



HAL
open science

Vers une thérapie génique de certaines surdités congénitales ?

Jean-Pierre Hardelin, Saaid Safieddine

► **To cite this version:**

Jean-Pierre Hardelin, Saaid Safieddine. Vers une thérapie génique de certaines surdités congénitales ?. Médecine/Sciences, 2019, 35 (12), pp.1213-1215. 10.1051/medsci/2019233 . hal-04159440

HAL Id: hal-04159440

<https://hal.science/hal-04159440v1>

Submitted on 13 Jul 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License



Vers une thérapie génique de certaines surdités congénitales ?

Jean-Pierre Hardelin^{1,2}, Saaid Safieddine^{1,2}

¹Laboratoire de génétique et physiologie de l'audition, Inserm UMRS 1120, Sorbonne université, UPMC université Paris 6, Paris, France.

²Institut Pasteur, 25 rue du Docteur Roux, 75015 Paris, France. saaid.safieddine@pasteur.fr

> La réhabilitation auditive des enfants atteints de surdité congénitale sévère ou profonde repose actuellement sur la pose chirurgicale d'un implant cochléaire prothétique [11] (→) de préférence avant l'âge de 18 mois, permettant alors une bonne acquisition du langage oral et une scolarité normale [1]. Cette réhabilitation auditive est cependant loin d'être optimale, en particulier à cause des performances insuffisantes de l'implant pour la perception de la parole dans un environnement bruyant, et plus encore, de la musique. Dans plus de la moitié des cas, la surdité a une cause génétique. Il s'agit en fait de plus de cent formes monogéniques, transmises pour la plupart sur le mode autosomique récessif¹ [12] (→). Avec l'identification de la plupart des gènes responsables, et grâce aux progrès dans la compréhension des divers mécanismes physiopathologiques impliqués, la recherche de thérapies alternatives, adaptées à chaque forme génétique de surdité, devient possible [2, 3]. Parmi elles, la thérapie génique, dont l'objectif est de rétablir

(→) Voir le Dossier technique de D. Bouccara et al., *m/s* n° 2, février 2005, page 190

(→) Voir la Synthèse de J.P. Hardelin et al., *m/s* n° 3, mars 2004, page 311

la production de la protéine défectueuse dans les cellules où sa présence est indispensable, fait actuellement l'objet de nombreux travaux de recherche qui utilisent des modèles de souris génétiquement modifiées afin de reproduire la forme correspondante de surdité humaine [13] (→). La stratégie testée jusqu'à présent consistait à injecter dans l'oreille interne des souriceaux mutés, peu après leur naissance, donc à un stade où la cochlée est encore immature², une copie fonctionnelle de la séquence codante du gène défectueux, insérée dans un vecteur viral inoffensif appartenant à la famille des *adeno-associated virus* (AAV) [4]. Quelques résultats encourageants ont déjà été rapportés dans des formes rares de surdité, pour lesquelles cette stratégie a permis, chez les souriceaux traités, de prévenir la survenue de la surdité ou, plus souvent, d'en limiter la sévérité [14] (→).

(→) Voir la Synthèse de A. Meyer et al., *m/s* n° 10, octobre 2013, page 883

(→) Voir la Synthèse de C. Calvet et al., *m/s* n° 10, octobre 2018, page 842

Cependant, pour de nombreuses autres formes de surdité, cette approche se heurte à de réelles difficultés [5] : trouver une variété d'AAV qui infecte efficacement (et, de préférence, assez spécifiquement) les cellules dysfonctionnelles par lesquelles on souhaite faire synthétiser la protéine manquante,

apporter à ces cellules la copie fonctionnelle du gène défectueux à un stade précédant leur éventuelle dégénérescence irréversible, et pouvoir transférer aux cellules la séquence codante entière du gène lorsqu'elle est longue, sachant que la capacité « d'emballage » des vecteurs AAV est limitée à des fragments d'ADN « étranger » de taille inférieure à 5 000 nucléotides (5 kb). Par ailleurs, au moins une question supplémentaire doit être résolue chez l'animal avant d'envisager de tester cette stratégie thérapeutique chez l'homme. Elle découle du fait que la surdité congénitale est actuellement dépistée par un examen systématique des nouveau-nés, donc plusieurs mois après l'apparition physiologique de l'audition durant la vie fœtale³ [6]. Il est donc nécessaire de tester préalablement chez la souris l'efficacité de la thérapie génique après le début de l'audition dans cette espèce, ce qui n'avait encore jamais été réalisé. Une étape importante vient d'être franchie dans le modèle murin de la forme de surdité congénitale par mutation du gène de l'otoferline, une protéine impliquée dans la libération du neurotransmetteur par les cellules sensorielles auditives [7, 8]. Chez ces souris, dont la surdité est profonde, une récupération durable – pendant au moins 20 semaines – des seuils de perception auditive a été obtenue après

¹ Une maladie génétique est dite monogénique lorsque la mutation d'un seul gène suffit à la provoquer. Pour certaines maladies monogéniques, des gènes différents peuvent être impliqués selon les individus atteints. Il s'agit alors de différentes formes génétiques de la maladie, qui est qualifiée de génétiquement hétérogène. Le mode de transmission autosomique récessif signifie qu'un individu doit posséder deux allèles mutés du gène responsable (hérités chacun d'un de ses parents) pour exprimer la maladie.

² Chez la souris, l'audition ne débute qu'à environ 12 jours de vie post-natale.

³ Dans l'espèce humaine, dont le système auditif est fonctionnel à partir d'environ 20 semaines de développement embryonnaire, l'audition débute dès le 5^e mois de vie intra-utérine.

A Cochlée *Otof*^{-/-} après injection à 1 mois

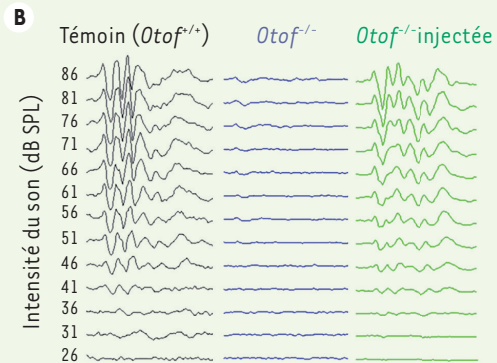
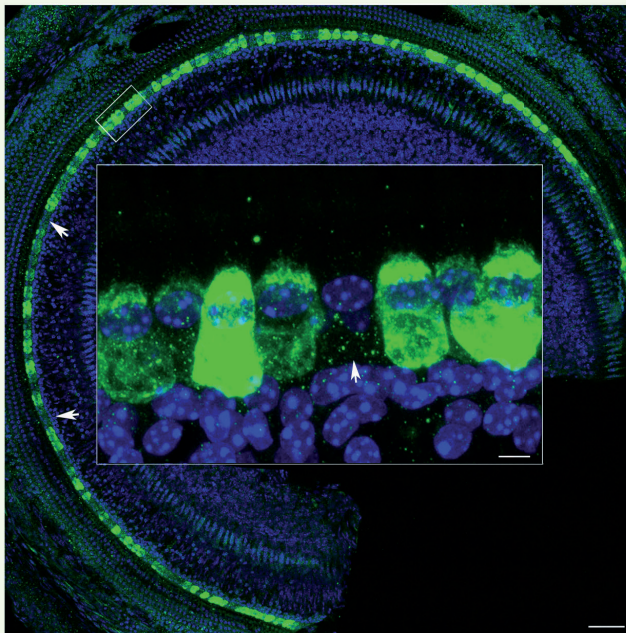


Figure 1. Restauration durable de l'audition chez des souris mutantes *Otof*^{-/-} après injection intracochléaire, à l'âge de 1 mois, de l'ADNc *Otof* sous la forme de deux fragments complémentaires insérés chacun dans un vecteur dérivé du virus AAV2. **A.** Image de la cochlée (microscopie confocale) plusieurs semaines après l'injection thérapeutique. La présence de l'otoferline dans les cellules sensorielles auditiives transduites par les virus recombinants est révélée par un anticorps spécifique de cette protéine. L'immunofluorescence verte de la plupart des cellules sensorielles indique qu'elles produisent la protéine thérapeutique, mais quelques cellules, probablement non-transduites, ne la produisent pas (les flèches indiquent certaines de ces cellules). Barre d'échelle : 50 µm ou 10 µm (vignette agrandie). **B.** Tracés de potentiels évoqués auditifs enregistrés 7 semaines après la date de l'injection thérapeutique, chez trois souris différentes (souris témoin *Otof*^{+/+} en noir, souris mutante *Otof*^{-/-} non-injectée en bleu, et souris mutante *Otof*^{-/-} injectée en vert), pour des sons brefs d'intensité croissante (26 à 86 dB SPL, de bas en haut). On voit la présence des ondes caractéristiques de la transmission nerveuse du signal auditif dès 41 dB SPL chez la souris mutante injectée, comme chez la souris témoin. dB SPL : décibels sound pressure level

une injection intracochléaire unique délivrant les fragments d'ADN thérapeutiques à l'âge de 1 mois (Figure 1) [9]. Cette étude a également permis de résoudre le problème posé par le transfert de fragments d'ADN de grande taille aux cellules de l'oreille interne, en montrant qu'il est possible d'obtenir la synthèse de la protéine thérapeutique entière après l'injection simultanée de deux vecteurs recombinants différents contenant chacun une moitié de la séquence codante du gène d'intérêt, grâce à la reconstitution « spontanée », dans les cellules co-infectées, de la séquence complète par fusion des deux séquences partielles (Figure 2) [10]. Ce résultat très encourageant, obtenu

chez une souris dont le gène impliqué dans une forme assez fréquente de surdité humaine a été inactivé, ouvre la voie à des expériences similaires sur des modèles murins d'autres formes génétiques de surdité présentes dès la naissance, en prévision d'un possible essai clinique chez l'homme.  

Congenital deafness forms: progressing toward gene therapy?

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Kral A, O'Donoghue GM. Profound deafness in childhood. *N Engl J Med* 2010 ; 363 : 1438-50.
2. Duman D, Tekin M. Autosomal recessive nonsyndromic deafness genes: a review. *Front Biosci* 2012 ; 17 : 2213-36.
3. Vivero RJ, Fan K, Angeli S, et al. Cochlear implantation in common forms of genetic deafness. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2010 ; 74 : 1107-12.
4. Mingozzi F, High KA. Therapeutic *in vivo* gene transfer for genetic disease using AAV: progress and challenges. *Nat Rev Genet* 2011 ; 12 : 341-55.
5. Minoda R, Miwa T, Ise M, Takeda H. Potential treatments for genetic hearing loss in humans: current conundrums. *Gene Ther* 2015 ; 22 : 603-9.
6. Hepper PG, Shahidullah BS. Development of fetal hearing. *Arch Dis Child* 1994 ; 71 : F81-7.
7. Yasunaga S, Grati M, Cohen-Salmon M, et al. A mutation in *OTOF*, encoding otoferlin, a FER-1-like protein, causes DFNB9, a nonsyndromic form of deafness. *Nat Genet* 1999 ; 21 : 363-9.
8. Roux I, Safieddine S, Nouvian R, et al. Otoferlin, defective in a human deafness form, is essential for exocytosis at the auditory ribbon synapse. *Cell* 2006 ; 127 : 277-89.
9. Akil O, Dyka F, Calvet C, et al. Dual AAV-mediated gene therapy restores hearing in a DFNB9 mouse model. *Proc Natl Acad Sci USA* 2019 ; 116 : 4496-501.

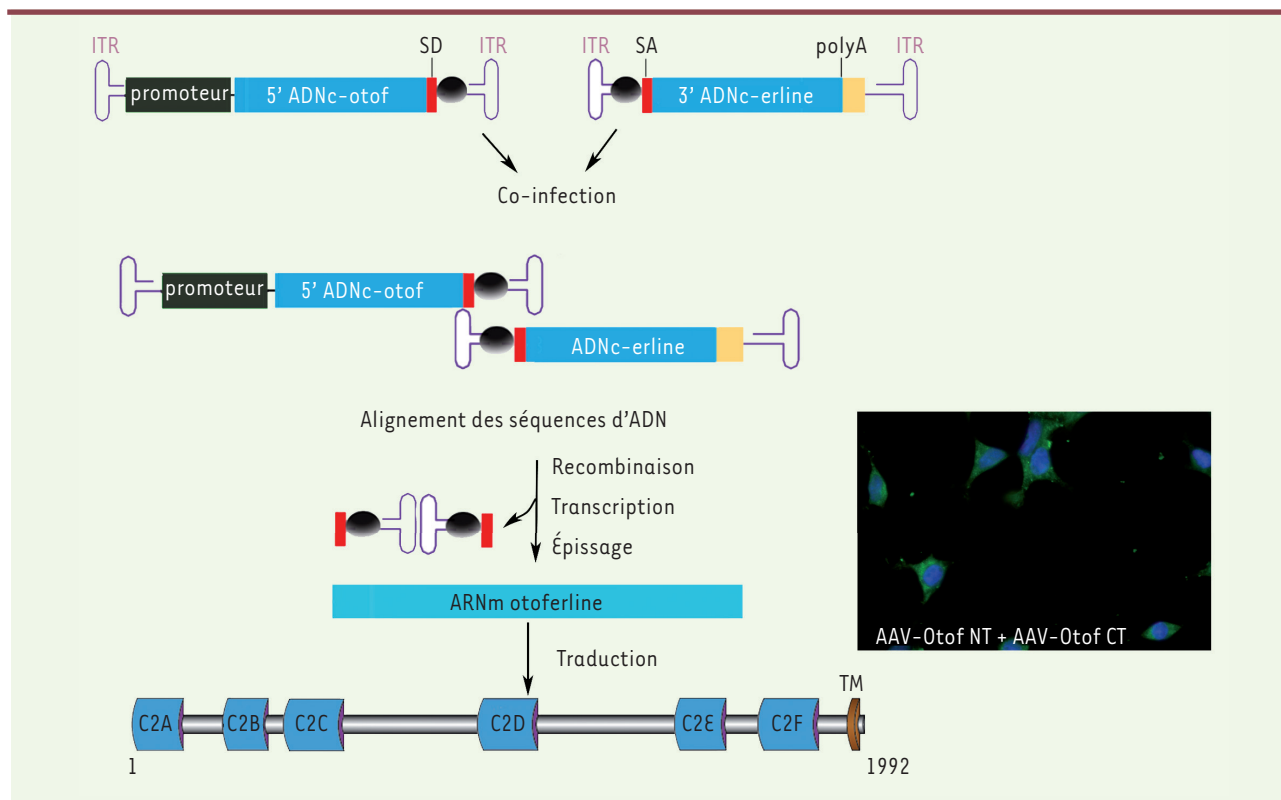



Figure 2. Expression de l'otoferline entière dans des cellules HEK293 en culture après co-infection par une paire de virus AAV recombinants contenant chacun une moitié de la séquence codante. À gauche : représentation schématique des deux vecteurs contenant la partie 5' (5' ADNc-otof) ou la partie 3' (3' ADNc-erline) de l'ADN complémentaire (ADNc), qui codent respectivement la moitié N-terminale ou C-terminale de cette grande protéine de 1992 acides aminés. La succession des événements conduisant à la synthèse de la protéine entière est indiquée : co-infection de la cellule, recombinaison entre les deux vecteurs reconstituant la séquence codant la protéine entière, transcription de cette séquence recombinante en ARNm, épissage de ce transcrit primaire permettant d'éliminer la séquence non-codante intermédiaire ayant servi à la recombinaison, traduction en protéine. À droite : l'otoferline synthétisée par les cellules co-infectées est révélée par une fluorescence verte, grâce à un anticorps spécifique dirigé contre l'extrémité C-terminale de la protéine. Les noyaux des cellules sont révélés par une fluorescence bleue. ITR : *inverted terminal repeat* ; SD et SA : sites d'épissage donneur (SD) et accepteur (SA) ; polyA : site de polyadénylation du transcrit ; C2A-C2F : six domaines C2 de l'otoferline ; TM : domaine transmembranaire.

RÉFÉRENCES

- Ghosh A, Yue Y, Duan D. Efficient transgene reconstitution with hybrid dual AAV vectors carrying the minimized bridging sequences. *Hum Gene Ther* 2011 ; 22 : 77-83.
- Bouccara D, Avan P, Mosnier I. Réhabilitation auditive. *Med Sci (Paris)* 2005 ; 21 : 190-7.
- Hardelin JP, Denoyelle F, Levilliers J, et al. Les surdités héréditaires : génétique moléculaire. *Med Sci (Paris)* 2004 ; 20 : 311-6.
- Meyer A, Petit C, Safieddine S. Thérapie génique des surdités héréditaires : défis et promesses. *Med Sci (Paris)* 2013 ; 29 : 883-9.
- Calvet C, Lahlou G, Safieddine S. Progrès de la thérapie génique : espoirs pour le syndrome d'Usher. *Med Sci (Paris)* 2018 ; 34 : 842-8.



Tarifs d'abonnement m/s - 2019

Abonnez-vous

à médecine/sciences

> Grâce à m/s, vivez en direct les progrès des sciences biologiques et médicales

Bulletin d'abonnement

page 1230 dans ce numéro de m/s

