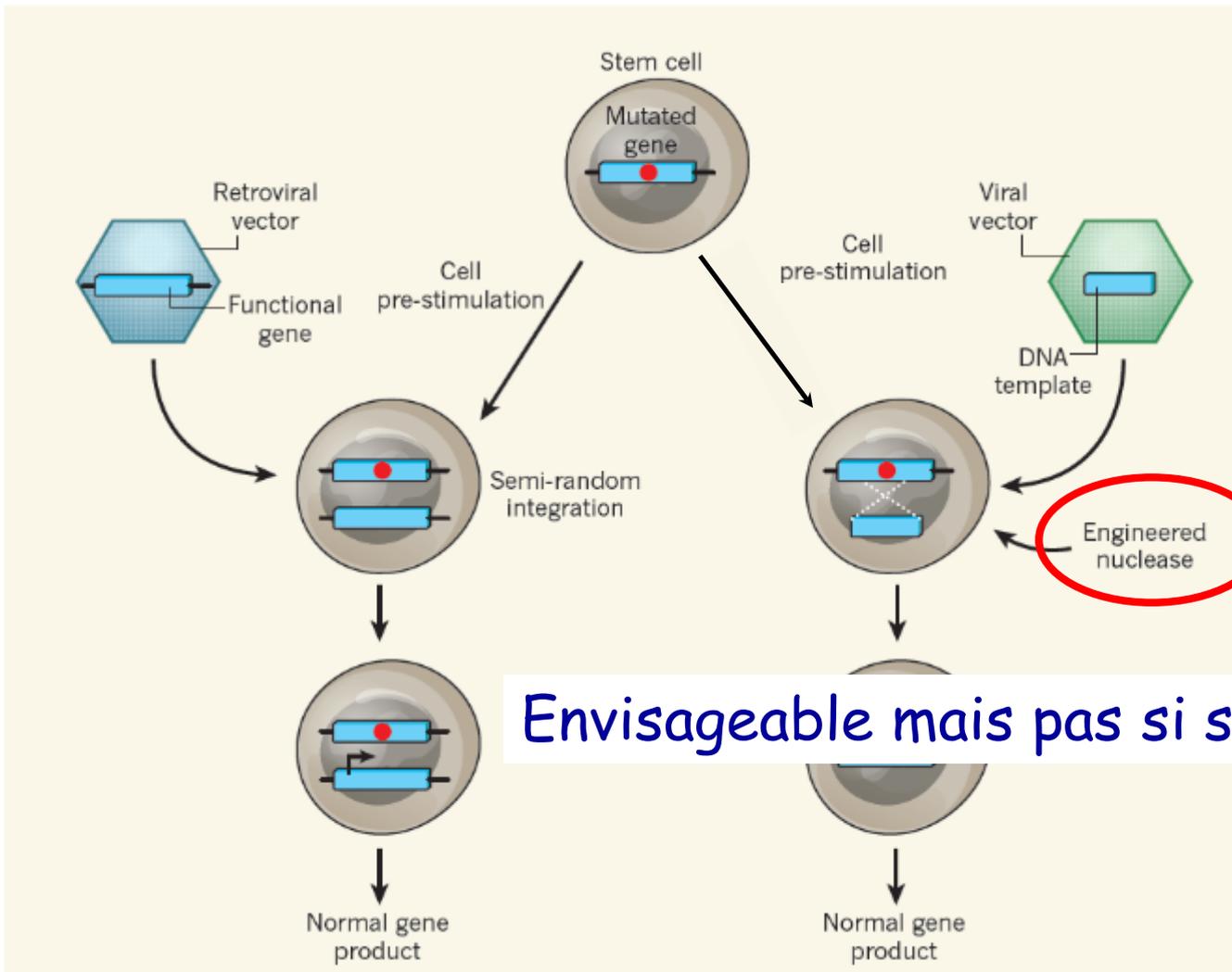
La thérapie génique aujourd'hui



Peut on faire mieux ?

Une forme de « bricolage ! »

La thérapie génique demain ?



Envisageable mais pas si simple !

« bricolage »

correction « parfaite »

Ciblage génique et modification par endonucléases

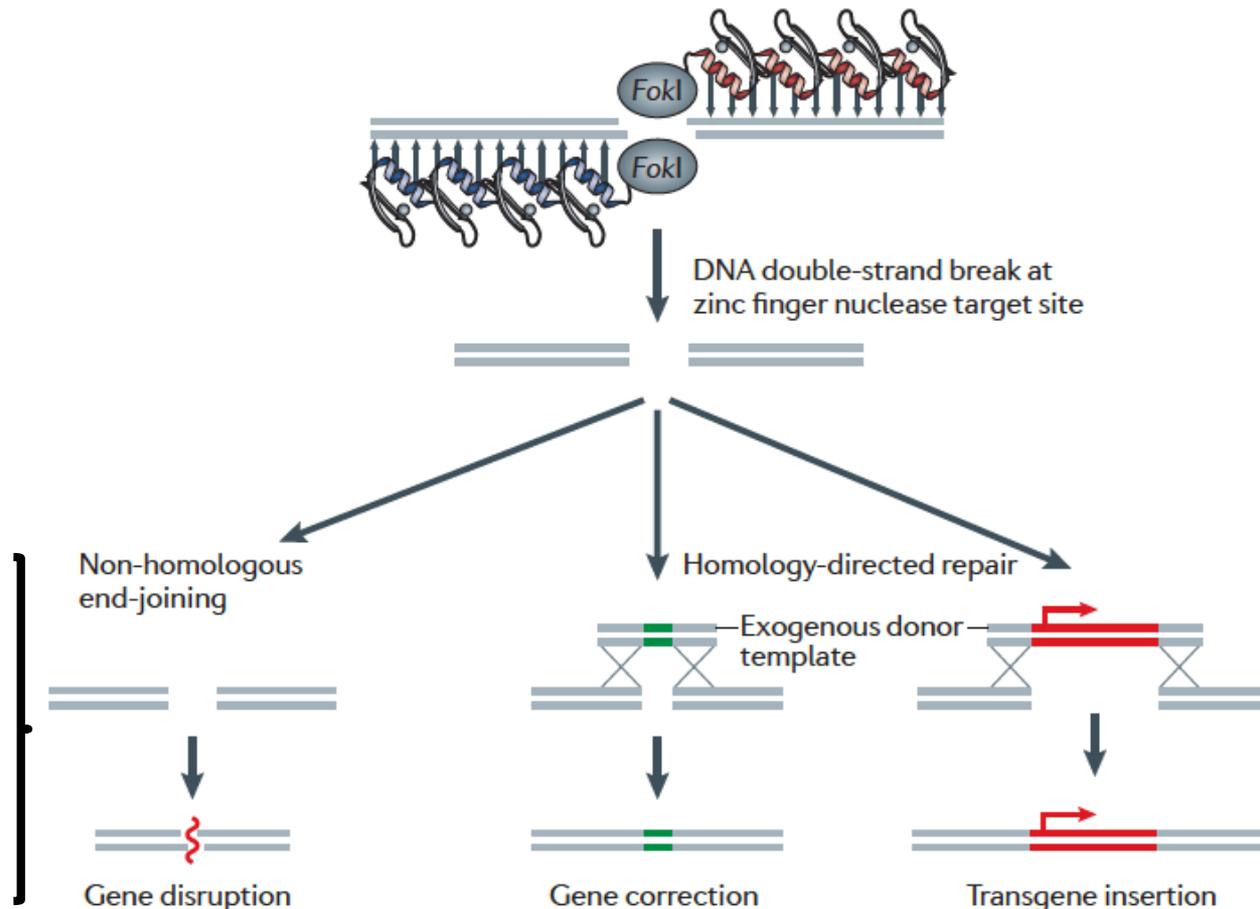
Principe:

Coupure ciblée de l'ADN par une enzyme: une nucléase

2 étapes:

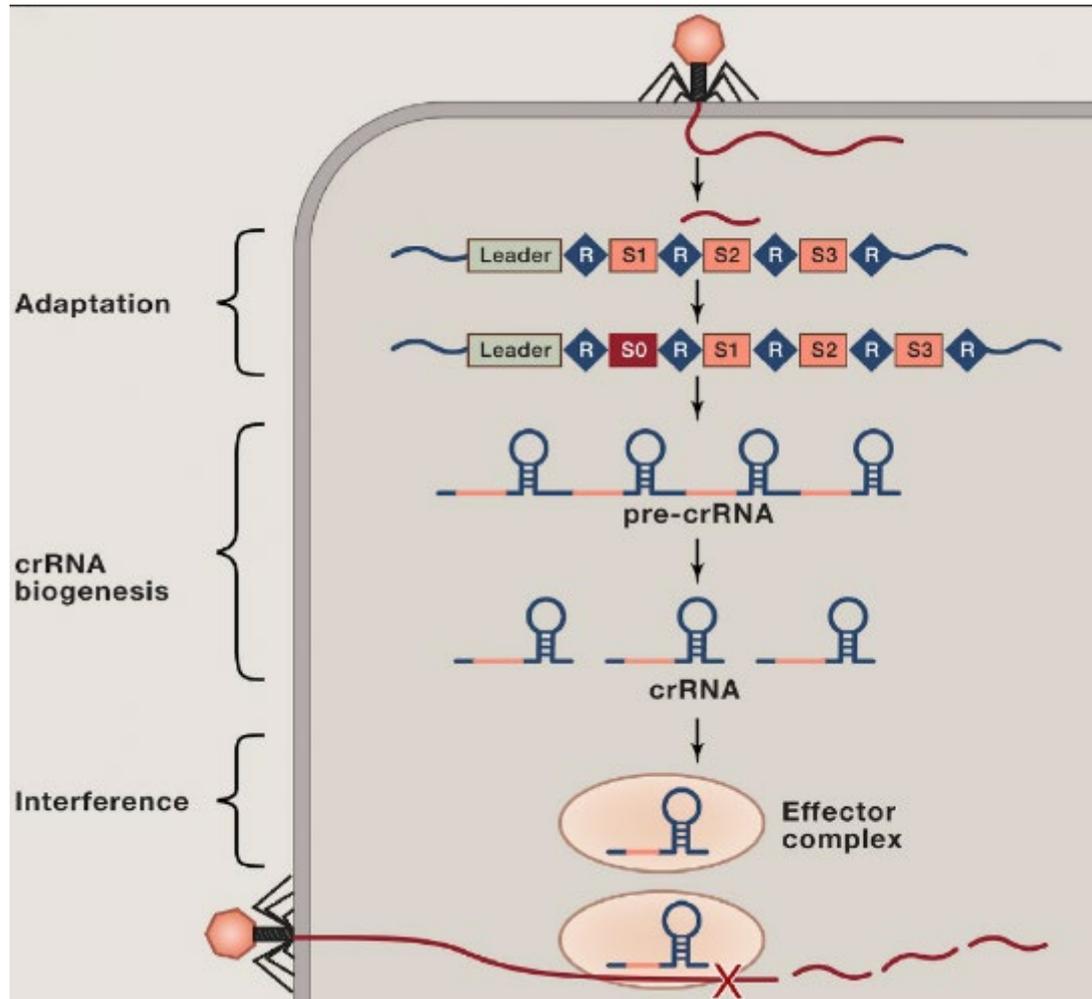
Coupure

Réparation
(religation)

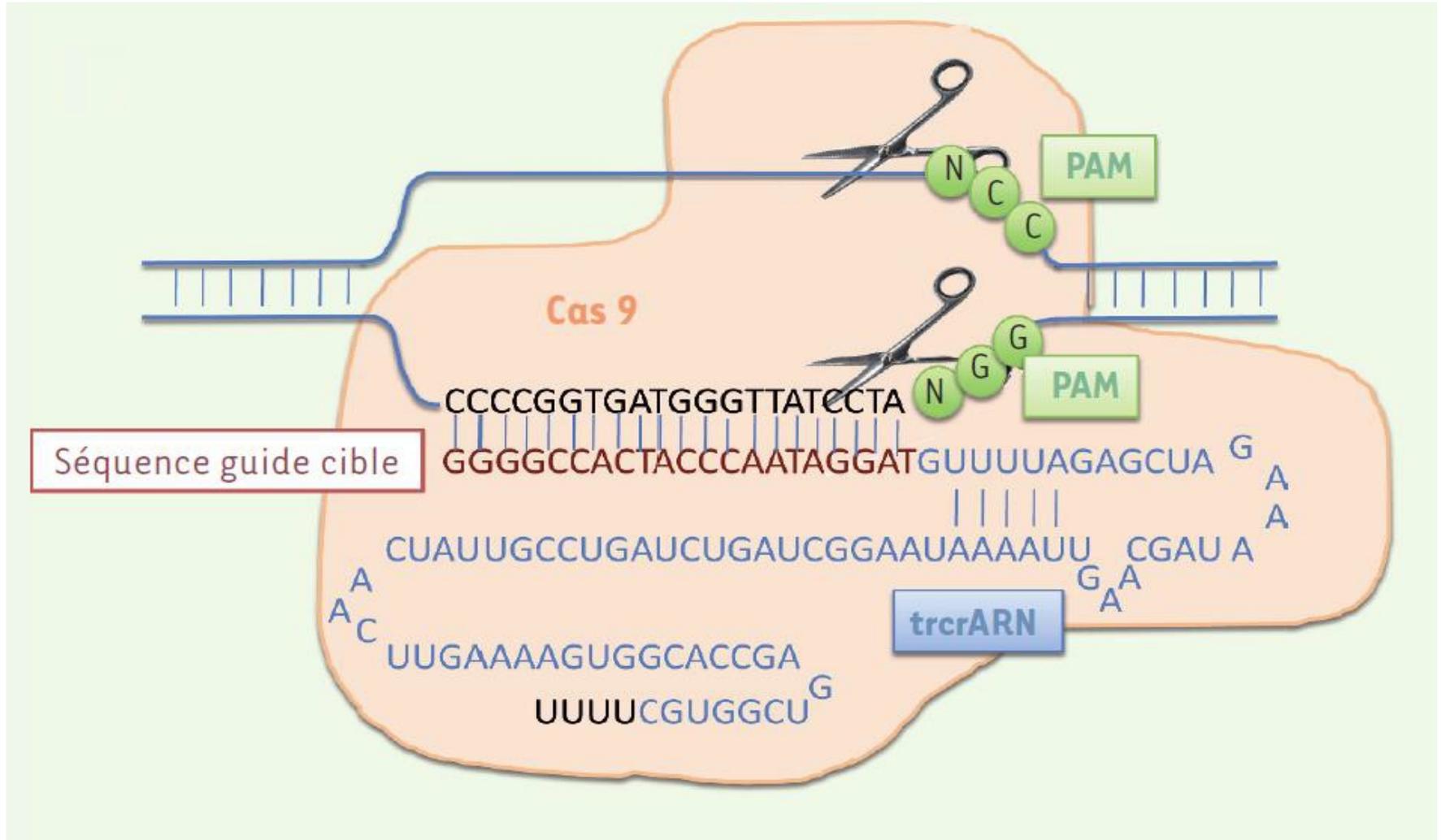


Immunité anti virale (phage) chez la bactérie

Découverte du système CRISPR



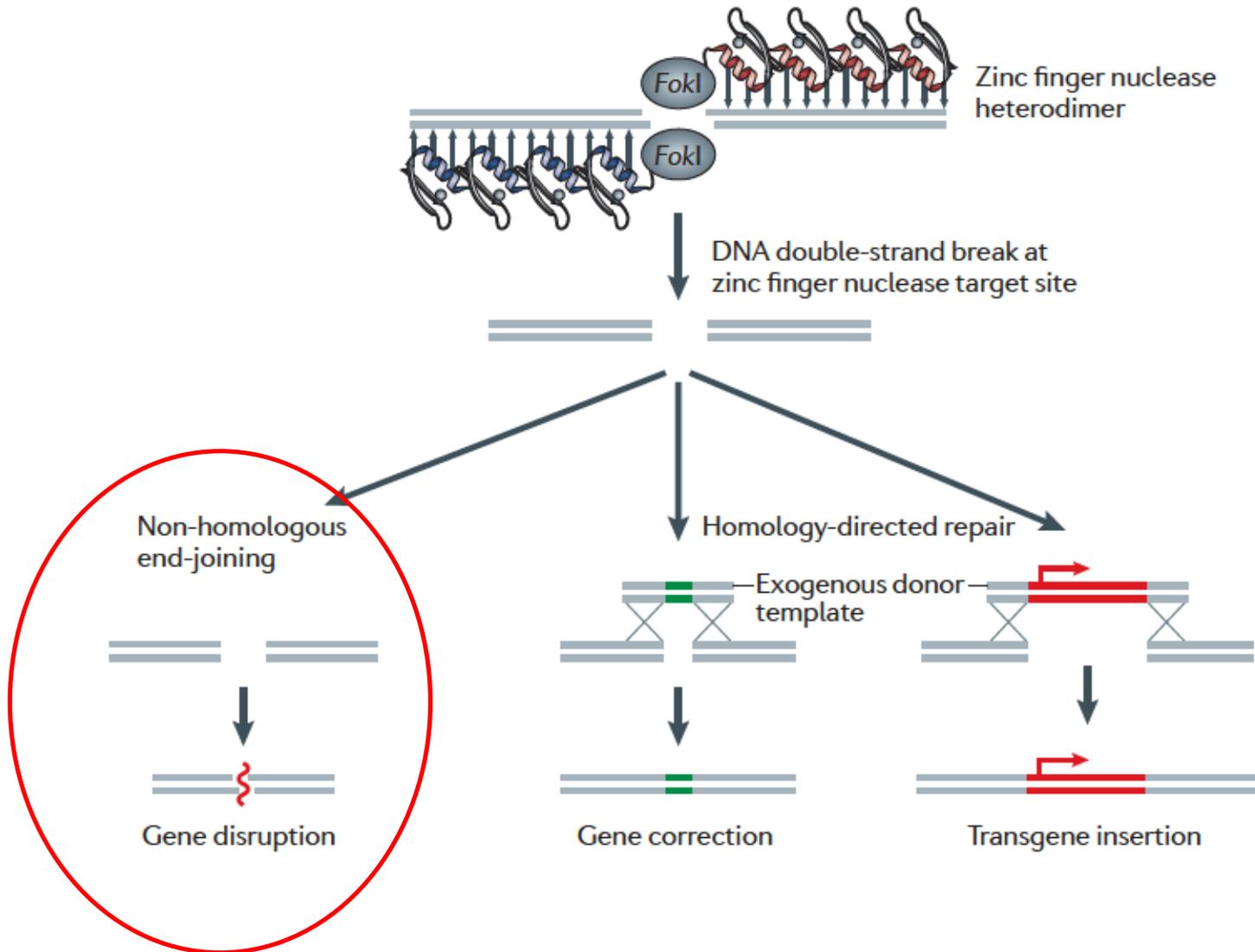
Mode d'action de CRISPR-Cas9



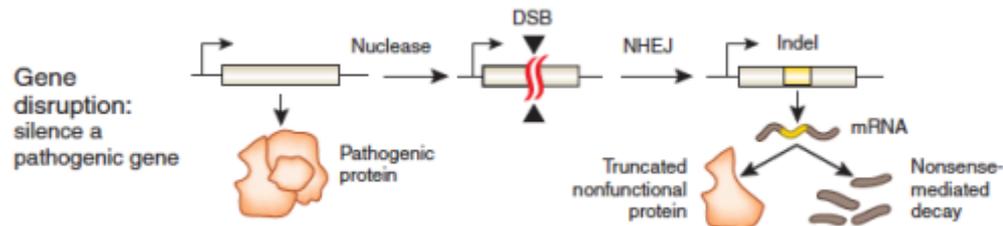
Intérêt de l'ingénierie génomique pour la thérapie génique

- Méthode générique (on ne modifie que l'ARN guide)
- Correction de la mutation : gène dans son environnement physiologique
- Capacité de corriger des maladies à transmission dominante avec effet transdominant négatif ou gain de fonction (par inactivation),
ex: ostéogénèse imparfaite

Ciblage génique et modification par endonucléases



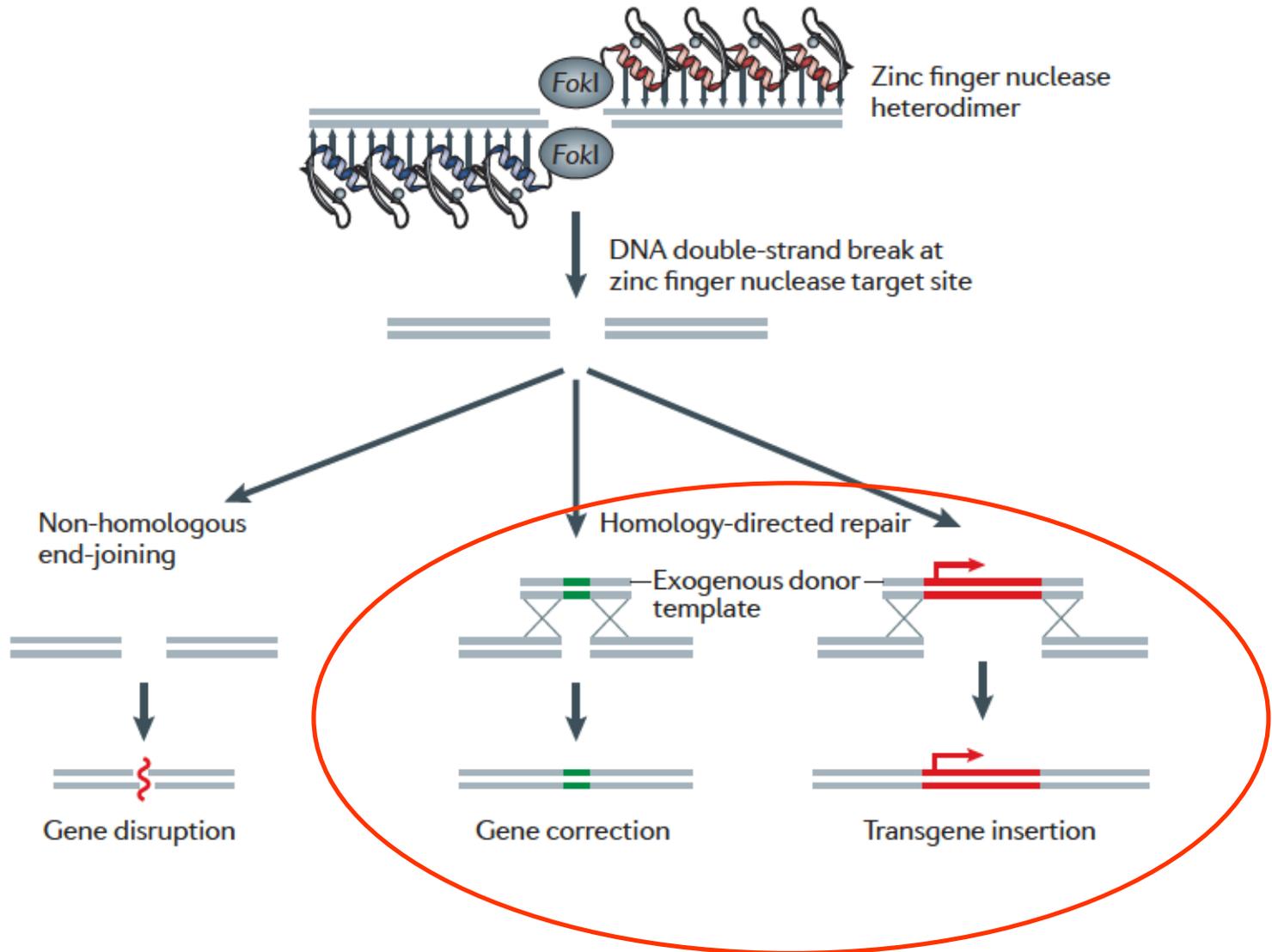
Inactivation génique



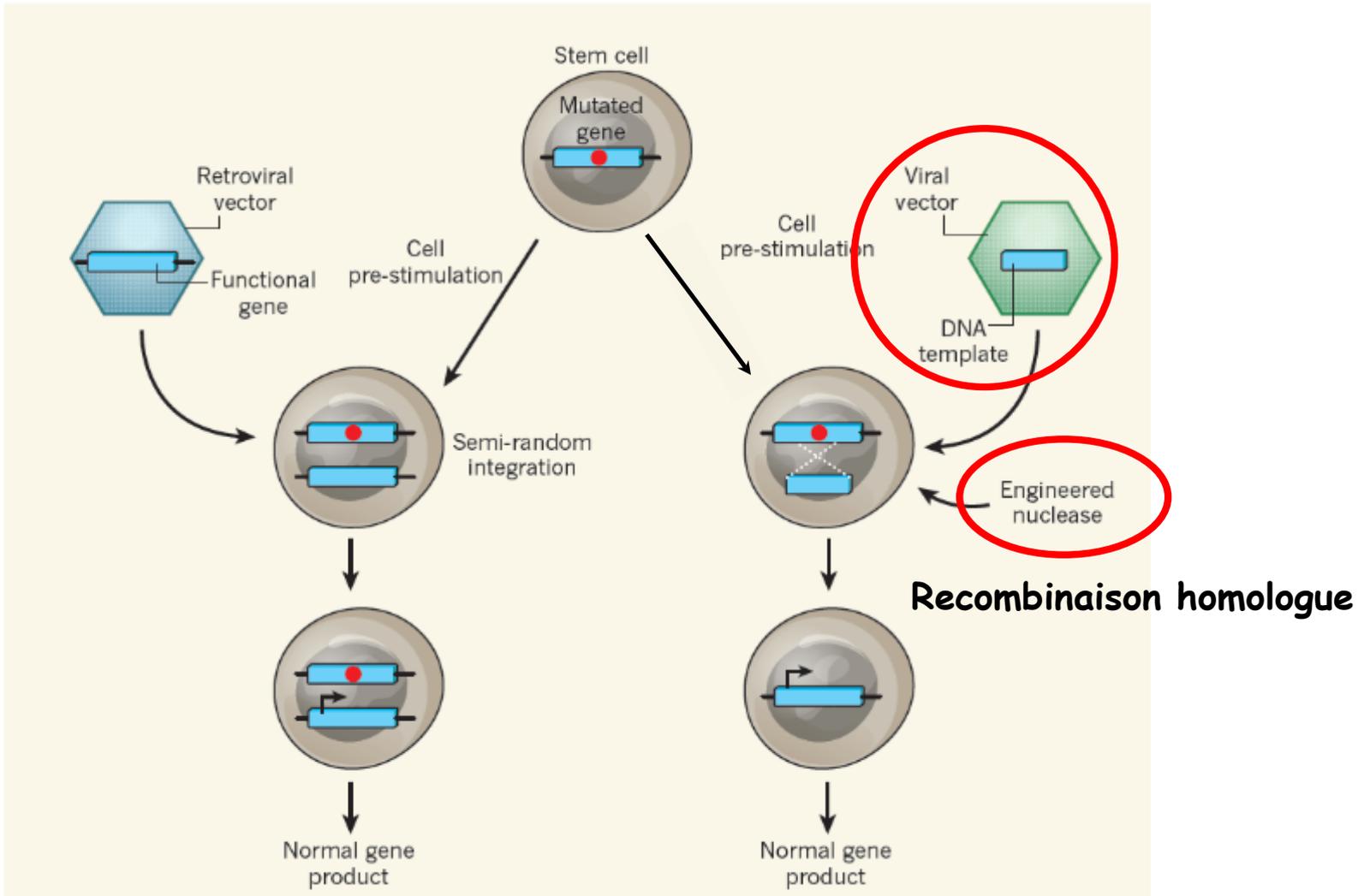
D.B. Turitz-Cox et al,
Nature Medicine 2015

- Inactivation d'un gène (exon) muté
Exemple de la myopathie de Duchenne (souris)
- Inactivation de *CCR5* le gène codant le récepteur du VIH
- Tolérer des cellules étrangères

Ciblage génique et modification par endonucléases

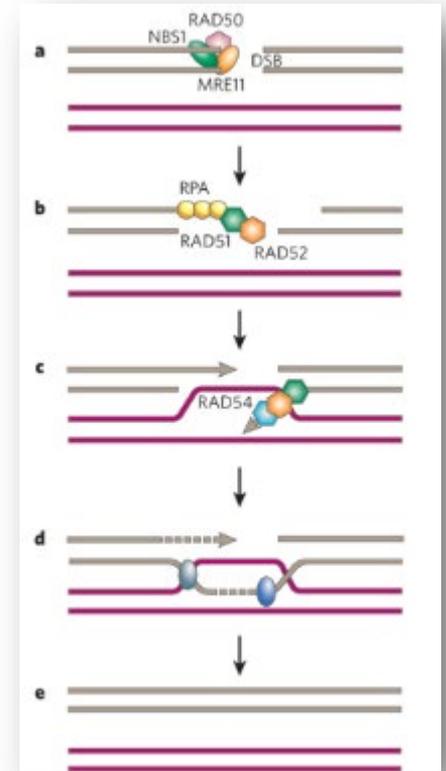
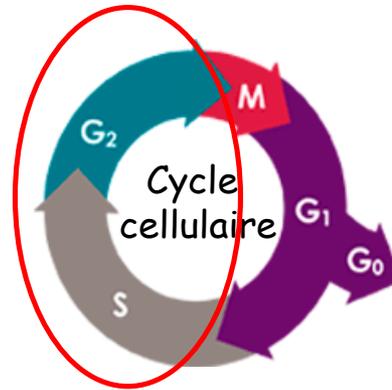
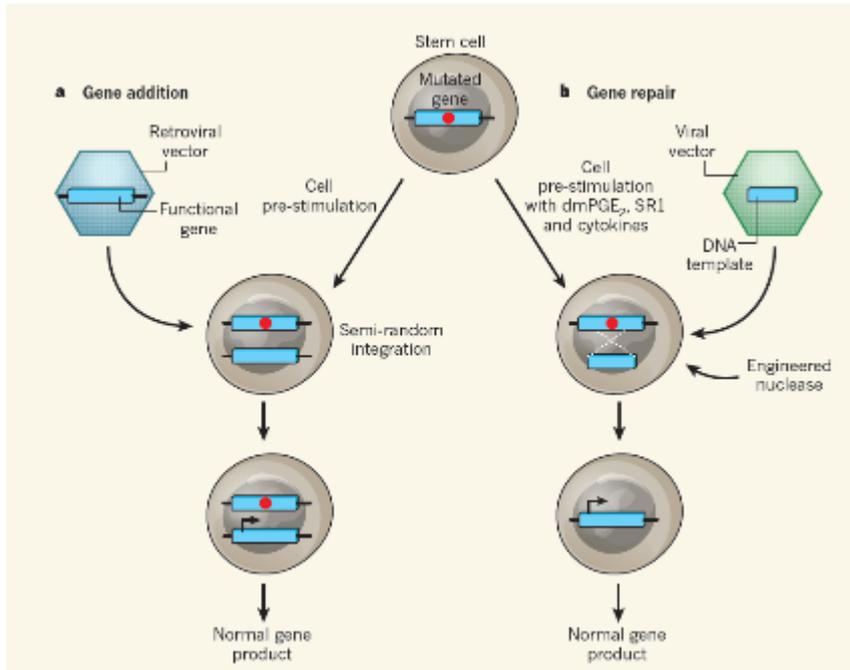


L'avenir: correction génique ??



Régulation non physiologique
du transgène

Limites de la « réparation génique »

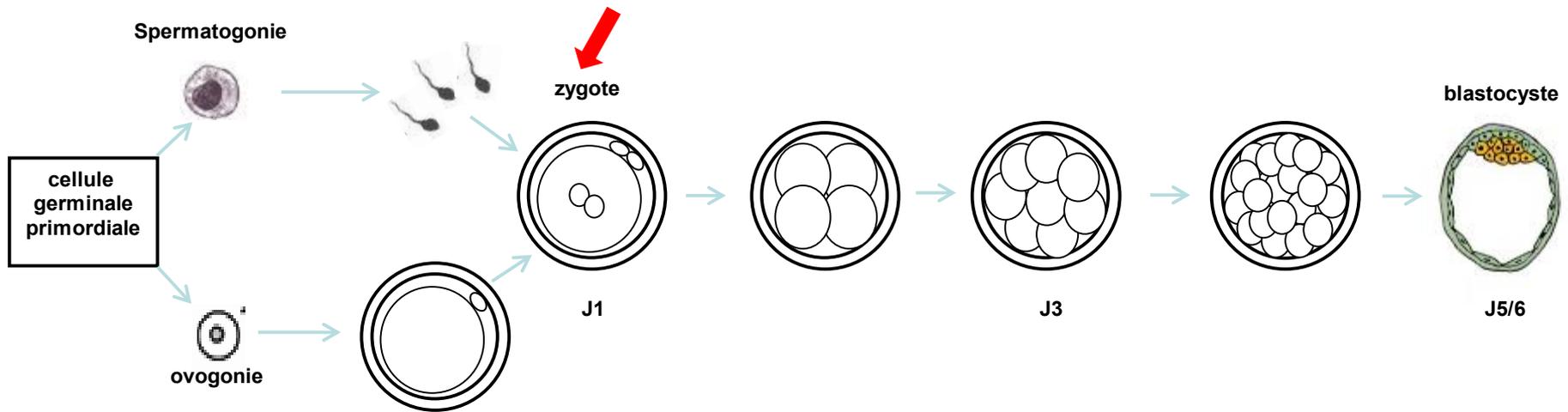


La plupart des cellules souches sont quiescentes

La recombinaison homologue nécessite la mise en cycle

Modifier le génome des cellules germinales ?

Embryogénèse précoce humaine



Pour quoi faire ?

- Corriger une maladie génétique
- Prévenir des risques de maladie
- Améliorer les performances de l'homme

Correction germinale par ingénierie génomique

- Implique une fécondation in vitro et un diagnostic préimplantatoire (élimination des embryons pathologiques...)

→ sans objet !

- Situations exceptionnelles :
 - 2 parents homozygotes pour une maladie récessive
 - 1 parent homozygote pour une maladie dominante

mais la fécondation in vitro avec don d'ovocytes d'un parent est une alternative !

Modification germinale → protection ?

Exemples envisagés :

<i>MSTN</i> (myostatine):	force musculaire
<i>CCR5</i> :	résistance au VIH
<i>PCSK9</i> :	protection contre l'athérome
<i>APP</i> :	diminue le risque d'Alzheimer

... mais,

faisabilité-bénéfice réel ?

risque inhérent du au variant :

CCR5 et infection par le West Nile virus....

Situation actuelle

- **Interdiction**

 - UNESCO (1997)

 - Conseil de l'Europe (Oviedo) 1997

 - Loi de 1994. 'en France)

- **Moratoire (Conférences de Washington et de Hong Kong)**

- **Garde fous mais « expérience » chinoise récente**

National Academies Releases Consensus Report on Human Genome Editing

Enhancement

With respect to the potential use of genome editing techniques for human enhancement, the Academies adopted a definition of enhancement and concluded that editing, whether somatic or germline, should not be used for purposes beyond the treatment or prevention of disease.

National Academies Releases Consensus Report on Human Genome Editing

Heritable Genome Editing

The academies provided scenarios under which it could support heritable genome editing.

Robust requirements of an effective regulatory framework to oversee approval of germline editing:

- **absence or reasonable alternatives**
- **prevention of serious disease or condition**
- convincing evidence demonstrating that genes to be edited cause a strongly predisposition to that disease or condition
- the edits result in ordinary health with little or no evidence of adverse side effects
- availability of credible pre-clinical and/or clinical data on risks and benefits
- **long-term multigenerational follow-up**
- maximum transparency
- continued reassessment
- reliable regulatory oversight mechanisms to prevent misuse

Conclusion

- Saut technologique
- Modèles de maladies (in vitro, in vivo)
- Progrès possibles de la thérapie génique somatique
inactivation > correction génique
- Systèmes perfectibles (rapidement)
- Faisabilité des modifications germinales mais intérêt douteux et éthique très discutabile

Génomique humaine et médecine

- importants progrès des connaissances
- applications diagnostiques aux maladies héréditaires (mutations germinales) et aux cancers (mutations somatiques)
- interaction majeure avec l'environnement
- quelques applications thérapeutiques, des perspectives (médicaments, biothérapies et gènes)

Des questions éthiques:

- qui peut disposer des informations génétiques?
- quelles maladies justifient un dépistage ?
- quelles applications en conseil génétique? (diagnostic préconceptionnel..)
- modifications du génome germinale ???
-

Evolution de l'espérance de vie

