

UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

ANNEE : 2020

THESES 2020 / TOUT3 / 2099

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement
par

LUCIE PAULIN

UNE APPROCHE PROMETTEUSE POUR LES MALADIES DEMYELINISANTES DU
SYSTEME NERVEUX CENTRAL : CIBLER LE METABOLISME DU CHOLESTEROL PAR
THERAPIE GENIQUE.

Date de soutenance : 16/12/2020

Directeur de thèse : Isabelle LAJOIE-MAZENC

JURY

Président : CUSSAC Daniel
1er assesseur : LAJOIE-MAZENC Isabelle
2ème assesseur : CLAVERIE Jean
3ème assesseur : STIGLIANI Jean-Luc

Remerciements

Je tiens tout d’abord à remercier Madame Isabelle Lajoie pour sa disponibilité ainsi que ses précieux conseils et relectures. Merci d’avoir bien voulu diriger cette thèse malgré les conditions qui n’ont pas été très idéales cette année.

Je remercie aussi les membres de mon jury : Monsieur Daniel Cussac, qui en est le président, mais également Messieurs Jean Claverie et Jean-Luc Stigliani pour avoir accepté d’en faire partie et d’avoir pris de leur temps pour cette thèse.

Merci à mes parents pour leurs conseils et leur soutien. Merci plus particulièrement à ma maman pour ses relectures et remarques qui m’ont aidée lors de la rédaction de cette thèse.

Merci à ma sœur pour ses encouragements ainsi que pour son expertise en matière de mise en forme de Table des Matières sur Word !

Et enfin merci à Eglantine pour son soutien sans faille durant ces longs mois de remise en doute et de rédaction, ainsi que pour ses précieux conseils et son aide lors de la toute dernière relecture de cette thèse.

PERSONNEL ENSEIGNANT
de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques de l'Université Paul Sabatier
au 2 mars 2020

Professeurs Emérites

M. BENOIST H.	Immunologie
M. BERNADOU J.	Chimie Thérapeutique
M. CAMPISTRON G.	Physiologie
M. CHAVANT L.	Mycologie
M. GAIRIN J.E.	Pharmacologie
Mme NEPVEU F.	Chimie analytique
M. ROUGE P.	Biologie Cellulaire
M. SALLES B.	Toxicologie
M. SIE P.	Hématologie

Professeurs des Universités

Hospitalo-Universitaires		Universitaires	
Mme AYYOUB M.	Immunologie	Mme BARRE A.	Biologie
M. CHATELUT E.	Pharmacologie	Mme BERNARDES-GÉNISSON V.	Chimie thérapeutique
Mme DE MAS MANSAT V.	Hématologie	Mme BOUTET E.	Toxicologie - Sémiologie
M. FAVRE G.	Biochimie	Mme COUDERC B.	Biochimie
Mme GANDIA P.	Pharmacologie	M. CUSSAC D. (Vice-Doyen)	Physiologie
M. PARINI A.	Physiologie	M. FABRE N.	Pharmacognosie
M. PASQUIER C. (Doyen)	Bactériologie - Virologie	Mme GIROD-FULLANA S.	Pharmacie Galénique
Mme ROQUES C.	Bactériologie - Virologie	M. GUIARD B.	Pharmacologie
Mme ROUSSIN A.	Pharmacologie	Mme MULLER-STAUTMONT C.	Toxicologie - Sémiologie
Mme SALLERIN B.	Pharmacie Clinique	Mme REYBIER-VUATTOUX K.	Chimie analytique
M. VALENTIN A.	Parasitologie	M. SEGUI B.	Biologie Cellulaire
		Mme SIXOU S.	Biochimie
		M. SOUCHARD J-P.	Chimie analytique
		Mme TABOULET F.	Droit Pharmaceutique
		M. VERHAEGHE P.	Chimie Thérapeutique

Maîtres de Conférences des Universités

Hospitolo-Universitaires		Universitaires	
M. CESTAC P. (*)	Pharmacie Clinique	Mme ARELLANO C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme JUILLARD-CONDAT B.	Droit Pharmaceutique	Mme AUTHIER H.	Parasitologie
M. PUISSET F.	Pharmacie Clinique	M. BERGE M. (*)	Bactériologie - Virologie
Mme ROUZAUD-LABORDE C.	Pharmacie Clinique	Mme BON C.	Biophysique
Mme SERONIE-VIVIEN S. (*)	Biochimie	M. BOUAJILA J. (*)	Chimie analytique
Mme THOMAS F. (*)	Pharmacologie	M. BROUILLET F.	Pharmacie Galénique
		Mme CABOU C.	Physiologie
		Mme CAZALBOU S. (*)	Pharmacie Galénique
		Mme CHAPUY-REGAUD S.	Bactériologie - Virologie
		Mme COLACIOS C.	Immunologie
		Mme COSTE A. (*)	Parasitologie
		M. DELCOURT N.	Biochimie
		Mme DERAEEVE C.	Chimie Thérapeutique
		Mme ECHINARD-DOUIN V.	Physiologie
		Mme EL GARAH F.	Chimie Pharmaceutique
		Mme EL HAGE S.	Chimie Pharmaceutique
		Mme FALLONE F.	Toxicologie
		Mme FERNANDEZ-VIDAL A.	Toxicologie
		Mme HALOVA-LAJOIE B.	Chimie Pharmaceutique
		Mme JOUANJUS E.	Pharmacologie
		Mme LAJOIE-MAZENC I.	Biochimie
		Mme LEFEVRE L.	Physiologie
		Mme LE LAMER A-C.	Pharmacognosie
		M. LEMARIE A.	Biochimie
		M. MARTI G.	Pharmacognosie
		Mme MONFERRAN S.	Biochimie
		M. Olichon A.	Biochimie
		M. Sainte-Marie Y.	Physiologie
		M. Stigliani J-L.	Chimie Pharmaceutique
		M. SUDOR J. (*)	Chimie Analytique
		Mme TERRISSE A-D.	Hématologie
		Mme TOURRETTE-DIALLO A. (*)	Pharmacie Galénique
		Mme VANSTEELANDT M.	Pharmacognosie
		Mme WHITE-KONING M. (*)	Mathématiques

(*) Titulaire de l'habilitation à diriger des recherches (HDR)

Enseignants non titulaires

Assistants Hospitolo-Universitaires	
Mme LARGEAUD L.	Immunologie
M. LE LOUEDEC F.	Pharmacologie
M. MOUMENI A.	Biochimie
M. PAGES A.	Pharmacie Clinique
Mme SALABERT A.S	Biophysique
Assistants Hospitolo-Universitaires	
Mme ROUCH L.	Pharmacie Clinique

PERSONNEL ENSEIGNANT de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques de l'Université Paul Sabatier (version du 1^{er} novembre 2019)

SERMENT DE GALIEN

En présence des Maitres de la Faculté, je fais le serment :

- D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle aux principes qui m'ont été enseignés et d'actualiser mes connaissances
- D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de Déontologie, de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;
- De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers la personne humaine et sa dignité
- En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.
- De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession
- De faire preuve de loyauté et de solidarité envers mes collègues pharmaciens
- De coopérer avec les autres professionnels de santé

Que les Hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères si j'y manque.

Date

Signature de l'étudiant et du Président du jury

Version validée par la conférence des Doyens de facultés de Pharmacie le 7 février 2018

Table des matières

Remerciements	1
PERSONNEL ENSEIGNANT	2
SERMENT DE GALIEN	4
Liste des figures et tableaux.....	9
Figures :	9
Tableaux :	10
Introduction	11
PARTIE 1 : PRESENTATION	13
DU SYSTEME NERVEUX CENTRAL.....	13
I) Composition cellulaire.....	14
1) Les neurones	14
2) Les cellules gliales	15
II) Anatomie.....	16
1) Le cerveau	16
2) La moëlle épinière.....	17
III) La myéline	18
PARTIE 2 : L'ALTERATION DU METABOLISME DU CHOLESTEROL DANS LES PATHOLOGIES DEMYELINISANTES.....	20
I) Les pathologies démyélinisantes	21
1) La Sclérose en plaques	21
2) Les Leucodystrophies	22
3) La Maladie d'Alzheimer	24
4) La maladie de Huntington	26
II) Les traitements conventionnels des pathologies démyélinisantes.....	28
1) Les traitements de la Sclérose en Plaques	28
2) Les traitements des Leucodystrophies.....	30
3) Les traitements de la Maladie d'Alzheimer	31
4) Les traitements de la maladie de Huntington	32
III) Le métabolisme du cholestérol dans le système nerveux central.....	32
1) Les mécanismes de remyélinisation.....	33
2) Le cholestérol dans le SNC.....	37
PARTIE 3 : OUTILS DE THERAPIE GENIQUE	39
I) Les deux voies de la thérapie génique	40

1) In vivo	40
2) Ex vivo.....	42
II) Les vecteurs.....	42
1) Les vecteurs viraux.....	42
2) Les vecteurs non viraux	47
 PARTIE 4 :	 50
LES STRATEGIES DE THERAPIES GENIQUES POUR TRAITER LES MALADIES DEMYELINISANTES DU SNC PAR LE CIBLAGE DU METABOLISME DU CHOLESTEROL.....	50
I) Les thérapies classiques axées sur le métabolisme du cholestérol	51
1) Les régimes diététiques	51
2) L'utilisation des statines	54
II) Les stratégies de thérapie génique développées autour de CYP46A1	56
1) Maladie de Huntington.....	57
2) Maladie d'Alzheimer.....	60
3) Ataxies spinocérébelleuses	61
III) Les stratégies de thérapie génique développées autour de ApoE2	63
IV) Les stratégies de remyélinisation du SNC.....	65
V) Contextualisation de cette stratégie de thérapie génique : l'exemple de la maladie d'Alzheimer.....	67
1) La recherche clinique des thérapies classiques autour de la maladie d'Alzheimer.....	67
2) La recherche clinique des thérapies géniques sur la maladie d'Alzheimer	71
3) Les bénéfices d'une stratégie de thérapie génique ciblant le cholestérol par rapport aux thérapies classiques ou en recherche clinique	72
Conclusion	74

Liste des abréviations

AAVr :	Vecteur Adéno-Associé Recombinant
ADA-SCID :	Déficit immunitaire combiné sévère par déficit en adénosine désaminase
AAVrh10 :	Vecteur viral adéno-associé de sérotype rh10
AAV :	Virus Adéno-associé
ADN :	Acide Désoxyribonucléique
AMM :	Autorisation de Mise sur le Marché
ApoE :	Apolipoprotéine E
ARIA-E :	Anomalies de l'imagerie liées à l'amyloïde avec œdème cérébral
ARN :	Acide ribonucléique
ARNm :	Acide ribonucléique messenger
AS :	Ataxies spinocérébelleuses
AS3 :	Ataxie spinocérébelleuse de type 3
BHE :	Barrière Hémato-Encéphalique
CSF1R :	Colony-Stimulating Factor 1 Receptor
DAPI :	Di Aminido Phenyl Indol
EAE :	Encéphalomyélite Auto-immune Expérimentale
GFP :	Green Fluorescent Protein (Protéine verte fluorescente)
HA :	Hémagglutinine
HAS :	Haute Autorité de Santé
hIL6 :	Interleukine 6 humaine
IMDM :	Milieu modifié de Dulbecco de Iscove
ITR :	Inverted Terminal Repeats
Kb :	Kilobase
LDLR :	Récepteurs des Lipoprotéines de Faible Densité
Lin - :	Cellules négatives de la lignée
LPC :	Lysophosphatidylcholine
LV :	Vecteur Lentiviral
MA :	Maladie d'Alzheimer
MBP :	Protéine Basique de la Myéline
MH :	Maladie de Huntington

mIL3 :	Interleukine 3 murine
MOI :	Multiplicity of Infection
MP :	Maladie de Parkinson
MMPs :	Métalloprotéases De Matrice
OPC :	Précurseurs d'Oligodendrocytes
PBS :	Tampon phosphate salin
PB :	Tampon phosphate
PLP :	Protéine Protéolipidique
SCF :	Skp, Cullin, F-box containing complex
SEP :	Sclérose en plaques
SMR :	Service Médical Rendu
SNC :	Système Nerveux Central
SNP :	Système Nerveux Périphérique
SVF :	Sérum de Veau Foetal
TGM2 :	Tissue Transglutaminase 2
TREM2 :	Triggering Receptor Expressed On Myeloid cells 2
VSV-G :	Protéine G du virus de la stomatite vésiculaire

Liste des figures et tableaux

Figures :

- Figure 1 :** Structure typique d'un neurone. Adapté du National cancer Institute
- Figure 2 :** Vue latérale du cerveau. Basée sur l'édition en ligne du « Gray's Anatomy for Student », 4^{ème} édition.
- Figure 3 :** Structure interne de la moëlle épinière. Adapté de « Neuroscience », 2^{ème} édition (2001)
- Figure 4 :** Structure détaillée de la gaine de myéline. Adaptée de Min et al. (2009)
- Figure 5 :** Variabilité de l'évolution de la sclérose en plaques. D'après www.ameli.fr.
- Figure 6 :** Nombre de cas de leucodystrophies recensés par l'Association Européenne contre les Leucodystrophies au 27/02/2012. D'après ela-asso.com.
- Figure 7A :** Recommandation de prise en charge de la SEP, forme récurrente-rémittente. D'après www.vidal.fr.
- Figure 7B :** Recommandation de prise en charge de la SEP, formes progressives. D'après www.vidal.fr.
- Figure 8 :** Activation and fonctionnement de la microglie/des macrophages. Adapté de Miron et Franklin. (2014)
- Figure 9 :** Les propriétés de remyélinisation de la microglie. Adapté de Lloyd et Miron. (2019)
- Figure 10 :** Synthèse et métabolisme du cholestérol cérébral. Adapté de Zhang and Liu (2015)
- Figure 11 :** Vue générale des stratégies de thérapie génique in vivo et in vitro. Adapté de Tomatsu et al (2018)
- Figure 12 :** Schémas descriptifs d'un AAV (A) et d'un AAVr (B). Adapté de Kantor et al. (2014)
- Figure 13 :** Structure classique d'un vecteur lentiviral. Adapté de Tolmachov et al. (2011)
- Figure 14 :** Schéma de l'assemblage spontané en solution aqueuse de molécules amphiphiles en feuillet, puis bicouches lipidiques, et éventuellement liposomes. D'après Balazs et Godbey. (2011)
- Figure 15 :** Illustration du mécanisme d'action des statines par l'inhibition de l'HMG-CoA réductase. D'après Scheen et Sadzot. (2005)

Figure 16 : Régulation de l'homéostasie du cholestérol par CYP46A1. D'après Boussicault, L. et al. (2016)

Figure 17 : Configuration expérimentale pour l'expression striatale de CYP46A1 et les points de contrôles des tests d'évaluations phénotypiques. D'après Kacher et al. (2019).

Figure 18 : Représentation schématique de la procédure de co-injection striatale de vecteurs lentiviraux encodant la protéine mutante ATXN3 avec soit AAVrh10-CYP46A1, soit le contrôle AAVrh10-GFP. D'après Nóbrega, Clévio et al. (2019)

Figure 19 : Schéma du vecteur AAVrh.10 codant pour l'ApoE2 humaine, étiquetée avec HA. Adapté de Jonathan B. et al. (2018)

Tableaux :

Tableau 1 : Liste des leucodystrophies avec atteinte spécifique de la myéline. Adapté de van der Knaap et al. (2017)

Tableau 2 : Changements des métabolismes du cholestérol plasmatique et cérébral dans la MH. Adapté de Karasinska et Hayden. (2011)

Tableau 3 : Phénotypes caractérisés adoptés par la microglie. Adapté de Du, L. et Al. (2017)

Tableau 4 : Objectifs quotidiens et hebdomadaires du régime DASH pour un total de 2000 calories par jour. D'après www.nhlbi.nih.gov « DASH Eating Plan ». (2020)

Tableau 5 : Aliments recommandés et déconseillés par le régime MIND. D'après medicineh.com « Le régime MIND peut aider à prévenir la maladie d'Alzheimer » (2020).

Tableau 6 : Bilan de la recherche clinique des thérapies classiques autour de la maladie d'Alzheimer

Tableau 7 : Liste des médicaments de thérapies géniques sur le marché en 2020.

Introduction

La myéline est une substance lipidique formant une gaine autour des axones des fibres nerveuses. Elle permet d'accélérer la transmission d'influx nerveux dans les systèmes nerveux central (SNC) et périphérique (SNP) et permet d'assurer des fonctions cognitives, comportementales et émotionnelles normales ^{1,2}. La perte de cette gaine, ou démyélinisation, peut être secondaire à un trouble infectieux, ischémique, métabolique, ou à une toxine. Une démyélinisation primitive due à une mutation génétique héréditaire peut aussi se produire, impliquant alors des processus auto-immuns ³. De plus, ces dernières années, diverses études ont également mis en évidence que des processus de démyélinisation avaient lieu dans des maladies neurodégénératives très répandues telles que la maladie de Parkinson (MP) ⁴ ou la maladie d'Alzheimer (MA) ⁵.

Les symptômes produits par la destruction de la myéline peuvent être très divers selon les nerfs touchés, allant d'une faiblesse musculaire, à une paresthésie, une perte sensorielle focale, un neurite optique, une diplopie, des anomalies motrices autonomes de la vessie ou des troubles des fonctions intestinales et sexuelles, ainsi que des spasmes musculaires douloureux et des névralgies trigéminales. Des symptômes moins spécifiques comme des maux de têtes, des vertiges, une fatigue, une dépression, des crises d'épilepsie, des troubles psychiatriques ou des difficultés cognitives plus subtiles peuvent également apparaître ⁶.

Une remyélinisation peut toutefois survenir après démyélinisation, avec une régénération partielle ou totale et une récupération de la fonction neurale. Cependant, si la destruction est trop importante, elle peut alors être irréversible ³.

Les maladies démyélinisantes au sens large touchent donc un pourcentage très important de la population mondiale. Concernant les troubles neurodégénératifs, la MA affecte 24 millions de personnes dans le monde ⁷ et la MP a une prévalence mondiale comprise entre 100 et 300 pour 100 000 personnes ⁸. De plus, avec le vieillissement de la population mondiale (703 millions de plus de 65 ans en 2019, le double prévue pour 2050 ⁹), ces chiffres vont devenir de plus en plus préoccupants, car la prévalence de ces maladies est plus importante chez les personnes âgées. La maladie démyélinisante la plus répandue, à savoir la sclérose en plaques, touche, elle, actuellement près de 2,3 millions de personnes dans le monde ¹⁰.

Malheureusement, de nos jours, aucun traitement curatif contre les troubles démyélinisants du système nerveux central n'est disponible. Cependant, la thérapie génique et la thérapie cellulaire ouvrent de nouvelles opportunités d'exploitation de mécanismes métaboliques et immunitaires originaux et se montrent plus à même de pouvoir surmonter la difficulté de ciblage du SNC, offrant une opportunité de traiter ces maladies qui vont devenir une préoccupation majeure de santé publique ces prochaines années. C'est pourquoi, dans cette thèse, va être exposée une approche prometteuse de traitement des maladies démyélinisantes du SNC.

Tout d'abord, dans un premier temps, le SNC sera présenté dans sa globalité puis, dans un deuxième temps, les pathologies démyélinisantes majeures ainsi que les mécanismes d'altération du métabolisme du cholestérol dans ces-dernières seront exposés. Les outils de thérapies géniques seront décrits dans un troisième temps. Dans un dernier temps, les stratégies existantes développées pour le traitement des maladies démyélinisantes du SNC par le ciblage du métabolisme du cholestérol, à l'aide de la thérapie génique, seront définies.

PARTIE 1 : PRESENTATION
DU SYSTEME NERVEUX CENTRAL

I) Composition cellulaire

1) Les neurones

Les neurones répondent aux stimuli en transportant des impulsions nerveuses. Aussi appelées « potentiels d'action », ce sont des charges électriques qui permettent la transmission d'informations à travers le corps ¹¹.

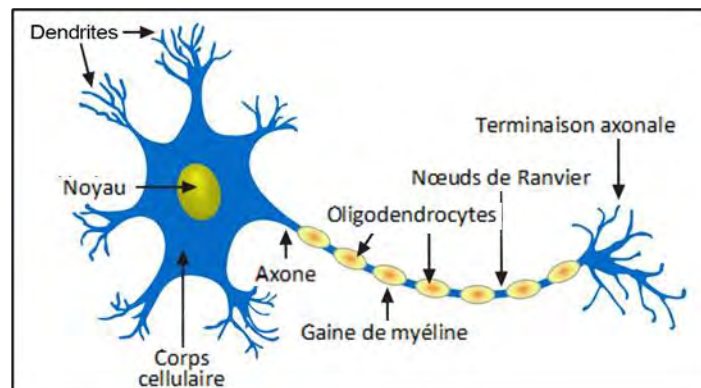


Figure 1 : Structure typique d'un neurone. Adaptée du National cancer Institute

Diverses extensions cytoplasmiques sortent du corps cellulaire du neurone (**Figure 1**). Le premier type d'extensions est appelé **dendrites**. Courts et pouvant être plus ou moins nombreux, ils permettent de transporter les impulsions nerveuses vers le corps du neurone ¹². Le second type de prolongements est appelé **axones**. Uniques pour chaque neurone et longs, ces-derniers permettent de transporter l'information du corps cellulaire vers la terminaison axonale, ou synapse. Cette dernière est une zone de contact avec un autre neurone, ou une autre cellule, et assure la transmission de l'impulsion nerveuse. Les axones peuvent être myélinisés ou non par les oligodendrocytes, au sein du SNC, et par les cellules de Schwann dans le SNP ¹³ (confer chapitre III).

Il existe différents types de classements pour les neurones, mais si nous nous 'attardons sur leurs différentes fonctions, nous pouvons alors les classer en trois grandes catégories :

- **Les neurones sensoriels**, qui sont chargés d'envoyer des informations sensorielles (comme par exemple une sensation de chaleur) vers le SNC.
- **Les motoneurones**, qui, s'ils sont de type somatique, permettent d'envoyer des informations motrices du SNC vers les muscles squelettiques et s'ils sont de type

viscéral, les informations sont alors dirigées vers les muscles lisses ou les ganglions du SNC.

- **Les interneurones**, qui se connectent avec d'autres neurones et permettent la formation d'arcs réflexes.

2) Les cellules gliales

Ce sont les cellules de support du SNC. Il en existe trois types différents :

- **Les astrocytes**. Ces cellules sont nommées ainsi car elles ont une forme d'étoile, celle-ci est due à la présence de ramifications cytoplasmiques pouvant être très nombreuses et s'étendant dans toutes les directions ¹⁴. Grâce à leur large surface, ils contrôlent leur environnement en modulant les transmissions synaptiques et en régulant les concentrations extracellulaires en ions et aident à maintenir la BHE en encerclant les cellules endothéliales. Ils stockent également du glycogène et alimentent les neurones avec des nutriments (glucose et lactate) ¹¹. Ils synthétisent également le cholestérol dans le SNC à partir de desmostérol.
- **Les oligodendrocytes**. Ils se différencient à partir des précurseurs d'oligodendrocytes (OPC). Dans le système nerveux central, ils alimentent les neurones et peuvent myéliniser leurs axones en s'enroulant autour d'eux, formant ainsi la gaine de myéline qui permet une neurotransmission beaucoup plus rapide ¹⁵.
- **La microglie**. Ce sont des cellules de la lignée hématopoïétique issues du sac vitellin qui, durant l'embryogenèse, ont envahi le SNC. Elles représentent de 5 à 12% des cellules du SNC et participent à sa défense immunitaire. Dans leur état non activé, les cellules de la microglie, alors de forme très ramifiée, ont un rôle de sentinelles, évaluant leur environnement ¹⁶. Si elles détectent une lésion ou une infection, elles peuvent s'activer, perdant leurs extensions cytoplasmique pour une forme plus ovale, et posséder des fonctions de phagocytose et de sécrétion ¹⁷.

La microglie activée peut aggraver les dommages faits au SNC ou, au contraire, participer à la protection de ce dernier. Cette dualité d'effets varie en fonction du phénotype adopté par les cellules de la microglie, qui varie entre deux extrêmes. Le

phénotype M1, encore nommé « classiquement activé », est pro-inflammatoire, tandis que le phénotype M2 ou « alternativement activé » est anti-inflammatoire et impliqué dans la réparation tissulaire ¹⁸.

II) Anatomie

Le système nerveux central se forme au début de la troisième semaine du développement embryonnaire, lors de la neurulation. Cette étape consiste en l'apparition et l'épaississement de la plaque neurale à partir de l'ectoderme, un des trois feuillets embryonnaires, et de sa fermeture pour former le tube neural. Celui-ci se différencie par la suite en ses 2 composants majeurs : le cerveau et la moëlle épinière. Ces derniers sont protégés par des structures osseuses : le crâne et les vertèbres ¹⁹. Il est isolé du sang périphérique par la barrière hémato-encéphalique (BHE) formée par les parois des capillaires séparant le SNC du reste du corps. Sa fonction est d'envoyer et de recevoir des informations sensorielles et d'y répondre, ainsi que de coordonner l'activité du corps si besoin.

1) Le cerveau

Le cerveau contient, approximativement, un trillion de cellules, et pèse, en moyenne, 1400 grammes. Bien que ne constituant que 2% du poids total du corps, il est très richement vascularisé et reçoit environ 20% du débit cardiaque. Il est constitué de deux catégories de tissus différenciables à l'œil nu :

- La substance blanche, située à l'intérieur, qui est principalement constituée des axones myélinisés des neurones. L'adjectif "blanc" fait référence à son contenu riche en myéline, elle-même principalement composée de lipides. De même, elle apparaît plus claire sur une coupe histologique de cerveau.
- La substance grise, localisée à la surface du cerveau, qui est constituée des corps des neurones, des cellules gliales, des dendrites, des axones et des capillaires ¹⁹. Elle apparaît plus foncée que le reste du tissu nerveux sur une coupe histologique car ne possédant pas de myéline.

Le cerveau est organisé en différentes régions, appelées lobes, chacun ayant une fonction propre. On dénombre ainsi quatre lobes externes : les lobes frontal, pariétal, temporal et occipital, ainsi que 2 lobes internes : le lobe limbique et l'insula (**Figure 2**) ²⁰.

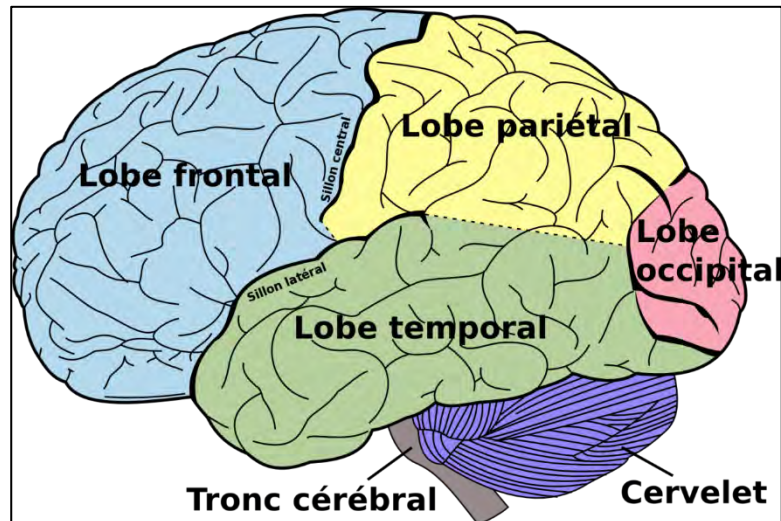


Figure 2 : Vue latérale du cerveau. Basée sur la 4^{ème} édition en ligne du « Gray's Anatomy for Student » (2020) ¹².

Le cerveau est enveloppé par les méninges, constituées de 3 membranes, nommées de la plus interne à la plus externe : la pie-mère, l'arachnoïde, et la dure-mère. Le liquide cébrospinal qui circule au sein de ces méninges permet d'amortir les chocs lors de mouvements de la tête. Les méninges participent donc à la protection du cerveau ¹⁹.

2) La moëlle épinière

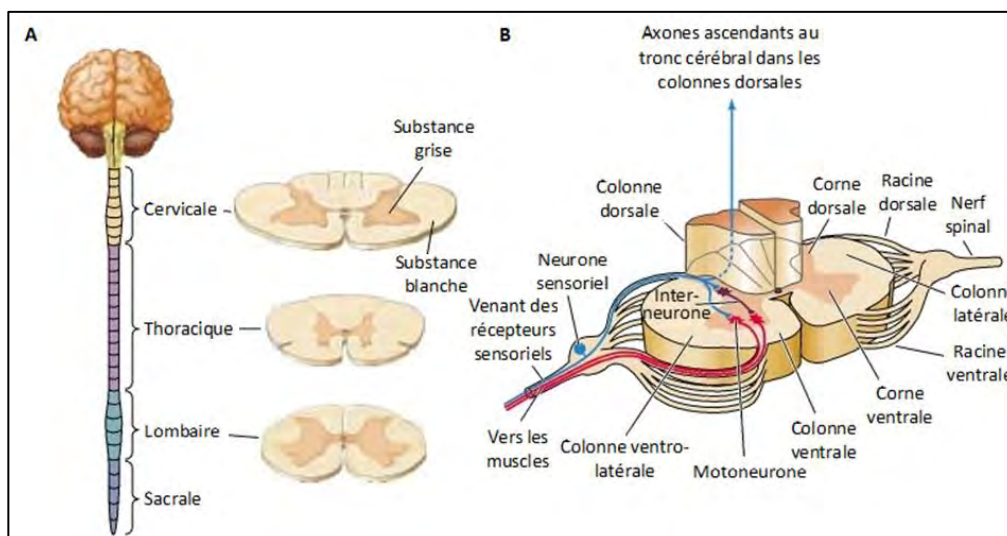


Figure 3 : Structure interne de la moëlle épinière. Adapté de « Neuroscience », 2^{ème} édition (2001) ²¹.

Chez les humains, la moëlle épinière mesure de 40 à 45 centimètre de longueur, et s'étend du cerveau jusqu'à la fin du canal vertébral. Elle est divisée en 4 grandes parties : cervicale, thoracique, lombaire et sacrée (**Figure 3, image A**). 31 paires de nerfs spinaux partent de la moëlle épinière et assurent la communication entre le SNC et le reste du corps ¹¹. A l'inverse du cerveau, l'intérieur est constitué de substance grise et l'extérieur de substance blanche.

La substance grise est divisée en cornes ventrales, dorsales et latérales (**Figure 3, image B**), chacune possédant des fonctions sensorielles ou motrices. Ainsi, les axones et neurones dorsaux traitent et relaient jusqu'au cerveau des informations sensorielles grâce à des neurones ascendants, les ventraux se chargent des informations somatiques, et les cornes latérales contiennent des motoneurones viscéraux préganglionnaires appartenant au système nerveux autonome, pour l'innervation motrice des muscles lisses, du cœur, et des glandes ²¹.

La substance blanche, elle, est divisée en colonnes, chacune contenant un tractus axonal associé à des fonctions spécifiques. Son but principal est le transport et la transmission d'informations.

III) La myéline

Dans le SNC, la gaine de myéline constitue un isolant. Elle est formée par l'enroulement de la membrane d'oligodendrocyte autour de l'axone d'un neurone, formant alors des unités de myéline, séparées chacune par les nœuds de Ranvier amyéliniques (**Figure 4**). Dans les fibres nerveuses myélinisées, les nœuds de Ranvier accélèrent la transmission de l'influx nerveux.

Plus la fibre nerveuse est épaisse (diamètre de l'axone et de la myéline), plus le signal peut être transmis rapidement. De ce fait, l'intégrité de la myéline est cruciale pour une bonne conduction des informations de neurone en neurone à travers tout le SNC et le corps en général.

Ces informations sont transportées sous la forme de potentiels d'action, qui sont formés par l'inversion de la polarisation électrique (ou dépolarisation) de la membrane d'un neurone. La myéline a une composition protéique et lipidique unique, le cholestérol étant le principal lipide la constituant ¹¹.

De nombreuses protéines différentes se retrouvent dans la myéline. Peuvent être par exemple citées la myéline-oligodendrocyte glycoprotéine, la 2':3'-Cyclique nucléotide-3'-phosphodiesterase, la tubuline, la DM20...²²

Les 2 protéines les plus abondantes sont, cependant, la **Protéine Basique de la Myéline (MBP)** et la **Protéine Protéolipidique (PLP)** :

- MBP compose 20 à 30% du poids total des protéines de la myéline et agit comme un adhésif intermembranaire entre deux faces cytoplasmiques de la gaine ²³.
- PLP est la protéine myélinique la plus abondante (le contenu total en protéines de la myéline étant constitué d'environ 50% de PLP). Elle possède quatre domaines transmembranaires et se lie à une autre PLP entre deux faces extracellulaires de la gaine de myéline. Elle assure alors un enroulement très serré des couches de myéline autour de l'axone (**Figure 4**).

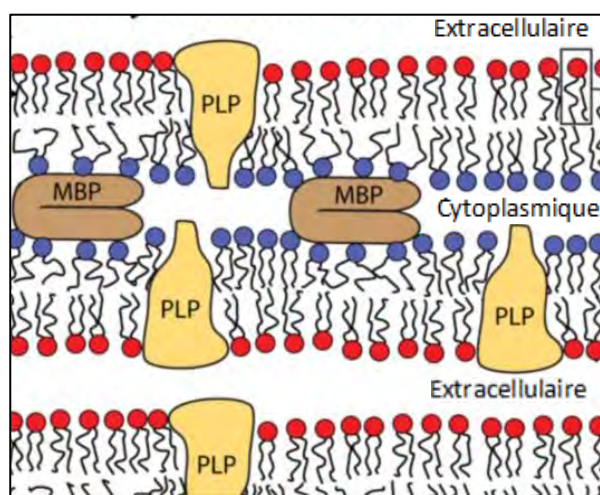


Figure 4 : Structure détaillée de la gaine de myéline. Adaptée de Min et al. (2009) ¹¹

La myéline est donc un composant crucial pour le fonctionnement du SNC. Les pathologies touchant cette dernière sont donc des maladies très sérieuses, ayant des répercussions très importantes sur les conditions de vie des patients touchés, et pouvant même, dans certaines conditions, se révéler être mortelles.

PARTIE 2 : L'ALTERATION DU METABOLISME DU CHOLESTEROL DANS LES PATHOLOGIES DEMYELINISANTES

I) Les pathologies démyélinisantes

Les maladies démyélinisantes sont caractérisées par une perte ou une dégénération de myéline, avec, dans un premier temps, une préservation partielle de l'axone. Elles sont causées par une atteinte de la gaine de myéline ou par une destruction des cellules qui la forment. Sont décrites ci-après certaines des pathologies démyélinisantes les plus communes.

1) La Sclérose en plaques

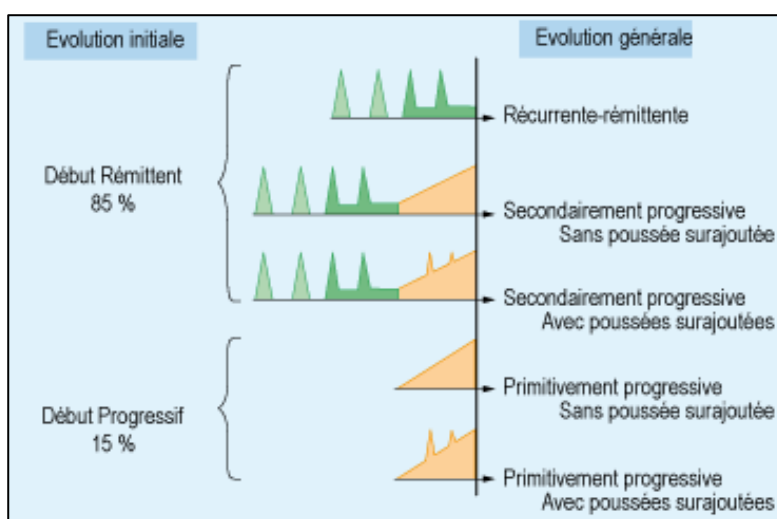


Figure 5 : Variabilité de l'évolution de la sclérose en plaques.
D'après www.ameli.fr.²⁶

La sclérose en plaques (SEP) est la maladie démyélinisante la plus commune¹¹. Elle affecte 2,3 millions de personnes dans le monde. C'est une maladie auto-immune inflammatoire, avec un panel très important de présentations cliniques et d'évolutions²⁴. Les causes de la SEP sont variées et connues comme étant une combinaison de facteurs génétiques et non-génétiques (environnement, métabolisme, infections virales)²⁵.

La présentation la plus courante est la forme récurrente-rémittente, elle affecte 85% des patients et se caractérise par des périodes d'exacerbations de symptômes, suivies par des périodes de rémission où les manifestations cliniques diminuent ou disparaissent. La maladie peut également être secondairement progressive, avec une aggravation graduelle des symptômes, s'accompagnant, ou pas, de périodes d'exacerbations de symptômes. La présentation la moins courante, affectant 15% des patients, est progressive d'emblée, avec

une aggravation des symptômes s'accompagnant ou non de poussées d'exacerbations de symptômes ²⁴ (**Figure 5**).

Au cours de cette maladie, des lymphocytes spécifiques de la myéline sont activés et provoquent des liaisons démyélinisantes en détruisant la gaine de myéline ²⁶. D'abord localisés à l'extérieur de la BHE, ils traversent cette dernière en direction du SNC, aidés par l'interaction de leurs intégrines de surface avec les molécules d'adhésion cellulaires des cellules endothéliales ²⁷. Les plaques de démyélinisation de la substance blanche ainsi créées sont caractéristiques de la SEP. Ces plaques, déjà infiltrées par des lymphocytes, sont également infiltrées par des macrophages, et sont un site d'activation de la microglie ²⁷. Elles peuvent être détectées par IRM et sont la source des déficits neurologiques retrouvés chez les patients atteints de SEP ²⁷.

2) Les Leucodystrophies

Les leucodystrophies désignent un groupe hétérogène de maladies génétiques orphelines affectant initialement et sélectivement la substance blanche dans le SNC. Ces maladies peuvent affecter des personnes de tout âge, et avoir des pronostics très variables. Diverses mutations génétiques les provoquant sont connues, chacune définissant une leucodystrophie spécifique. Malgré cette diversité, les leucodystrophies peuvent être regroupés en différentes catégories selon leur pathogenèse ²⁸.

En 2012, selon l'Association Européenne contre les Leucodystrophies, on dénombrait en France 754 personnes affectées par ces pathologies, dont 195 par la plus commune, l'adrénoleucodystrophie. Toujours cette même année, le nombre de cas total de leucodystrophies dans le monde était estimé par cette même association à 1023 (**Tableau 1**).

	France	Belgique	Espagne	Lux	Suisse	Reste du Monde	TOTAL
Adrénoleucodystrophie (ALD)	195	13	61		2	7	278
Adrénomyélonéuropathie (AMN)	107	2	19			2	128
Leucodystrophie métachromatique (MLD)	124	11	21		2	6	164
Maladie de Pelizaeus-Merzbacher (PMD)	60	3	21	1	3	2	90
Leucodystrophies d'origine indéterminée (LDI)	164	8	20	1	3	10	206
Syndrome CACH	15		7			2	24
Maladie d'Alexander	16	2	4	1	2	2	27
Maladie de Krabbe	24	2	5			3	34
Maladie de Canavan	8	1	4			2	15
Syndrome de Zellweger	2		3			1	6
Maladie de Refsum	8						8
Défaut ou retard de Myéline	18	2	8				28
Syndrome Aicardi-Goutières	13		2				15
TOTAL	754	44	175	3	12	35	1023

Tableau 1 : Nombre de cas de leucodystrophies recensés par l'Association Européenne contre les Leucodystrophies au 27/02/2012. D'après ela-asso.com.²⁹

Ce nombre souffre d'une sous-estimation car le diagnostic final est difficile à poser (dans quasiment la moitié des patients leucodystrophiques, le diagnostic final ne peut être déterminé). De plus, il y a encore de nos jours peu d'études importantes en Afrique, au Moyen-Orient, ou en Asie évaluant la prévalence et l'incidence de ces maladies.²⁹

Une démyélinisation à proprement parler, c'est-à-dire une atteinte primaire et spécifique de la myéline et des oligodendrocytes, n'est pas présente chez toutes les leucodystrophies. En effet, la substance blanche peut être atteinte suite à différents types de mécanismes, comme une anomalie neuronale ou axonale, un défaut de la microglie, une pathologie vasculaire, ou enfin une dysfonction astrocytaire³⁰.

Les leucodystrophies avec atteinte spécifique de la myéline sont listées en **figure 6**. Les deux plus courantes sont la leucodystrophie métachromatique et la forme cérébrale de l'adrénoleucodystrophie liée à l'X. Ces deux maladies sont causées par une démyélinisation induite pour la première le plus souvent par une mutation dans le gène d'une enzyme lysosomale métabolisant les sulfatides, l'Arylsulfatase A, et, pour la seconde, par une ou plusieurs mutations dans le gène ABCD1 localisé dans la membrane peroxysomale.

Hypomyélinisation
Maladie de Pelizaeus-Merzbacher Neuropathie périphérique, hypomyélinisation centrale, Waardenburg-Hirschsprung Maladie de type Pelizaeus-Merzbacher causée par des mutations de la protéine Cx47 Hypomyélinisation des structures myélinisées de façon précoce
Démyélinisation
Leucodystrophie métachromatique Déficience multiple en sulfatase Maladie de Krabbe Forme cérébrale de l'adrénoleucodystrophie liée à l'X

Figure 6 : Liste des leucodystrophies avec atteinte spécifique de la myéline. Adapté de van der Knaap et al. (2017)

Les lysosomes sont des organelles cellulaires chargés de la digestion de divers métabolites, dont des lipides. Les peroxysomes sont aussi des organelles, mais ces derniers sont spécialisés dans la dégradation d'acides gras à chaîne très longue, dans la détoxification de peroxyde d'hydrogène, et dans la synthèse de certains lipides tel que le cholestérol ³¹. Les mutations au sein de ces structures cellulaires provoquent une accumulation de substrats non dégradés, un événement qui cause une neuroinflammation ainsi qu'un stress cellulaire qui sont les principaux responsables de la neurodégénération et/ou de la démyélinisation du SNC ³². On observe alors un déclin rapide des fonctions intellectuelles et motrices, qui peut mener jusqu'à la mort pour les formes les plus graves. Pour l'adrénoleucodystrophie liée à l'X, la démyélinisation (qui peut être cérébrale ou ne toucher que la moëlle épinière) est associée à une insuffisance surrénale (maladie d'Addison), qui peut être le premier symptôme de la maladie, notamment chez les hommes. ³³

3) La Maladie d'Alzheimer

La MA est une maladie neurodégénérative commune chez les personnes âgées affectant approximativement 13% des personnes au-delà de 65 ans et 45% des personnes âgées de plus de 85 ans ³⁴. La neurodégénérescence est causée par l'accumulation de la protéine Tau à l'intérieur des neurones, et par le dépôt de plaques séniles formées de protéines bêta-amyloïdes en extracellulaire. Ces deux types de lésions sont caractéristiques de la MA, mais

les mécanismes qui en sont à l'origine ne sont pas découverts. Il est toutefois admis qu'un ensemble de facteurs génétiques et environnementaux influencent son apparition, comme par exemple le gène codant pour la protéine ApoE, produite par les cellules gliales dans le cerveau.

ApoE existe sous plusieurs isoformes, dont les affinités avec les différents lipides divergent, et qui sont sources de variations biologiques importantes. L'isoforme ApoE ε4 a par exemple été démontrée comme multipliant le risque d'apparition de la maladie par trois, si présence d'un seul allèle, et par 15, si présence de l'isoforme sur les deux allèles, tandis que l'isoforme ApoE ε2 diminue son risque d'apparition ³⁴. En effet, les différentes isoformes d'ApoE seraient liées à la fois à la quantité et à la qualité des plaques séniles qui se développent au cours de cette maladie ³⁵.

ApoE régule l'homéostasie des lipides en médiant leur transport entre les différentes cellules du corps grâce à la famille des récepteurs des lipoprotéines de faible densité (LDLR) ³⁵.

Bien que le lien direct entre variation des niveaux de cholestérol intracérébral et déclaration de la MA soit encore discuté ³⁶, ce type de cholestérol jouerait tout de même un rôle crucial dans la pathologie de cette maladie. En effet, une élévation de sa concentration au sein du SNC augmenterait a priori la production, ainsi que le dépôt des protéines bêta-amyloïdes, sources de la formation des plaques séniles ³⁷. De plus, il est très probable qu'un changement **qualitatif** des lipides intra-cérébraux intervienne dans la pathologie de la MA, sans que leur quantité totale ne varie. Ainsi en 2019, Claire E. DelBove et al. ont démontré *in vitro* qu'il existerait une modulation réciproque entre la protéine précurseur du peptide bêta amyloïde et le cholestérol membranaire des synapses ³⁸.

La maladie d'Alzheimer possède toutefois 2 composantes majeures : l'accumulation sous forme de plaques de peptides β-amyloïde, mais aussi une accumulation de la protéine Tau hyperphosphorylée. Si le lien entre métabolisme du cholestérol et peptides β-amyloïde a donc pu a priori être établi malgré les controverses, celui entre ce métabolisme et la protéine Tau est à première vue moins clair. Le lien entre ces 2 derniers a cependant été démontré par Burlot, Marie-Anne et al. dans une étude de 2015 chez des souris THY-Tau22, un modèle murin de pathologie Tau de type MA sans pathologie amyloïde associée. Ainsi, une injection d'un vecteur viral adéno-associé contenant CYP46A1 a permis une normalisation du cholestérol 24-

hydroxylé, ainsi qu'une restauration des déficits cognitifs, de l'altération de la dépression à long terme et des défauts de la colonne vertébrale associés à ce modèle, tandis que l'hyperphosphorylation de Tau ainsi que la gliose associés se trouvaient eux inchangés ³⁹.

En conclusion, non seulement le métabolisme du cholestérol en général est impacté dans la MA, mais également aussi la substance blanche, riche en ce type de lipides. Celle-ci subit un phénomène de démyélinisation causée notamment par la toxicité des plaques bêta-amyloïdes et de la protéine Tau hyperphosphorylée sur les oligodendrocytes. Cette démyélinisation, qui aggrave le phénomène de neurodégénérescence, est observable par IRM ⁴⁰ et est créatrice d'un nombre important de débris de myéline riches en cholestérol.

4) La maladie de Huntington

La maladie de Huntington (MH) est une maladie génétique autosomique dominante rare dont les premiers symptômes apparaissent autour de 35 ans ⁴¹ bien qu'il existe des formes juvéniles. La maladie est diagnostiquée avec l'imagerie cérébrale et un bilan génétique ⁴². Sa prévalence est estimée à 1/16000 personnes ⁴², dont environ 6 000 en France ⁴¹.

La mutation génétique causant la maladie cause une répétition de triplets CAG dans le gène codant pour la Huntingtine, localisé sur le chromosome 4 ⁴¹. La protéine mutée, possédant alors une longue succession de glutamines (plus de 36), change de conformation et devient toxique. Elle s'accumule alors dans les cellules (principalement dans le striatum et le cortex), causant leur mort.

Les symptômes de cette maladie sont au départ insidieux, puis s'aggravent avec le temps et sont très divers : chorée, mouvements incontrôlés, dystonie, problèmes oculomoteurs, troubles de la déglutition, troubles du comportement... ⁴³ Ces symptômes s'intensifient graduellement, la MH provoque à terme une perte d'autonomie ⁴².

La maladie de Huntington serait également liée à une dysfonction du métabolisme du cholestérol. Dans une étude publiée en 2010, Valenza et al. ont démontré que la biosynthèse du cholestérol cérébral était réduite, avec également une réduction de son turnover, dans plusieurs modèles de rongeurs de la MH. De plus, une réduction plus évidente de la biosynthèse du cholestérol a été observée chez les souris qui portaient un nombre accru de

répétitions CAG. Cette perturbation du cholestérol a tout particulièrement été observée dans les astrocytes : ces derniers produisaient et sécrétaient notamment moins d'ApoE. ⁴⁴ Dans une étude de 2011, Karasinska et Hayden ont listé de manière plus détaillée les changements plasmatiques et intracérébraux du métabolisme du cholestérol chez des patients atteints de MH ainsi que dans des modèles murins de MH (**Tableau 2**). Ainsi on observe notamment, cette fois chez des patients humains atteints de MH, une baisse des niveaux de cholestérol, mais aussi de ses précurseurs et métabolites dans le plasma, ainsi qu'une baisse d'expression d'enzymes impliquées dans la synthèse du cholestérol dans leur tissu cérébral, et une augmentation du cholestérol au sein du noyau caudé.

Population ou modèle	Plasma	Cerveau
Patients avec MH	Niveaux de cholestérol, de précurseurs (lanostérol et lathostérol), et de 24-OH cholestérol réduits.	Tissu cérébral post-mortem : Réduction de l'expression des enzymes de la synthèse du cholestérol, incluant HMG-CoAR, CYP51, et 7-DHC reductase. Augmentation de la concentration en cholestérol dans le noyau caudé.
Modèle murin R6/2	/	Réduction de l'expression de HMG-CoAR, CYP51, et 7-DHC reductase. Réduction de l'activité de l'HMG-CoAR. Baisse de la concentration en lanostérol et lathostérol. Réduction du cholestérol dans les stades tardifs de neuropathologie.
Modèle murin YAC128	Réduction de 24-OH cholestérol de cholestérol total et de ses précurseurs.	Réduction de l'activité de l'HMG-CoAR. Baisse de cholestérol, de lathostérol, de lanostérol et de 24-OHC
Modèle murin YAC72	/	Accumulation de cholestérol dans les neurones. Augmentation de cholestérol dans le striatum.
Modèle murin knock-in <i>Hdh</i>	/	Augmentation du cholestérol dans une première étude. Dans une autre étude, baisse de cholestérol, de lathostérol et de 24-OHC
Modèle de rat	/	Baisse de cholestérol, de lathostérol et de 24-OHC

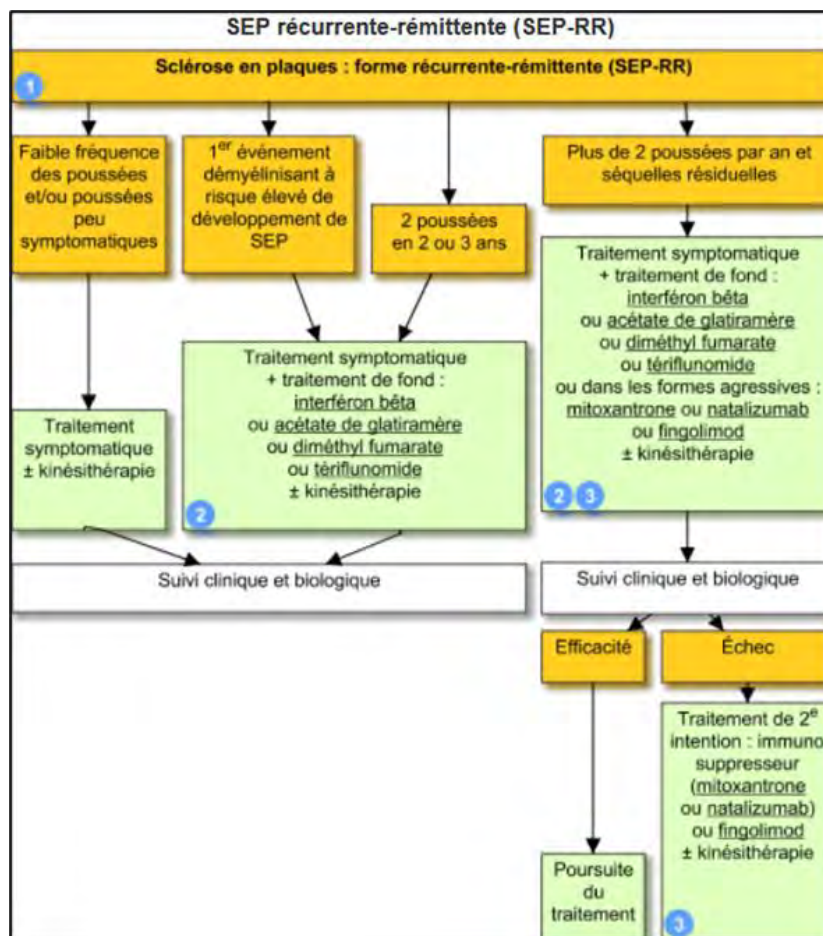
Tableau 2 : Changements des métabolismes du cholestérol plasmatique et cérébral dans la MH. Adapté de Karasinska et Hayden. 2011.

II) Les traitements conventionnels des pathologies démyélinisantes

De nos jours, il n'existe aucun traitement curatif contre les maladies démyélinisantes du SNC, mais uniquement des traitements symptomatiques, visant à réduire les symptômes sans que la progression des maladies ne soit véritablement stoppée.

1) Les traitements de la Sclérose en Plaques

Concernant le traitement de la SEP, il faut discerner dans un premier temps le traitement de fond du traitement des poussées, ainsi que, dans un second temps, le traitement de la forme récurrente-rémittente, du traitement de la forme progressive. De plus, s'ajoute à ces protocoles une prise en charge symptomatique globale visant à soulager d'éventuels épisodes de fatigue, des douleurs, des troubles anxio-dépressifs, des tremblements, des troubles sphinctériens ou une spasticité.



Pour la forme récurrente-rémittente, la première intention est l'usage des interférons bêta-1a et bêta-1b, ainsi que l'Acétate de Glatiramère. En cas d'échec ou de forme aggressive, un traitement immunosuppresseur peut être envisagé (Mitoxantrone, Natalizumab, Fingolimod ou éventuellement Cyclophosphamide hors AMM) (figure 7A).

Figure 7A : Recommandation de prise en charge de la SEP, forme récurrente-rémittente. D'après www.vidal.fr.

Concernant les formes progressives de la sclérose en plaques, ce sont les interférons bêta (sauf le Peginterféron) qui sont recommandés en première intention pour la forme secondairement progressive. La mitoxantrone ou le Cyclophosphamide (hors AMM) peuvent être utilisés dans les formes agressives, ou pour le traitement de fond de la forme progressive primaire (figure 7B).

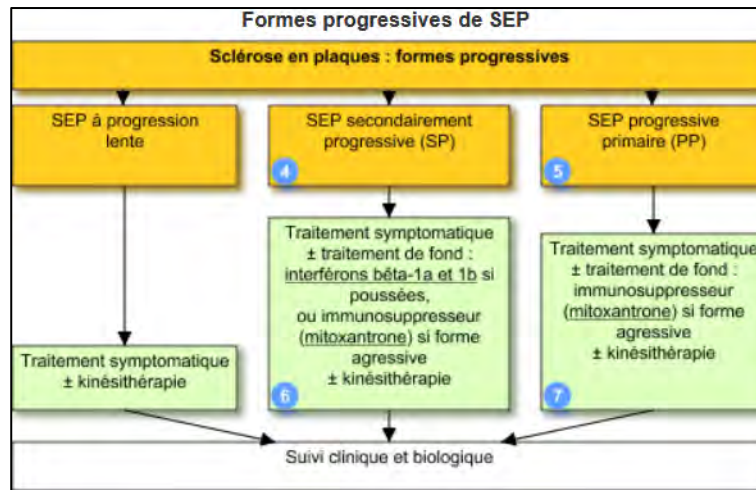


Figure 7B : Recommandation de prise en charge de la SEP, formes progressives. D'après www.vidal.fr.

Pour le traitement des poussées de SEP, une corticothérapie IV est indiquée, bien que les corticoïdes n'aient pas été prouvés comme ayant une influence sur le pronostic à moyen et à long termes des poussées. Il est cependant important de noter qu'avant d'entreprendre ce traitement, il est nécessaire de rechercher d'une quelconque infection pouvant avoir cours pendant les poussées, car l'immunosuppression provoquée par une corticothérapie à haute dose peut aggraver celle-ci.

Malheureusement, en plus d'une prise en charge pouvant être lourde (multi-médication) et inconfortable (injections IV quotidiennes), la présence de nombreux effets indésirables peut-être très contraignante pour les patients, pouvant même les amener à stopper leur traitement de fond. Parmi les effets secondaires les plus courants, on peut citer en exemple des maux d'estomacs et des céphalées, des diarrhées, des syndromes pseudo-grippaux, des crampes musculaires et une spasticité qui sont très rébarbatifs, notamment pour les personnes actives.

2) Les traitements des Leucodystrophies

Les traitements utilisés pour les leucodystrophies sont, pour la plupart, purement symptomatiques et diffèrent donc selon chaque patient. Leur but principal est donc de soulager les différents symptômes (comme par exemple la raideur des membres, appelée spasticité, ou la douleur), voire de ralentir l'évolution de la maladie dans certains cas.

On peut citer par exemple :

- La rééducation motrice active et passive,
- Le traitement de l'insuffisance surrénale accompagnant l'adrénoleucodystrophie. Celui-ci repose sur la prescription d'hydrocortisone ou de fludrocortisone.
- L'huile de Lorenzo. Il s'agit d'un régime diététique qui repose sur une restriction alimentaire d'acides gras à très longue chaîne (AGTLC) et la prise d'huile enrichie en acide oléique et en acide érucique, des acides gras à courte chaîne. Le but de ce traitement est d'agir par inhibition compétitive de l'enzyme formant les AGTLC. Il s'agirait d'un traitement préventif, mais dont l'efficacité réelle n'a toujours pas été prouvée à ce jour, qui pourrait diminuer la gravité de l'atteinte cérébrale chez des patients pré-symptomatiques et qui arriveraient à normaliser leur concentration plasmatique en AGTLC. Il faut cependant préciser que ce régime ne prévient pas la survenue d'une atteinte cérébrale. De plus, il a été maintenant démontré que les concentrations plasmatiques en AGTLC n'étaient pas corrélées avec l'importance des problèmes neurologiques. Enfin, le traitement par huile de Lorenzo n'est pas exempt d'effets indésirables (gingivite, troubles gastro-intestinaux) pouvant être graves et ayant déjà causé son arrêt lors d'études cliniques.⁴⁵

Il existe toutefois un véritable traitement curatif, la greffe de moelle osseuse, qui peut être proposée pour soigner certaines leucodystrophies. Il s'agit du seul traitement à ce jour qui a été démontré comme pouvant stabiliser ou même faire régresser les lésions de démyélinisation. Ses applications sont malheureusement très limitées :

- Le nombre de leucodystrophies pouvant être traitées par ce biais est faible (maladie de Krabbe, leucodystrophie métachromatique, adrénoleucodystrophie).

- Il n'est efficace que sur une fenêtre thérapeutique très étroite, au tout début de la maladie. Il faut donc un diagnostic très précoce, car la greffe est inefficace si des symptômes cliniques évidents sont apparus.
- Il s'agit d'un traitement lourd et dangereux, le taux de mortalité est de 15 à 20 % chez l'enfant. ³³

3) Les traitements de la Maladie d'Alzheimer

Il existe quatre traitements médicamenteux de la MA disponibles sur le marché. Trois sont des anticholinestérasiques : le Donepezil, la Galantamine, et la Rivastigmine. Le dernier, la Mémantine, est un inhibiteur des récepteurs NMDA. Tous les quatre ont pour but d'améliorer la neurotransmission, et donc d'avoir un effet positif sur les symptômes cognitifs de la maladie d'Alzheimer.

Ces médicaments ne sont plus inclus dans les recommandations publiées par la Haute autorité de santé (HAS) depuis mai 2018. En effet, le service médical rendu (SMR) est désormais défini comme étant insuffisant, compte-tenu de leur efficacité clinique décrite comme étant « au mieux modeste et de courte durée sur les symptômes cognitifs » et d'un risque d'effets indésirables potentiellement graves, conjugués à « un risque accru d'interaction médicamenteuse en raison du profil de la population traitée (âgée, polypathologique et polymédiquée) » ⁴⁶.

Les effets indésirables déclarés étaient en effet nombreux chez la population soignée pour cette pathologie. En 2010, l'étude transversale française PEIMA évaluait la prévalence d'au moins un effet indésirable médicamenteux à 5%. Concernant les inhibiteurs d'acétylcholinestérase, leurs effets indésirables étaient déclarés « graves » dans la moitié des cas. Ils se composaient pour 1/3 d'effets cardiovasculaires (bradycardies, troubles du rythme, malaises) et pour 1/3 d'effets neurologiques ⁴⁷.

En plus de l'indisponibilité d'un traitement curatif de la maladie d'Alzheimer, les traitements symptomatiques disponibles ne sont pas efficaces et dangereux. Il est donc crucial de trouver de nouvelles stratégies thérapeutiques capables de soigner ces troubles démyélinisants et neurodégénératifs.

4) Les traitements de la maladie de Huntington

Comme aucun médicament curatif n'est disponible contre la MH, le traitement est purement symptomatique. Ceci-dit, il n'existe pas de réel consensus sur les traitements qui sont à adapter au cas par cas. Des neuroleptiques peuvent améliorer les symptômes choréiques, avec de la Tétrabénazine en première intention, et puis de l'Halopéridol, du Tiapride, ou du Pimozide en seconde intention ⁴⁸. Des anti-dépresseurs peuvent également être prescrits en cas de besoin, et la physiothérapie est fortement conseillée ⁴². En effet, les troubles moteurs de la maladie de Huntington s'améliorent avec des séances de rééducation, et le yoga, la relaxation, la balnéothérapie, le tai chi chuan, le qi gong, la gymnastique douce, la danse ou la rééducation, peuvent aussi être proposées pour améliorer la chorée ⁴⁸.

Comme il n'existe pas de médicament apportant un réel bénéfice sur les fonctions intellectuelles, un accompagnement ainsi qu'un aménagement du quotidien du patient sont donc conseillés pour ces-derniers ⁴⁸.

D'une manière générale, la prise en charge doit être pluridisciplinaire et globale, et avoir pour objectif « de préserver le plus longtemps possible l'autonomie du patient, la vie professionnelle et sociale, la qualité de vie, l'harmonie familiale et les ressources financières selon le Centre de Référence National sur la maladie de Huntington ⁴⁸.

En résumé, bien que certains médicaments puissent soulager les patients, ils exposent également à des effets indésirables. Il est donc important de privilégier la rééducation, ainsi que l'accompagnement des patients pour les troubles moteurs et cognitifs.

III) Le métabolisme du cholestérol dans le système nerveux central

Comme décrit plus tôt, **les mécanismes de démyélinisations sont communs non seulement aux maladies démyélinisantes du SNC, mais aussi aux maladies neurodégénératives**, la maladie d'Alzheimer n'étant qu'un exemple. Une perturbation du métabolisme du cholestérol en général n'est pas forcément mis en évidence pour toutes ces maladies, mais même en se focalisant uniquement sur la myéline, le cholestérol reste une cible de choix pour les traiter, car la myéline est composée en grande partie de ce lipide.

1) Les mécanismes de remyélinisation

Si le processus de démyélinisation n'est pas trop avancé, le SNC peut se régénérer sous certaines conditions. En effet, après la formation d'une lésion, une remyélinisation réussie se réalise grâce à l'action des oligodendrocytes, qui sont les cellules responsables dans le SNC de la formation de myéline et de son maintien ⁴⁹. Un nombre suffisant d'oligodendrocytes doit donc être présent sur le site de démyélinisation. Plus précisément, ce sont les OPC (qui se différencient en oligodendrocytes matures) et les progéniteurs de cellules neurales qui promeuvent la remyélinisation après ce type de lésion, en se substituant aux oligodendrocytes perdus, donc leur nombre et leur capacité à se différencier en cellules matures conditionnent directement la qualité de la remyélinisation ⁴⁹.

Cependant, avant que la remyélinisation puisse se passer, il y a besoin d'éliminer les débris de myéline, ainsi que les cellules mortes, car la présence de myéline inhibe la différenciation des OPC ⁵⁰. C'est le rôle des macrophages du SNC, ou microglie. À l'origine, ces derniers n'étaient perçus que comme des cellules purement inflammatoires qui aggravaient les lésions neurales en stimulant les lymphocytes T via la présentation d'antigènes, en produisant des cytokines pro-inflammatoires et des radicaux libres, et via leur fonction de phagocytose ²⁷. Leur implication dans des pathologies neurales a d'ailleurs été décrite dans plusieurs études ⁵¹.

De nos jours, le potentiel protecteur et les capacités régénératives des macrophages commence à être identifié et compris. Suite à une lésion de la myéline, les cellules de la microglie native prolifèrent sur le site des dommages, et grâce aux signaux relargués ou exprimés par les cellules blessées (PAMPS : Pathogen-Associated Molecular Patterns, et DAMPS : Endogenous Signals of Damage), elles s'activent.

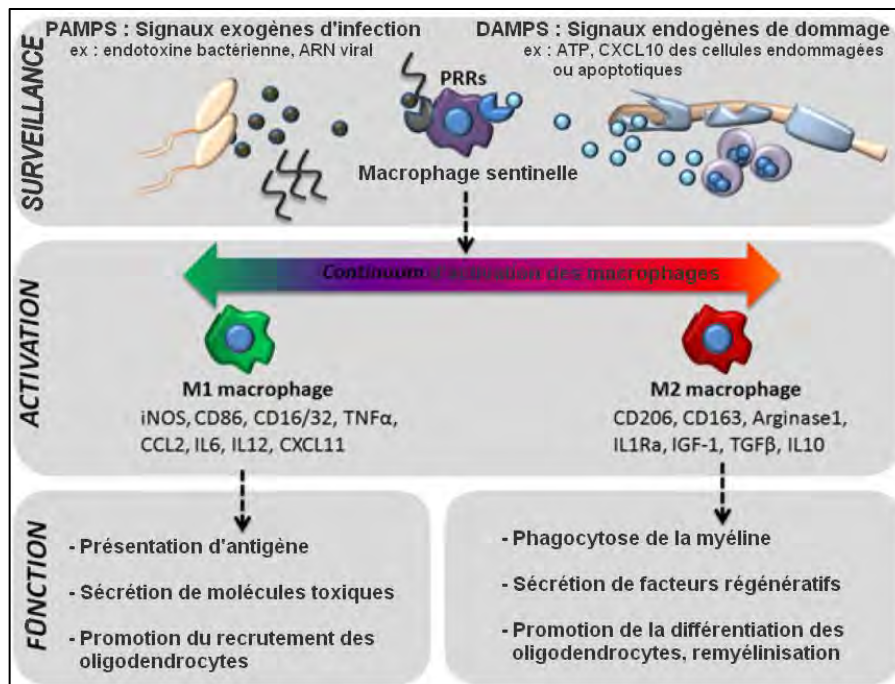


Figure 8 : Activation et fonctionnement de la microglie/des macrophages. Adapté de Miron et Franklin. (2014)⁴⁰

Tout d'abord, le premier phénotype qu'elles adoptent est appelé « M1 », ou pro-inflammatoire. Elles expriment alors une variété de marqueurs : iNOS, CD86, TNF, CCL2, IL6, IL12, CXCL1 et CD16–CD32+. Ensuite, un changement a lieu plus tard vers un phénotype « M2 » ou régénérateur. Les macrophages expriment alors CD163, IL1Ra, TGFβ, IL10, Arginase 1, IGF1 et CD206. C'est ce deuxième phénotype qui permet la différenciation des OPC et la remyélinisation (**figure 8**). Cette transition cruciale est l'étape limitante pour la remyélinisation du SNC⁵².

La microglie active phagocyte les débris de myéline qui inhibent la remyélinisation. Elle sécrète également des cytokines et des facteurs de régénération qui promeuvent la différenciation des oligodendrocytes et la remyélinisation au site de la lésion⁵¹ (**figure 9**).

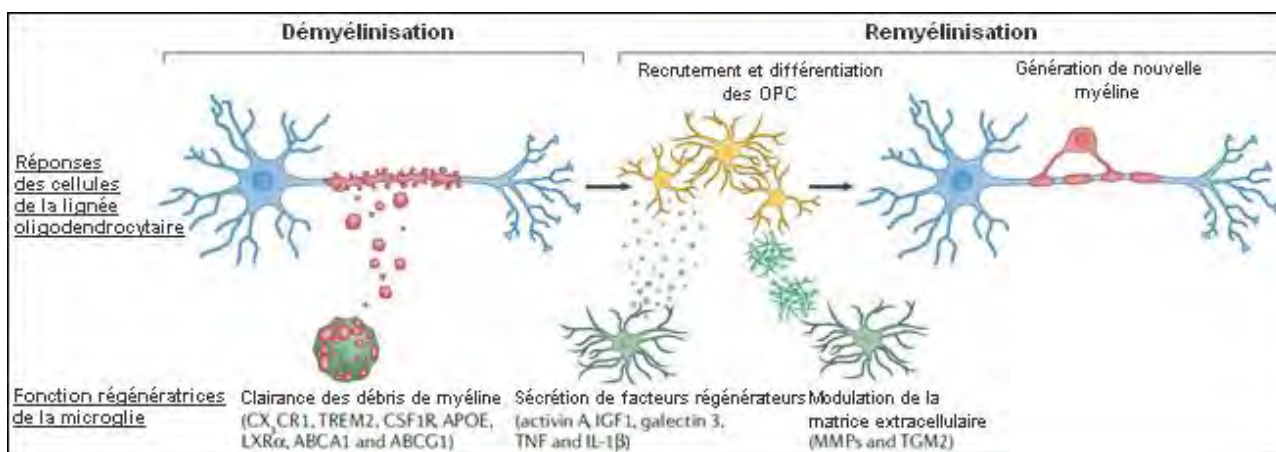


Figure 9 : Les propriétés de remyélinisation de la microglie. D'après Lloyd et Miron. (2019) ⁴⁴

La microglie permet une remyélinisation en facilitant le recrutement des OPC, ainsi que leur différenciation en oligodendrocytes. Les oligodendrocytes génèrent par la suite de la myéline par trois voies différentes. D'abord en éliminant les débris de myéline via CX3CR1, stimulant ainsi la signalisation via triggering receptor expressed on myeloid cells 2 (TREM2) et colony-stimulating factor 1 receptor (CSF1R), ainsi qu'en nettoyant les débris riches en cholestérol via l'Apolipoprotéine E (ApoE), LXRα, ABCA1 et ABCG1. Ensuite en sécrétant des facteurs régénératifs, et enfin en modifiant la matrice extracellulaire via la sécrétion de métalloprotéases de matrice (MMPs) et de Tissue Transglutaminase 2 (TGM2).

Il est néanmoins important de noter que cette description de conversion du phénotype M1 vers celui de type M2 est ici simplifié. *In vivo*, il existe plutôt un continuum d'activation des macrophages, avec un éventail de phénotypes adoptés entre ces deux extrêmes (voir **Tableau 3**) ⁵³.

La capacité de phagocytose et de traitement des débris de myéline des macrophages est une fonction cruciale qui conditionne la guérison après une lésion du SNC. Une quantité excessive de ces débris peut saturer la microglie, amenant les cellules la composant à être **submergées**. Les macrophages qui ne sont plus capables d'assurer leur fonction de nettoyage sont d'ailleurs un élément déterminant de la pathogenèse de nombreuses maladies neurodégénératives. Ce phénomène se produit plus souvent au sein d'organismes âgés, à cause de modifications dans l'expression de leurs gènes de phagocytose ⁵².

Le nettoyage des débris de myéline étant un mécanisme déterminant pour une remyélinisation efficace, il constitue donc une cible prometteuse pour traiter les pathologies démyélinisantes du SNC. Comme la myéline est composée en grande partie de cholestérol, l'élimination de cette dernière fait partie du métabolisme du cholestérol au sein du SNC. Le cholestérol phagocyté est ensuite recyclé pour être réutilisé pour la création de nouvelles

gaines de myéline, ou alors est éliminé du SNC ⁵². Il est donc possible d'agir sur la remyélinisation via cette voie métabolique particulière.

	M1 (activation classique)	M2a (réparation tissulaire)	M2b (phénotype modulateur/régulateur)	M2c (activation alternative, régulatrice)	Références
Stimulus activateur	IFN- γ , TNF- α , LPS Pathogen-activated molecular patterns Danger-associated molecular patterns Misfolded proteins Complement	IL-4, IL-13	Complexes immuns	IL-10, TGF- β , Glucocorticoïdes	Boche et al. [7] Loane and Bymes [28] Benarroch et al. [21] Nakagawa and Chiba [22] Chhor et al. [223]
Sources de stimulus	Pathogènes Natural killer	Neurones apoptotiques Granulocytes répondant aux blessures tissulaires, champignons et parasites		Macrophage	Benarroch [21]
Premiers marqueurs phénotypiques	T helper 1 lymphocytes. iNOS, TNF- α , MHCII, CD86	T helper 2 lymphocytes Arginase-1, Mannose receptor FIZZ-1, chitinase 3-like 3, chemokines and receptor	IL-10, cyclooxygenase 2, sphingosine kinase, suppressor of cytokine signalling 3	CD163	Franco and Fernandez-Suarez [33] Chhor et al. [223]
Substances produites	Cytokines pro inflammatoires : IL-23, IL-18, IL-1 β , IL-6, TNF- α Reactive oxygen species Reactive nitrogen species Prostaglandin E2 Excitatory amino acid	Extracellular matrix proteins Fibroectin	IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF- α	IL-10, TGF- β	Benarroch [21] Nakagawa and Chiba [22]
Fonctions	Pro-inflammatoire Présentation d'antigènes aux lymphocytes Phagocytose Cytotoxicité Protection contre les dommages	Réparation tissulaire Remodelage de la matrice extracellulaire Phagocytose		Anti-inflammatoire Phagocytose	Benarroch [21] Nakagawa and Chiba [22]

IFN- γ interféron- γ , *IL* interleukin, *TNF* tumor necrosis factor, *TGF* transforming growth factor, *iNOS* inducible nitric oxide synthase, *MHC* major histocompatibility complex

Tableau 3 : Phénotypes caractérisés adoptés par la microglie. Adapté de Du, L. et Al. (2017) ⁵³

2) Le cholestérol dans le SNC

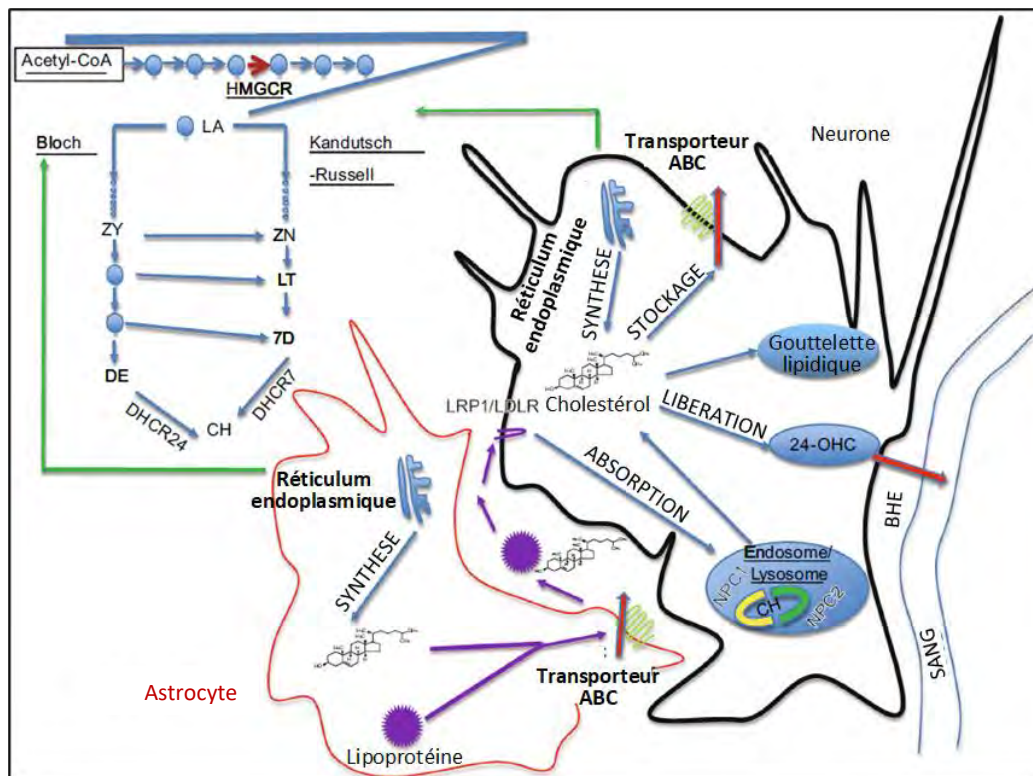


Figure 10 : Synthèse et métabolisme du cholestérol cérébral. Adapté de Zhang et Liu (2015) ⁵⁴.

Le SNC est très riche en cholestérol. La majorité (autour de 70% à 80%) se trouve dans la gaine de myéline, et, chez les adultes, est maintenue dans des concentrations constantes en condition physiologique, grâce à un renouvellement bas et des pertes minimales. À cause de sa nature hydrophobe, il circule en grande majorité lié à des lipoprotéines complexes, comme ApoE. Cette particularité l'empêche également de traverser la BHE, les neurones des organismes adultes dépendent donc essentiellement des astrocytes pour leurs apports en cholestérol, après sa synthèse grâce à la voie de Bloch, même s'il est possible aux neurones de synthétiser du cholestérol à travers la voie de Kandutsch-Russell. Après synthèse, les astrocytes fournissent les neurones en cholestérol grâce aux lipoprotéines, car il se trouve alors sous forme circulante. L'absorption de cholestérol via ApoE est possible grâce aux récepteurs LRP1/LDLR. Il est ensuite converti en intracellulaire en cholestérol libre dans les endosomes/lysosomes avec l'assistance de NPC1 et de NPC2 (**Figure 10**). Le renouvellement du cholestérol permet de gérer son excédent dans le SNC adulte grâce à 3 voies majeures ⁵⁴:

- **La voie de stockage.** Le cholestérol absorbé est estérifié par des enzymes de la famille des « Acyl-Coenzymes A : cholestérol acyltransférases », formant alors des

gouttelettes lipidiques. Cette voie ne concerne qu'environ 1% du cholestérol total dans le SNC.

- **L'efflux par les transporteurs ABC.** Les neurones expriment des transporteurs ABC (ABCA1, ABCG1, and ABCG4) qui permettent la lipidation des apolipoprotéines. Celles-ci peuvent ensuite être éliminées du cerveau par transcytose grâce à LRP1, hautement exprimés dans les neurones, ou grâce à SCARB1, exprimés par les astrocytes et les neurones. Concernant les apolipoprotéines, ApoE a fait l'objet d'études approfondies car elle jouerait un rôle majeur dans plusieurs maladies neurodégénératives et démyélinisantes, comme décrit précédemment pour la maladie d'Alzheimer ³⁴.
- **L'excrétion après hydroxylation par Cyp46A1.** C'est la voie principale d'élimination du cholestérol dans le SNC. Elle permet la formation de 24-cholestérol, un oxystérol qui est par la suite éliminé du SNC en traversant directement la BHE, le radical hydroxyle ajouté améliorant alors grandement sa capacité traverser cette dernière.

Cibler le métabolisme du cholestérol, avec pour but d'améliorer sa circulation et son élimination quand il est en excès, peut notamment permettre de prévenir le phénomène de saturation de la microglie, ainsi que d'améliorer la régénération de la gaine de myéline.

Ceci-dit, le rôle du cholestérol dans le SNC va bien au-delà de ça. Comme décrit un peu plus tôt, le métabolisme du cholestérol serait altéré d'une manière générale dans les maladies neurodégénératives, avec les exemples déjà détaillés de la MA et de la maladie de Huntington, même s'il reste à prouver s'il y aurait une atteinte du métabolisme du cholestérol en général au sein de toutes les maladies avec une composante de démyélinisation.

Quoiqu'il en soit, soigner ce type de maladies en ciblant le métabolisme du cholestérol est une stratégie innovante, mais ce dernier, surtout au sein du SNC étant complexe, il convient de cibler des mécanismes et des enzymes particuliers afin d'avoir un effet contrôlé et mesurable sur les pathologies démyélinisantes.

PARTIE 3 : OUTILS DE THERAPIE GENIQUE

I) Les deux voies de la thérapie génique

Cibler avec précision une enzyme, un récepteur, ou une voie métabolique particulière est un problème récurrent des approches pharmacologiques conventionnelles. De plus, en augmentant la dose prise, leur précision de ciblage diminue (la précision d'action peut ainsi être sacrifiée en partie afin d'avoir un agent thérapeutique en quantité suffisante sur une cible). Une deuxième problématique majeure est que le SNC est difficile d'accès par voie systémique à cause de la présence de la BHE. Si on ajoute à ces premières difficultés le fait que les maladies touchant le SNC sont souvent très complexes, avec une physiopathologie et une implication des différents acteurs cellulaires souvent mécomprises, les traitements conventionnels n'apparaissent pas comme des solutions idéales aux maladies neurodégénératives et démyélinisantes du SNC ⁵³. En revanche, il existe une solution innovante qui pourrait pallier à ces problèmes : la thérapie génique.

La thérapie génique permet de délivrer un gène étranger, ou transgène, dans les cellules d'un patient, afin de soigner des maladies génétiques. Les cellules peuvent être modifiées de manière temporaire ou définitive, et de nos jours, seules les cellules somatiques sont autorisées à être modifiées. Cette approche peut être appliquée aux pathologies génétiques (en introduisant une copie fonctionnelle d'un gène déficient par exemple) mais aussi pour soigner des maladies complexes en augmentant une fonction qui bénéficie aux tissus touchés ⁵⁵. Elle permet un ciblage extrêmement précis, a le potentiel de soigner des maladies que les approches conventionnelles échouent à traiter. Différentes approches de thérapie génique existent, *in vivo* ou *ex vivo*, et les plus communes utilisent des vecteurs viraux ⁵⁶.

1) In vivo

La thérapie génique *in vivo* (**figure 11, à gauche**) implique l'injection directe dans un tissu particulier de vecteurs (viraux ou non-viraux) contenant un ou plusieurs gène(s) thérapeutique(s) afin de traiter une maladie génétique ⁵⁷. Pour le SNC, cette administration peut se faire via 3 voies différentes ⁵⁶:

- Intra-parenchymale,
- Intraveineuse,
- Intrathécale (injection dans le liquide cébrospinal).

L'injection par voie parenchymale est la plus utilisée car elle permet de cibler directement la zone du SNC souhaitée. Cependant elle est délicate à réaliser, bien que des techniques d'imagerie, comme l'IRM permettent le suivi et le ciblage précis des zones cérébrales à injecter. L'injection intrathécale est une option moins dangereuse, et a déjà été démontrée comme étant efficace chez les primates non-humains. Enfin, la voie d'administration la plus pratique et la moins invasive est la voie IV, mais cette-dernière n'est pas encore au point et doit être couplée à des méthodes de perméabilisation de la BHE afin que les vecteurs puissent traverser cette-dernière.

Le succès de ce type d'administration dépend de plusieurs facteurs, comme l'absorption efficace du gène thérapeutique dans les cellules-cibles, son insertion ou sa dégradation dans leur ADN, ou l'expression du gène une fois intégré dans les cellules. Avec cette technique, tous ces paramètres sont difficilement contrôlables, car les cellules défectueuses ne peuvent pas être isolées et éliminées en laboratoire, de plus, les cellules transduites qui vont exprimer de manière durable un gène ne peuvent pas non plus être sélectionnées. Bien que cette méthode présente l'avantage de la simplicité, il est donc plus difficile de contrôler avec cette dernière l'expression réelle d'un transgène.

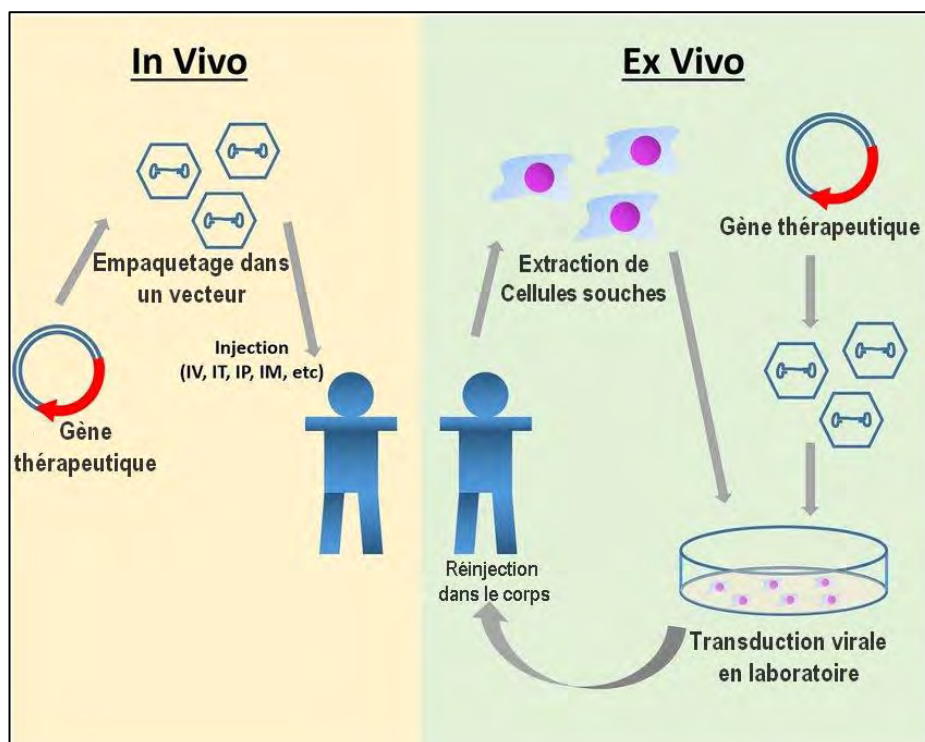


Figure 11 : Vue générale des stratégies de thérapie génique in vivo et in vitro. Adapté de Tomatsu et al. (2018) ⁴⁹

2) Ex vivo

La thérapie génique *ex vivo* (**figure 11, à droite**) permet l'introduction d'un transgène dans des cellules somatiques d'un patient. Ces cellules sont ensuite sélectionnées et amplifiées en laboratoire, avant d'être transplantées de nouveau dans le corps du patient. Cette approche présente l'avantage de pouvoir contrôler le nombre et la qualité des cellules transduites qui vont ensuite être réinjectées. De plus, le patient n'est pas directement exposé au vecteur viral, qui peut être source d'immunogénicité, et enfin, le type de cellules transduites est parfaitement connu, contrairement à l'approche *in vivo* où plusieurs types cellulaires sont exposés au virus et donc transduits.

Avec cette méthode, la durée d'expression d'un transgène peut être contrôlée par le type de vecteur utilisé (intégratif/non-intégratif) et par la catégorie de cellules modifiées. En effet, les cellules souches ont une capacité d'auto-renouvellement qui peut garantir une expression durable dans le temps si un vecteur intégratif est utilisé, tandis que les cellules différenciées n'ont qu'une durée de vie limitée dans le temps.

Malgré ses avantages, la thérapie génique *ex vivo* reste beaucoup plus invasive que la précédente : elle requière plusieurs interventions chirurgicales et les protocoles accompagnant celle-ci peuvent être très lourds à supporter.

II) Les vecteurs

Les vecteurs sont utilisés en thérapie génique comme des vaisseaux afin de transporter le (ou les) gène(s) thérapeutique(s) dans les cellules d'intérêt. Il est possible d'utiliser des vecteurs viraux, ou des vecteurs non-viraux.

1) Les vecteurs viraux

Les vecteurs viraux sont des virus modifiés, dont les parties nécessaires à la réplication virales sont enlevées pour les rendre inoffensifs, afin qu'ils puissent être utilisés comme vaisseaux pour transporter un transgène dans les cellules d'intérêt. Ils sont donc à bien distinguer des virus sauvages qui eux peuvent se multiplier à l'intérieur des cellules qu'ils infectent en utilisant la machinerie cellulaire. Parmi les vecteurs les plus utilisés se trouvent les vecteurs adéno-associés recombinants (AAVr) et les vecteurs lentiviraux (LV).

a) Les vecteurs viraux adéno-associés

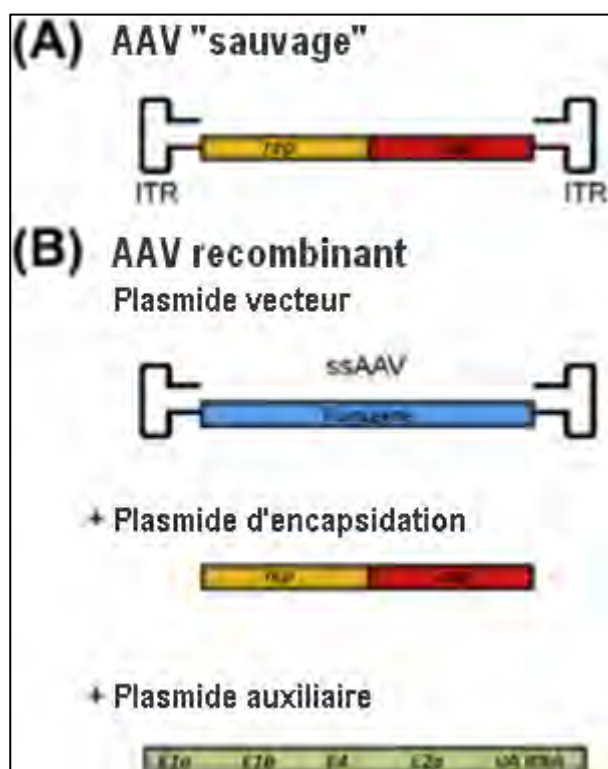


Figure 12 : Schémas descriptifs d'un AAV (A) et d'un AAVr (B). Adapté de Kantor et al. (2014) ⁵⁰

Les AAVrs sont dérivés des virus du même nom, les virus adéno-associés « sauvages » (AAV) eux-mêmes faisant partie de la famille des Parvovirus. Les AAVs sont des petits virus contenant un brin unique d'ADN d'environ 4,7 Kb enveloppé d'une capsid déterminant son sérotype, c'est-à-dire son affinité pour infecter d'un type cellulaire. Ce brin d'ADN est composé de 4 protéines de réplication, comprises dans la zone « rep » et de 3 protéines de structures virales, dans la zone « cap ». Il est flanqué de chaque côté par une séquence « Inverted Terminal Repeats » (ITR) nécessaire pour sa réplication, son intégration dans un génome et son enveloppement dans une capsid (**Figure 12, image A**). Les AAVs dépendent d'un virus « helper » pour leur réplication dans une cellule-hôte. En l'absence d'une telle aide, les AAVs, à défaut de se répliquer, peuvent potentiellement (bien que cet événement soit peu courant) s'intégrer dans le génome d'une cellule-hôte et y demeurer quiescents ⁵⁸.

Les AAVrs sont dérivés des AAVs. Ils sont produits en co-transfectant des cellules -hôtes avec 3 plasmides différents (**Figure 12, image B**). Le premier plasmide est le plasmide vecteur, portant le transgène. Au sein de celui-ci, seules les séquences ITRs sont conservées, flanquant

une séquence d'ADN composée du transgène et de son promoteur. Comme son équivalent viral sauvage, ce type de vecteurs nécessite d'être injecté avec un deuxième plasmide « auxiliaire » contenant les gènes auxiliaires (*E1a*, *E1b*, *E2a*, *E4*, et *VA RNA*) ainsi qu'un troisième plasmide « d'encapsidation » codant pour les gènes *rep* et *cap*.

La séparation des gènes auxiliaires et d'encapsidation du plasmide vecteur est critique pour éviter la formation d'AAVs sauvages ⁵⁸.

Il y a beaucoup d'avantages à utiliser les AAVrs : ils peuvent infecter des cellules répliquatives ou non, ils sont sûrs d'utilisation (car associés à aucune maladie humaine connue), non-intégratifs, et permettent une expression génique de durée moyenne sans neuroinflammation. Cette expression peut même être de longue durée pour des cellules non répliquatives, comme les neurones. Cependant, en raison de la petite taille de leur génome, seul de petits transgènes peuvent être intégrés au sein des AAVrs (environ 4kb).

L'inconvénient majeur de ce type de vecteurs reste néanmoins l'immunogénicité de la capside, initiée par le contact au préalable du patient avec un sérotype du virus sauvage. 25 à 30% de la population possède par exemple des anticorps préexistants contre le sérotype d'AAV de type 2, limitant ainsi son utilisation *in vivo* ^{56,58}. Cependant, de nos jours, des améliorations ont été développées afin de contourner les limitations associées avec ce type de vecteurs.

Le pseudotypage, par exemple, peut permettre d'améliorer la capacité de transduction et modifier le tropisme, c'est-à-dire la capacité de ciblage, d'un type cellulaire particulier. Ce dernier est réalisé en couplant une capside et un génome de différents sérotypes viraux ⁵⁹.

Les AAVs et AAVrs étant constitués d'un seul brin d'ADN, ils dépendent entièrement de la machinerie cellulaire pour synthétiser le brin d'ADN complémentaire, retardant ainsi l'expression du transgène. Les AAVs autoccomplémentaires contiennent des séquences d'ADN capables de s'hybrider spontanément après infection, éliminant ainsi cette étape-limitante. Malheureusement, cette technique diminue grandement la capacité d'empaquetage des vecteurs ⁶⁰.

Plusieurs stratégies sont en cours de développement afin de moduler l'immunité contre les AAVrs :

- Le projet MoMAAV a permis ainsi le développement de particules encapsulées du vaccin synthétique rapamycine qui, co-administrées avec un AAVr, a évité l'induction d'une immunité humorale ou cellulaire anti-capside, permettant ainsi une réadministration du même vecteur. Ce projet a été validé chez les souris et les primates non humains et contribue actuellement à plusieurs essais cliniques, dont un financé par le Généthon visant à guérir le syndrome de Crigler-Najjar, une maladie génétique rare du foie ^{61,62}.
- Une nouvelle technique de plasmaphérèse a récemment été développée dans un modèle de primate non humain de transfert de gène avec un AAVr. Son but est d'éliminer les anticorps anti-AAVs de la circulation sanguine, afin d'éviter que ces derniers ne déclenchent une réponse immunitaire en contact avec un AAVr. Contrairement aux techniques de plasmaphérèse précédentes, non-spécifiques et nécessitant d'être répétées plusieurs fois, cette dernière permet d'éliminer sélectivement et efficacement les anticorps anti-AAVs sans éliminer les autres immunoglobulines circulantes ⁶³.

Ces découvertes sont cruciales afin d'étendre les possibilités de traitement par AAVr aux porteurs d'anticorps ou pour permettre une réadministration de ceux-ci, afin d'atteindre des niveaux d'expression thérapeutiques du transgène. La possibilité de réadministration est également très utile pour les traitements de l'enfant par AAVrs, où une seule injection ne suffit pas pour obtenir une expression durable dans le temps, en raison du caractère non-intégratif de ce type de vecteurs et à la présence d'une importante multiplication cellulaire associée à la croissance des organes ⁶².

b) Les vecteurs rétroviraux

Parmi les vecteurs viraux les plus utilisés se trouve la famille des vecteurs rétroviraux. Dérivés des Rétrovirus, leur génome est composé d'ARN double-brin. Ils peuvent s'intégrer dans l'ADN après une étape de rétrotranscription médiée par une enzyme particulière nommée la transcriptase inverse, où leur génome est rétro-transcrit en ADN. Ces vecteurs peuvent donc permettre une expression longue durée d'un transgène, ainsi qu'une possible transduction de

cellules quiescentes (non répliquatives), ce qui permet de cibler un grand nombre de types cellulaires différents. Ils peuvent également intégrer un transgène de taille moyenne (7 à 8kb).

Les virus aujourd'hui les plus utilisés au sein de la famille des rétrovirus sont les vecteurs dérivés du genre des lentivirus, ou vecteurs lentiviraux. Ces derniers ont été développés à partir de lentivirus de primates, comme le virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) et de lentivirus d'autres animaux, comme le virus de l'anémie infectieuse équine. Ils ont un tropisme large et peuvent eux aussi infecter des cellules ne se divisant pas, autorisant leur usage sur un grand nombre de types cellulaires différents. Ils sont également très utilisés pour de la thérapie génique *ex vivo*. Le majeur risque pouvant être causé par leur utilisation est la possibilité de mutagenèse par insertion. Cet événement a lieu lorsqu'une séquence d'ADN portée par le vecteur viral est insérée dans la région codante ou un élément fonctionnel d'un gène, perturbant ainsi la fonction de ce gène ou promouvant une oncogénicité. Cependant de nos jours cet événement est très rare car des vecteurs lentiviraux plus sécurisés sont utilisés ⁵⁶. De plus, il existe désormais des vecteurs lentiviraux non-intégratifs, réduisant à zéro le risque de mutagenèse par infection.

Les vecteurs lentiviraux ont une structure bien particulière (**Figure 13**). Leur ARN double-brin, contrairement au virus sauvage, ne contient pas les gènes de structure *gag*, *pol*, et *env*. Le gène *gag* code pour les protéines de matrice intermembranaire, de capsid et de nucléocapsid, le gène *pol* code pour la rétrotranscriptase (pour la conversion de l'ARN en ADN) et l'intégrase (pour l'intégration du génome viral dans l'ADN de la cellule-hôte), et le gène *env* code pour les glycoprotéines d'enveloppe. Ces gènes de structures sont indispensables à la réplication virale et sont ici éliminés pour l'insertion du transgène. De même sont enlevés les gènes régulateurs et accessoires nécessaires à l'expression des gènes viraux, à l'assemblage des particules virales et aux pouvoirs pathogènes des virus ⁶⁴. Deux LTRs sont eux conservés et bordent le génome.

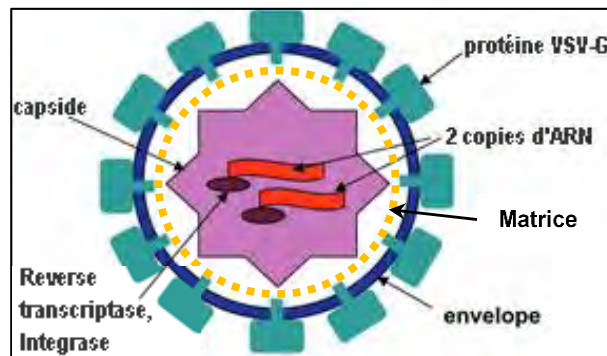


Figure 13 : Structure classique d'un vecteur lentiviral. Adapté de Tolmachov et al. (2011) ⁵⁶

L'ARN double-brin, ainsi que diverses protéines virales nécessaires à la réplication sont protégés par une capside, elle-même entourée d'une enveloppe virale. Comme les AAVr, cette enveloppe peut être modifiée pour effectuer un pseudotypage du vecteur lentiviral, en utilisant notamment les protéines G du virus de la stomatite vésiculaire (VSV-G) qui agrandissent le nombre de types cellulaires pouvant être infectés et augmentent sa stabilité ⁶⁵.

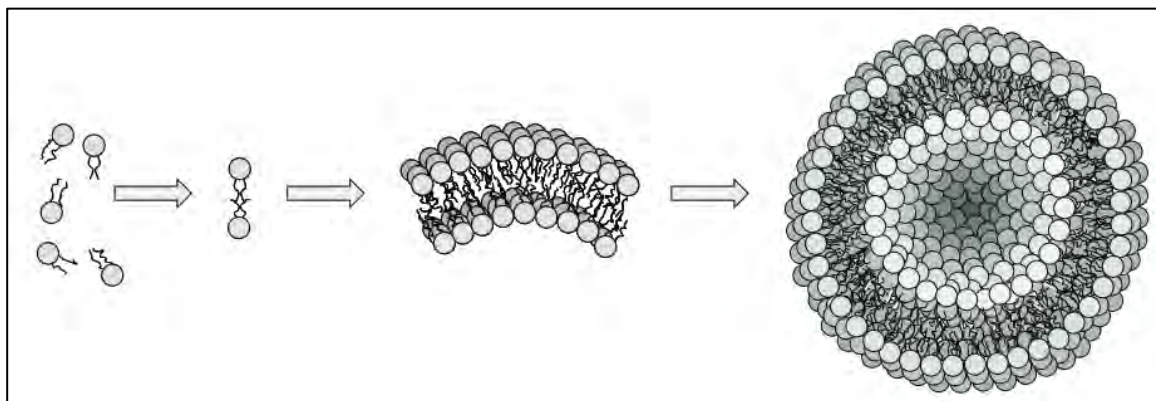
Pour produire des vecteurs lentiviraux, deux techniques peuvent en général être utilisées : soit, comme pour les AAVrs, le plasmide vecteur est cotransfecté avec des plasmides auxiliaires codant pour les protéines d'emballage (protéines de structures et d'enveloppe), soit il est transfecté dans des lignées cellulaires exprimant de manière stable ces gènes d'emballage ⁶⁵.

2) Les vecteurs non viraux

Il existe une seconde catégorie de vecteurs : les vecteurs non-viraux. Ces derniers offrent l'avantage d'être moins complexes, leur production est moins coûteuse et plus reproductible ⁶⁶. Ils peuvent également intégrer un transgène de grande taille, et ne sont pas immunogènes ⁶⁷. Cependant, ces nombreux avantages sont contrebalancés par leurs performances *in vivo* qui restent inférieures aux vecteurs viraux, tant en termes de niveau d'expression du gène que de sa durée dans le temps, et qui restent à améliorer ⁶⁶.

Un premier type de vectorisation non virale consiste à enrober le transgène dans des liposomes. Les liposomes sont des structures vésiculaires formées par l'assemblage de lipides amphiphiles formés d'une tête hydrophile et d'une queue hydrophobe. En milieu aqueux, ces lipides cherchent à prendre la conformation la plus stable, ce qui se traduit d'abord par la

formation de feuillets lipidiques, avec les queues hydrophobes des lipides se faisant face et les têtes hydrophiles faisant l'extérieur. La seconde configuration la plus stable est la formation de bicouches lipidiques, mais cette dernière n'est pas la plus optimisée car les queues hydrophobes sont toujours en contact avec le milieu aqueux extérieur. La conformation la plus stable est donc la structure liposomale, totalement close (**figure 14**)⁶⁸. Un transgène peut être inséré et transporté dans la cavité interne d'un liposome.



*Figure 14 : Schéma de l'assemblage spontané en solution aqueuse de molécules amphiphiles en feuillets, puis bicouches lipidiques, et éventuellement liposomes. D'après Balazs et Godbey. (2011)*⁶⁸

Pour faciliter sa délivrance, il est possible d'assembler des lipides cationiques ainsi que des lipides auxiliaires neutres en un liposome chargé positivement nommé un lipoplexe. Les lipoplexes sont très utilisés en tant que vecteurs non-viraux car ils peuvent se lier plus facilement à l'ADN ainsi qu'à certains complexes de membrane cellulaire qui sont eux de nature polyanionique⁶⁸.

Les liposomes peuvent être également améliorés en associant du polyéthylène glycol (PEG) à leur membrane de surface, améliorant ce faisant leur demi-vie, leur stabilité, et diminuant la réponse immunitaire contre ces-derniers⁶⁸.

Un second type de vectorisation non virale consiste à associer le transgène à des microsphères composées de polymères biodégradables. L'utilisation de polymères cationiques, nommés polyplexes, permet là encore de lier de manière efficace l'ADN, et cette forme peut même être injectée en intracérébral. Cependant, bien que les polyplexes aient une bonne capacité de diffusion, leur demi-vie reste courte. C'est pourquoi de nouvelles générations de polymères

(par exemple basés sur des polyphosphoesters) sont en cours de développement, avec une biocompatibilité améliorée pour étendre leur demi-vie et diminuer leur cytotoxicité ⁶⁷.

En conclusion de cette partie, les thérapies conventionnelles font face à des obstacles que la thérapie génique peut surmonter grâce à tout un arsenal d'outils, dont les vecteurs viraux et non-viraux font partie. Les vecteurs viraux, tout particulièrement, avec un tropisme choisi avec attention, permettent un ciblage et une spécificité d'action bien supérieurs aux thérapies conventionnelles ⁵⁶. C'est pourquoi plusieurs stratégies les utilisant ont été développées afin de traiter les maladies démyélinisantes du SNC en ciblant tout particulièrement le métabolisme du cholestérol.

PARTIE 4 :

**LES STRATEGIES DE THERAPIES GENIQUES POUR TRAITER
LES MALADIES DEMYELINISANTES DU SNC PAR LE CIBLAGE
DU METABOLISME DU CHOLESTEROL**

I) Les thérapies classiques axées sur le métabolisme du cholestérol

Comme il a été décrit précédemment, le métabolisme du cholestérol joue un rôle crucial au sein du SNC : associé aux autres lipides, il a un rôle structural et permet notamment le développement, le maintien et la réparation de la gaine de myéline. Il peut également être un marqueur, ou une cible, pour soigner les maladies neurodégénératives et démyélinisantes. En effet, plusieurs études ont mis en évidence une évolution de sa concentration, ainsi que celle de ses lipoprotéines associées, de ses métabolites et de ses précurseurs, dans plusieurs maladies neurodégénératives. Il aurait enfin un rôle beaucoup plus vaste et général au sein du SNC car il serait impliqué dans les mécanismes d'inflammation et de stress oxydatifs communs à toutes les maladies neurodégénératives ⁶⁹.

Certaines de ces connaissances datant de plusieurs dizaines d'années, il y a déjà eu des tentatives d'action sur le métabolisme du cholestérol pour soigner les maladies neurodégénératives associées à l'âge par le biais de thérapies ou méthodes plus classiques.

1) Les régimes diététiques

Divers régimes diététiques ont été testés au fil des années dans le but de provoquer une protection contre le déclin cognitif et la démence. Le conseil diététique fait partie entière de la prise en charge de différentes pathologies (diabète de type 2, dyslipidémies,...), ⁴² c'est pourquoi il est considéré ici comme traitement à part entière. Des preuves concrètes des bénéfices d'un régime visant à baisser le cholestérol plasmatique ont été apportées par plusieurs études interventionnelles.

La première, l'étude PREDIMED, a impliqué 522 patients à haut risque cardiovasculaire, et comparé les bénéfices de deux types de régime méditerranéen (supplémentation avec soit de l'huile d'olive extra-vierge ou un mélange de noix) versus un régime contrôle, pauvre en graisses. Après 6,5 ans de suivi nutritionnel, les personnes randomisées dans le régime méditerranéen avaient des scores significativement plus élevés au Mini-Mental State Examination et au Clock Drawing Test que les participants au régime contrôle ⁷⁰. Les effets

bénéfiques des régimes méditerranéens ont été corrélés dans d'autres études à leur action protectrice sur le cholestérol HDL ⁷¹ et au contraire à leur action réductrice sur le nombre de LDL-oxydées ⁷².

Dans la seconde étude publiée en 2010, 124 patients avec une pression artérielle élevée, sédentaires et en surpoids ou obèses ont été séparés en 3 groupes : un groupe ne pratiquant qu'un régime particulier, le régime DASH (pour Dietary Approaches to Stop Hypertension), un groupe suivant le régime DASH accompagné d'un programme de gestion du poids (avec notamment de l'exercice physique), et un dernier groupe contrôle avec un régime défini comme « classique ». Au bout de 4 mois, les patients ayant suivi le régime DASH avec ou sans programme de gestion de poids avaient une amélioration plus importante de la vitesse psychomotrice, comparé au groupe contrôle, même si l'amélioration cognitive était plus marquée chez les patients combinant régime DASH et programme de gestion.

Le régime DASH a été élaboré dans les années 90 par un organisme indépendant américain, le « National Institute of Health », avec pour but initial de réduire l'hypertension artérielle, mais il a également démontré par la suite qu'il permettait une réduction du LDL-cholestérol ⁷³. Le régime DASH est détaillé ci-dessous (**Tableau 4**) :

Groupe alimentaire	Portions quotidiennes
Grains	6–8
Viandes, volailles et poissons	6 ou moins
Légumes	4–5
Fruits	4–5
Produits laitiers à teneur faible en gras ou sans gras	2–3
Graisses et huiles	2–3
Sodium	2,300 mg
	Portions hebdomadaires
Noix, graines, haricots secs et pois	4–5
Sucreries	5 ou moins

Tableau 4 : Objectifs quotidiens et hebdomadaires du régime DASH pour un total de 2000 calories par jour. D'après www.nhlbi.nih.gov « DASH Eating Plan ». ⁷¹

Tout en suivant le régime DASH, il est également conseillé par le National Institute of Health de choisir, de manière générale, des aliments pauvres en acides gras trans et saturés, pauvres également en sodium, mais en revanche riches en potassium, calcium, magnésium, fibres et protéines ⁷³.

Enfin, le régime MIND, un régime dérivé du régime méditerranéen et du régime DASH a été testé lors d'une troisième étude, sur 923 participants, suivis de 2004 à 2013. L'inclusion d'un plus grand nombre d'aliments recommandés par le régime MIND (listés dans le **Tableau 5**) dans le régime alimentaire quotidien était associée à un déclin cognitif moindre que lorsque ces aliments n'étaient pas ou peu inclus. De plus, alors qu'un suivi strict des régimes MIND et méditerranéen était protecteur de manière égale contre le risque de développer la MA, même un suivi plus modéré du régime MIND a entraîné une réduction statistiquement significative de la MA ⁷⁴.

Le régime MIND recommande :

Légumes à feuilles vertes (comme les épinards et les salades) : au moins 6 portions par semaine

Autres légumes : au moins 1 par jour

Noix : 5 portions par semaine

Baies : 2 portions ou plus par semaine

Haricots : au moins 3 portions par semaine

Grains entiers : 3 portions ou plus par jour

Poisson : 1 fois par semaine

Volaille : 2 fois par semaine

Huile d'olive : à utiliser comme huile de cuisson principale.

Vin : 1 verre par jour

Le régime décourage :

Viande rouge : plus de 4 portions par semaine

Margarine et beurre : plus d'une cuillère à soupe par jour

Fromage : plus d'une portion par semaine

Pâtisseries et confiseries : plus de 5 portions par semaine

Nourriture frite ou « fast food » : plus d'une portion par semaine

Tableau 5 : Aliments recommandés et déconseillés par le régime MIND. D'après medicinedh.com « Le régime MIND peut aider à prévenir la maladie d'Alzheimer » 2020 ⁷².

En conclusion de cette partie, bien que les régimes alimentaires n'agissent sans doute pas uniquement sur la modulation du cholestérol pour provoquer des effets neuroprotecteurs, et

qu'il faille sans doute reproduire ce type d'études, il est désormais évident que le cholestérol puisse jouer un rôle dans les maladies neurodégénératives, et que sa modulation, ne serait-ce que périphérique, puisse avoir des effets bénéfiques sur la cognition en général.

2) L'utilisation des statines

S'il est possible d'agir sur le métabolisme du cholestérol via l'alimentation, il existe aussi de nos jours des médicaments commercialisés qui permettent de moduler le cholestérol endogène : ce sont les statines.

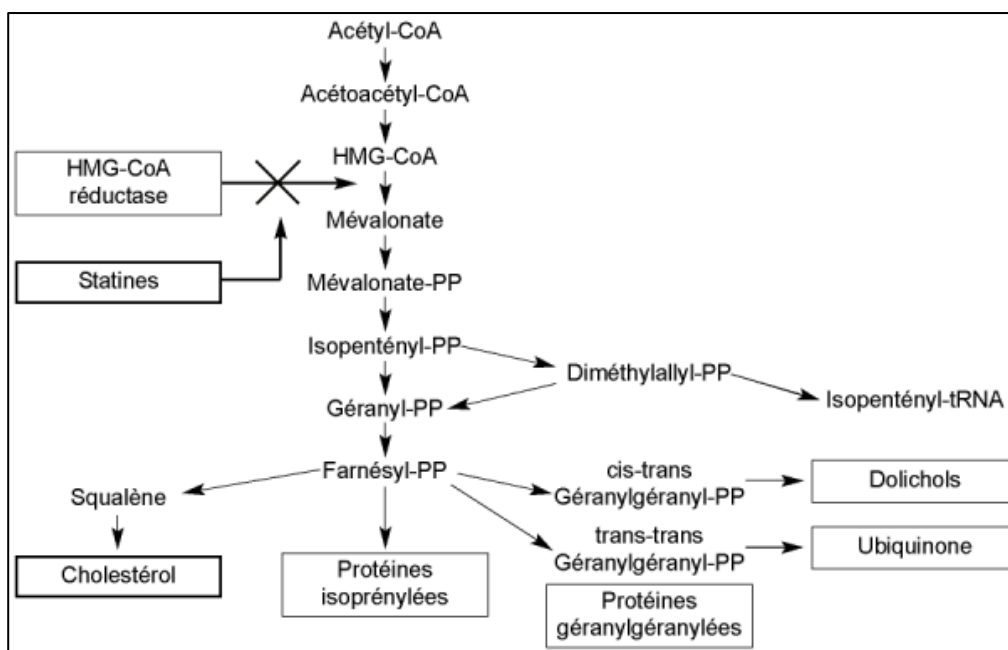


Figure 15 : Illustration du mécanisme d'action des statines par l'inhibition de l'HMG-CoA réductase. D'après Scheen et Sadzot. (2005) ⁷³

Les statines sont une classe de médicaments qui agissent en inhibant l'enzyme médiant l'étape-limitante de la synthèse du cholestérol : l'HMG-CoA réductase (**Figure 15**). Elles limitent ainsi la cholestérolémie, et augmentent le nombre de récepteurs aux LDL hépatiques, ainsi que leur activité ^{75,76}. Les statines utilisées seules ont une AMM pour la prise en charge des :

- Hypercholestérolémies,
- Hyperlipidémies mixtes,
- Patients à haut risque cardiovasculaire

Elles sont aussi utilisées en association pour la prise en charge de patients à haut risque cardiovasculaire ⁷⁶.

Outre cette action sur la cholestérolémie, les statines auraient également un effet positif sur d'autres maladies neurodégénératives, comme la MA, ou en général sur le déclin cognitif. En effet, il existe plusieurs études documentant un **lien protecteur** des statines contre le **déclin cognitif et la MA**. On peut prendre comme exemple :

- Une étude transversale menée à la fin des années 90 évaluant 3 groupes de patients issus d'hôpitaux américains différents (un groupe correspondant à la population générale, un groupe sous statine, et un groupe traité pour de l'hypertension ou des maladies cardiovasculaires) pour évaluer l'effet des statines sur la prévalence d'une MA probable. Cette prévalence était de 60% à 73% inférieure dans la cohorte prenant des statines par rapport aux autres groupes ⁷⁷.
- Une autre étude réalisée au Royaume-Uni à partir de la base de données « General Practice Research Database » a comparé 284 cas atteints de démence à 1080 cas-témoins. Elle a conclu que les personnes de 50 ans et plus à qui des statines avaient été prescrites avaient un risque considérablement réduit de développer une démence, indépendamment de la présence ou de l'absence d'hyperlipidémie non traitée, ou de l'exposition à d'autres agents hypolipidémiants ⁷⁸.

D'un autre côté cependant, il existe d'autres études qui elles questionnent le lien entre statines et amélioration cognitive. On peut notamment citer :

- L'étude PROSPER. Elle a visé spécifiquement 5804 personnes âgées (70-82 ans) avec un antécédent ou des facteurs de risques vasculaires. Les bénéfices de l'Atorvastatine ont été évalués en intention de traiter versus placebo, avec un suivi moyen de 3,2 ans. Il a été conclu que la pravastatine n'avait eu aucun effet significatif sur la fonction ou la déficience cognitive ⁷⁹.
- La très large étude « MRC/BHF Heart Protection Study » qui a inclus 20 536 patients anglais, dont 5806 personnes âgées. Elle a évalué les effets cette fois de la Simvastatine dans la protection des maladies cardiovasculaires sur une durée de 5 ans. Là encore, aucune différence en termes de déclin cognitif n'a été observée entre les patients sous Simvastatine et ceux sous placebo ⁸⁰.

Concernant les essais sur **la maladie d'Alzheimer cette fois établie**, les résultats sont là aussi ambivalents :

Ainsi l'étude préliminaire «Alzheimer Disease Cholesterol-Lowering Treatment» réalisée en double aveugle, versus placebo, visant à évaluer les bénéfices potentiels de l'Atorvastatine (donnée à 80 mg/jour) chez 63 patients de plus de 50 ans atteints de MA légère à modérée et présentée au Symposium international de Springfield à Montréal, en avril 2004, a révélé que 12 mois de traitement à la simvastatine avaient un effet bénéfique sur la cognition chez les patients atteints de MA ⁸¹.

L'étude LEADe, multicentrique, en double aveugle et randomisée, a été réalisée par la suite et a suivi pendant 72 semaines cette fois 640 participants âgés de 50 à 90 ans. Evaluant elle aussi les effets de l'Atorvastatine à 80mg/ jour sur la maladie d'Alzheimer établie (légère à modérée) n'a, elle, pas démontré de bénéfice clinique de cette statine sur la MA ⁸².

En conclusion, les statines n'ont pas apporté de preuve concluante de leur efficacité sur les fonctions cognitives ainsi que sur la MA. Il existe peut-être un lien effectif entre hypercholestérolémie périphérique et maladies neurodégénératives, mais ce-dernier reste encore à prouver, d'autant plus que le cholestérol ne traverse *a priori* pas la BHE non lésée. Si les médicaments de thérapie classique hypocholestérolémiants peinent à démontrer un réel effet, c'est donc peut-être parce qu'ils n'agissent qu'en périphérie. De plus, ce type de traitements n'a montré aucun bénéfice en termes de remyélinisation du SNC. Ainsi, des médicaments plus à même de cibler le cholestérol du SNC auraient plus de chances d'avoir une efficacité sur les mécanismes de neurodégénération.

II) Les stratégies de thérapie génique développées autour de CYP46A1

Il existe aujourd'hui des stratégies de thérapies géniques visant des enzymes-clés du métabolisme du cholestérol au sein du SNC à l'étude. Plus ou moins avancées, elles visent à traiter plus spécifiquement que les thérapies classiques certaines pathologies démyélinisantes ou neurodégénératives du SNC. Une des stratégies les plus à l'étude est la thérapie génique introduisant une enzyme-clé de la régulation des concentrations en cholestérol du SNC : CYP46A1 (cf partie 2).

1) Maladie de Huntington

La maladie de Huntington est associée à des anomalies du métabolisme du cholestérol avec des taux d'enzymes et de précurseurs (lanostérol et lathostérol) impliquées dans la biosynthèse du cholestérol diminués ⁸³.

Une étude de 2016 a ainsi démontré que le knockdown de CYP46A1 dans les striatums murins reproduit la dégénération neuronale et motrice typique de la maladie de Huntington. De même, les taux de l'enzyme CYP46A1 sont diminués à la fois dans le striatum de souris modélisant la maladie (souris R6/2), mais aussi également dans le putamen de patients touchées par cette maladie (prélevés en *post mortem*) ⁸⁴. Chez les souris R6/2, des déficits moteurs et d'apprentissage apparaissent très tôt, et deviennent plus important par la suite. En parallèle, leur poids baisse également avec l'âge ⁸⁵. Dans ce même modèle murin, un AAVr portant le gène codant pour CYP46A1, délivré dans le striatum, a permis de diminuer l'atrophie neuronale et la quantité d'agrégats protéiques, tout en permettant une amélioration des déficits moteurs ⁸⁴.

Cette amélioration a été corrélée avec une augmentation des taux de 24-hydroxycholestérol, ainsi qu'une restauration de taux normaux de cholestérol et de lanostérol. La quantité d'un autre produit du cycle du cholestérol ayant été démontré comme étant neuroprotecteur, le desmostérol, a été également augmenté (**Figure 16**) ⁸⁴.

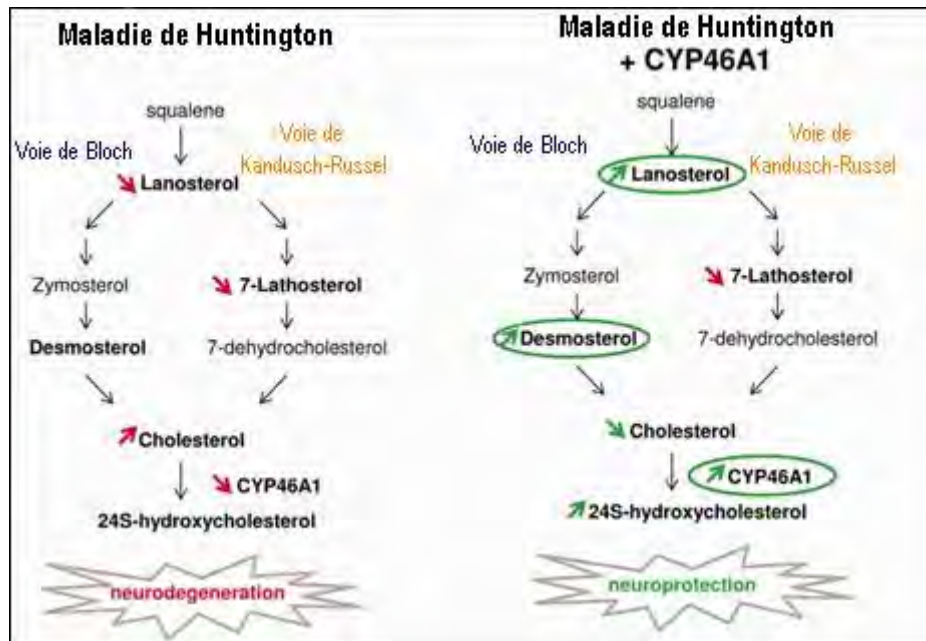


Figure 16 : Régulation de l'homéostasie du cholestérol par CYP46A1. D'après Boussicault, L. et al. (2016).

Gauche : Malgré une diminution de lanostérol et de 7-lathostérol, le cholestérol est augmenté légèrement à cause de la baisse d'expression de CYP46A1. Droite : la restauration de CYP46A1 permet le catabolisme du cholestérol. On note donc une baisse de la quantité de cholestérol, ainsi qu'une augmentation du lanostérol et du desmostérol, ce-dernier étant neuroprotecteur.

Les résultats de cette première étude concordent donc pour prouver que la restauration de niveaux normaux de CYP46A1 peut avoir un grand intérêt thérapeutique pour la MH en augmentant le recyclage du cholestérol ainsi que l'activité de la voie de Bloch.

En 2019, la même équipe a démontré qu'une stratégie de thérapie génique impliquant une injection bilatérale dans le striatum dorsal d'un vecteur viral adéno-associé de sérotype rh10 (AAVrh10), contenant le gène codant pour CYP46A1 (**Figure 17**), prévenait la dysfonction neuronale et permettait une restauration de l'homéostasie du cholestérol (en augmentant les taux de précurseurs et de 24-hydroxycholestérol, le produit de dégradation du cholestérol) sur des souris zQ175, un modèle murin de la MH. Ces souris expriment la séquence de l'exon 1 de la huntingtine humaine, avec un tractus répété de 190 CAG, reproduisant ainsi la maladie au niveau génétique ⁸⁶.

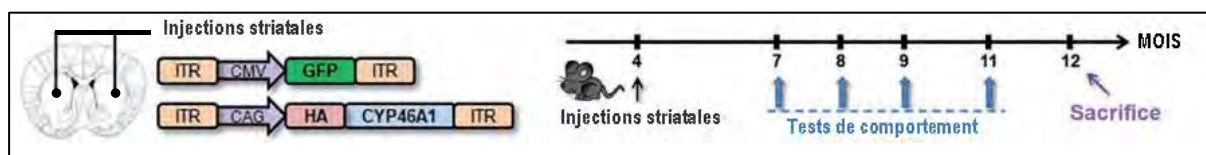


Figure 17 : Configuration expérimentale pour l'expression striatale de CYP46A1 et les points de contrôles des tests d'évaluations phénotypiques. Le gène CYP46A1 est porteur d'une étiquette hémagglutinine (HA), et soumis au promoteur CAG. Le gène GFP est un vecteur-témoin soumis au promoteur CMV. D'après Kacher et al. (2019) ⁸⁴

De plus, l'activité locomotrice, la fréquence de levé sur les pattes arrière, et la performance au test du Rotarod évaluées aux âges de 7, 8, 9 et 11 mois étaient restaurées chez les souris injectées avec CYP49A1, tandis qu'elles déclinaient chez les souris zQ175 homozygotes et hétérozygotes (**Figure 17**). Ces événements ont été associés à une stimulation du protéasome et de l'autophagie, deux processus qui participent à la clairance de l'huntingtine mutante ⁸⁶.

En conclusion de cette étude, l'équipe a démontré qu'une seule administration de leur vecteur permettant une expression de CYP46A1 dans le striatum a produit une régulation globale du métabolisme du cholestérol et permis une amélioration de longue durée du comportement des souris traitées ainsi que de leur fonction neuronale.

En 2020, une nouvelle étude a démontré, sur un modèle cette fois cellulaire de maladie de Huntington, que le bénéfice thérapeutique lié à l'action de CYP46A1 était dû à son action réductrice de la quantité et de la taille des agrégats intracellulaires de Huntingtine mutante, et suggérerait qu'une activation du phénomène d'autophagie serait bien en cause ⁴³.

Le vecteur contenant CYP46A1 testé dans ces études, initialement développé par la société Brainvectis, constitue de nos jours un grand espoir de traitement de la maladie de Huntington. Brainvectis a été acquise au cours de l'année 2020 par Asklepios BioPharmaceutical afin de faire progresser son candidat-médicament vers les essais cliniques ⁸⁷. Ces découvertes très encourageantes au niveau pré-clinique sont donc désormais à confirmer au niveau clinique.

2) Maladie d'Alzheimer

Concernant la MA, une thérapie génique évoluant le potentiel thérapeutique du gène codant pour CYP46A1 a été testée en 2010 par Hudry, Eloise et al. chez deux types de souris. L'injection du vecteur se réalisait directement dans le cortex et l'hippocampe ⁸⁸.

Pour les souris APP23, un modèle de la MA, l'injection avait lieu avant le début du dépôt des plaques amyloïdes. Concernant les effets biologiques, l'équipe a noté une importante réduction des peptides A β , des dépôts amyloïdes et des oligomères trimériques chez les souris âgées de 12 mois. La microgliose et l'astrogliose étaient également diminuées ⁸⁸.

Cette surexpression de CYP46A1 n'était associée ni à une diminution de la quantité de cholestérol cérébral et du cholestérol estérifié, ni à une modification de l'expression des gènes régulant le métabolisme du cholestérol.

Il est intéressant de noter qu'au contraire, lorsque CYP46A1 est inhibé dans les souris APP23, la production de peptides β -amyloïdes, ainsi que la mort neuronale sont augmentées par rapport aux souris normales ⁸⁹.

Concernant les effets cliniques de la surexpression de CYP46A1, une amélioration de la mémoire spatiale chez ces mêmes souris âgées de 6 mois a été observée et évaluée par le test du labyrinthe de Morris ⁸⁸.

Pour les souris « amyloid precursor protein/presenilin 1 » (APP/PS), l'injection était cette fois réalisée **après** le début des dépôts amyloïdes. L'équipe a ainsi évalué, 3 mois après l'injection, qu'il y avait une réduction importante des dépôts amyloïdes dans l'hippocampe, ainsi qu'une réduction moins marquée dans le cortex, mesurées toutes les deux 3 mois après injection ⁸⁸.

Dans une publication de 2015, Djelti, Fathia et al. ont déterminé qu'une augmentation du cholestérol dans les neurones in vivo contribuait à la neurodégénération.

Tout d'abord, ils ont démontré que, chez des souris de type sauvage, cette augmentation du cholestérol menait à des déficits cognitifs, ainsi qu'à une atrophie de l'hippocampe, à cause de la mort neuronale. Avant l'apoptose des neurones, ils ont aussi constaté que le recrutement du précurseur du peptide β -amyloïde au niveau des radeaux lipidiques était augmenté, menant de ce fait à une augmentation de la production des peptides β -amyloïdes.

De même, une phosphorylation anormale de la protéine Tau, ainsi qu'un stress du reticulum endoplasmique ont été observés ⁸⁹.

3) Ataxies spinocérébelleuses

Les ataxies spinocérébelleuses (AS) sont un groupe hétérogène de maladies neurodégénératives, tant au niveau génétique (récessif ou dominant, autosomique ou lié à l'X), qu'au niveau phénotypique, avec une grande diversité de présentations cliniques. Ce sont des maladies rares, avec une prévalence autour de 1-9 patients atteints / 100 000. La forme la plus répandue est l'ataxie spinocérébelleuse de type 3 (AS3), encore appelée maladie de Machado-Joseph, est cependant l'ataxie la plus répandue dans le monde.

Elles sont néanmoins toutes caractérisées par une dégénérescence progressive du cervelet donnant lieu à un syndrome cérébelleux. Cette dégénérescence peut aussi inclure la rétine le nerf optique, les systèmes ponto-médullaires, les ganglions de la base, le cortex cérébral, les fibres médullaires et les nerfs périphériques, et être associé à une épilepsie ⁹⁰.

Il n'existe aujourd'hui aucun médicament pouvant soigner efficacement ces maladies. Les traitements sont tout au plus symptomatiques et visent à soulager le patient. Il existe cependant quelques essais cliniques autour de ces ataxies, afin d'explorer l'efficacité contre ces dernières ⁹¹ :

- de modulateurs glutamatergiques (Troriluzole, Riluzole) ;
- d'un bloqueur de canal potassique utilisé dans la sclérose en plaque (Dalfampridine) ;
- du carbonate de lithium ;
- d'un agoniste partiel des récepteurs nicotiniques du système nerveux central utilisé pour le sevrage tabagique (Varenicline) ;
- d'une solution d'immunoglobulines humaines normales (GAMMAGARD LIQUID 10% solution) ;

Dans une publication de 2019, une équipe menée par Nathalie Cartier-Lacave a exploré l'importance de CYP46A1 pour l'AS3 ⁹². Ainsi, cette enzyme est diminuée dans un modèle murin de cette maladie (le modèle SCA3/MJD), ainsi que dans des échantillons de cerveau de patients atteints de cette dernière. Afin d'aller plus loin, l'équipe a ensuite évalué si le fait de

restaurer l'expression de CYP46A1 dans un modèle murin lentiviral d'AS3 avait un quelconque bénéfice sur la maladie. Ce modèle permet d'induire l'AS grâce à une injection stéréotaxique dans le striatum d'un vecteur lentiviral codant pour la protéine mutée d'ataxine-3 (ATXN3). Après avoir permis la réexpression grâce à une co-injection dans le striatum d'un AAVrh10 codant pour CYP46A1, l'accumulation d'ATXN3 a été réduite et les marqueurs neuronaux préservés par rapport au groupe-contrôle. Ce groupe-contrôle avait quant à lui reçu une co-injection de vecteurs lentiviraux codant pour l'ATXN3 ainsi qu'un vecteur-contrôle codant pour la GFP (**Figure 18**). Cette réduction serait réalisée grâce à l'activation du phénomène d'autophagie par CYP46A1 ⁹².

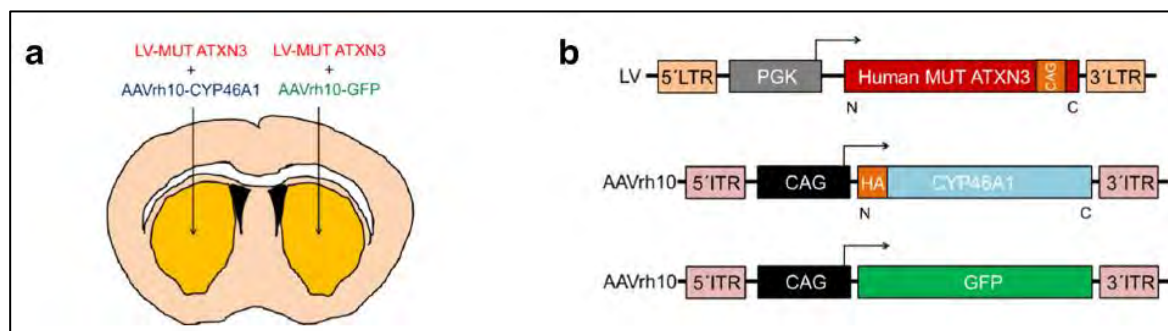


Figure 18 : Représentation schématique de la procédure de co-injection striatale de vecteurs lentiviraux encodant la protéine mutante ATXN3 avec soit un AAVrh10 codant pour CYP46A1 (ce gène étant porteur d'une étiquette HA), soit le contrôle AAVrh10 codant pour GFP. D'après Nóbrega, Clévio et al. (2019) ⁹²

Chez des souris SCA3 Q69, un modèle murin transgénique d'AS3 caractérisé par une apparition précoce de la maladie ainsi que des phénotypes moteurs et neuropathologiques sévères, l'équipe a également démontré qu'une injection stéréotaxique de ce même vecteur lentiviral était fortement neuroprotecteur pour ces souris **ayant déjà une pathologie établie**. Là encore, CYP46A1 permettait de réduire l'accumulation d'ATXN3, mais aussi d'améliorer les déficits moteurs, ainsi que la neuropathologie.

Il est enfin intéressant de noter qu'au contraire, quand l'équipe a inhibé l'expression de CYP46A1 chez des souris de phénotype sauvage, les résultats ont été bien sûr une perturbation du métabolisme du cholestérol, mais cela induisait également chez ces souris un phénotype proche de l'AS3, avec des déficits moteurs, ainsi qu'une neurodégénération et une détérioration du système endosomal-lysosomal.

Enfin, la baisse d'expression de CYP46A1, bien qu'accompagnée qu'une diminution de 24-OH cholestérol, ne permettait pas de mettre en évidence une variation de la concentration en cholestérol totale dans le SNC dans les souris AS3. Cela s'explique par le fait que l'homéostasie se maintient grâce à la réduction de la synthèse de cholestérol. Plus que de causer une modification de la concentration en cholestérol total, CYP46A1 permettrait donc une redistribution de ce lipide au sein des compartiments cellulaires (par exemple, les variations d'expressions de CYP46A1 peuvent être mises en évidence par un changement du contenu en cholestérol des radeaux lipidiques présents dans les membranes cellulaires, *in vitro* et *in vivo*)⁹².

En conclusion de cette étude, la thérapie génique par un vecteur viral codant pour CYP46A1 serait une option thérapeutique intéressante pour soigner l'AS3, mais également potentiellement d'autre ataxies, car cette équipe a également démontré *in vitro*, que ce même vecteur a permis de réduire l'accumulation cette fois d'ataxine-2 mutée.

III) Les stratégies de thérapie génique développées autour de ApoE2

Les différents allèles de l'apolipoprotéine E constituent des facteurs de risques ou de protection importants contre la MA, c'est pourquoi pour le moment leurs potentiels bénéfices thérapeutiques ont surtout été explorés pour cette maladie.

Ainsi en 2005, une équipe a démontré qu'une injection intracérébrale d'un vecteur lentiviral codant pour différentes isoformes d'ApoE altèrerait différemment le contenu en peptides amyloïdes β , ainsi que la quantité de plaques amyloïdes dans l'hippocampe de souris PDAPP, un modèle murin de la maladie d'Alzheimer⁹³. Ainsi, ApoE4 augmentait la concentration en peptides A β et le nombre de plaques, tandis qu'ApoE2 permettait de limiter la quantité de plaques amyloïdes⁹³.

Cette stratégie a été répliquée, et l'effet protecteur de ApoE2 redémontré premièrement par Hudry et al. en 2013⁹⁴. Ces derniers avaient alors utilisé un AAVr de sérotype 4 et délivré ApoE2 dans le liquide cérébrospinal du ventricule latéral de souris surexprimant une protéine-précurseur mutante du peptide amyloïde. Ils ont ainsi démontré que ApoE2 permettait de diminuer la quantité d'oligomères A β dans le liquide interstitiel et de baisser la formation de

plaques amyloïdes. De même, la perte de synapses autour des plaques et les neurites dystrophiques étaient atténués par ApoE2 ⁹⁴.

La stratégie a été répliquée une seconde fois par Zhao et al. en 2016 ⁹⁵. Ces-derniers ont alors démontré l'efficacité de l'injection intrathalamique d'un vecteur AAVrh.10 codant pour l'ApoE2 humaine dans un autre modèle murin de MA (le modèle APP.PS1.TRE4). L'équipe a ainsi démontré que l'apport d'ApoE2 permettait de réduire la quantité de peptides A β solubles et insolubles, de même que le fardeau amyloïde. Il est intéressant de noter que la réduction des dépôts amyloïdes a été conditionnée par la dose de vecteur injectée, la quantité d'ApoE2 produite ainsi que l'état pré-existant de la pathologie amyloïde ⁹⁵.

Plus récemment, en 2018, la sécurité, ainsi que différentes voies d'administration de cette thérapie ont été explorées et analysées plus en détails par Rosenberg J. B. et al. ⁹⁶. Pour se faire, ces derniers ont utilisé un AAVrh.10 codant pour l'ApoE2 humaine (**Figure 19**).

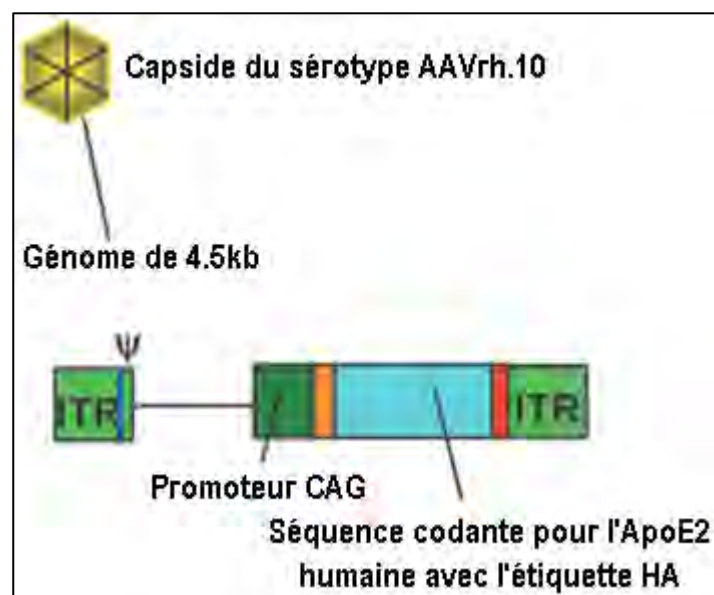


Figure 19 : Schéma du vecteur AAVrh.10 codant pour l'ApoE2 humaine, étiquetée avec HA. Adapté de Jonathan B. et al. (2018) ⁹⁴

Ce modèle de vecteur ayant déjà fait ses preuves cliniquement, l'équipe a cherché à déterminer dans un modèle de primate non-humain, quelle était la voie d'administration la plus sûre et permettant la meilleure expression d'ApoE2 dans le SNC, parmi 3 différentes options : la voie parenchymale, la voie intracisternale, ainsi que la voie intraventriculaire. Après une évaluation performée 2 mois post-injection, la voie intracisternale s'est révélée être

la meilleure option d'administration. En effet, l'injection se faisant dans la grande citerne, non seulement il s'agissait de l'option la moins invasive, mais elle permettait également une expression généralisée d'ApoE2 dans le SNC ⁹⁶.

Cependant, comme décrit en partie 3, les vecteurs viraux ne sont pas la seule option d'administration d'un transgène. De plus, les 3 voies explorées précédemment restent invasives pour un patient, et sont délicates à réaliser, contrairement à une injection systémique. Dos Santos Rodrigues, Bruna et al. ont ainsi réalisé une étude en 2019 explorant l'efficacité d'une administration par voie systémique de liposomes renfermant des plasmides codant pour ApoE2. Les liposomes étiquetés par 2 ligands (transferrine et pénétratine) ont pu traverser la BHE et permettre une augmentation significative de l'expression d'ApoE2 dans le cerveau des souris injectées ⁹⁷.

Cette dernière expérience, associée aux autres, montre que la thérapie génique par ApoE2 pourrait, dans les prochaines années, faire partie de l'arsenal thérapeutique contre la MA, même si des essais cliniques doivent être lancés, afin d'évaluer leur bénéfice potentiel directement sur l'Homme.

IV) Les stratégies de remyélinisation du SNC

Jusqu'ici, n'ont été évaluées que des stratégies de thérapie génique ciblant le métabolisme du cholestérol d'une manière générale. Le fait de manipuler la circulation et la distribution du cholestérol au sein du SNC a des effets bénéfiques sur les maladies neurodégénératives, en améliorant les symptômes moteurs, neurologiques, et ayant des effets neuroprotecteurs, car beaucoup de ce type de maladies ont une perturbation de ce métabolisme. Cependant, la thérapie génique, pourrait également avoir des effets importants sur les maladies démyélinisantes sur SNC pour lesquelles une perturbation du métabolisme du cholestérol n'a pas forcément encore été mise en évidence, en agissant également sur les mécanismes de remyélinisation du SNC.

En effet, comme décrit plus tôt, la myéline est riche en cholestérol, et l'accumulation de débris de myéline qui survient lors des phénomènes de démyélinisations est neurotoxique et prévient aussi la remyélinisation qui permettrait au SNC de se régénérer correctement ⁹⁸.

Or, cette capacité de remyélinisation est diminuée dans les organismes âgées, et est également dépendante de la concentration dans le SNC de transporteurs du cholestérol, comme ApoE, mais également ABCA1 and ABCG1.

C'est ainsi que Cantuti-Castelvetri, Ludovico et al. dans leur publication de 2018 au sein de la revue *Science* ont démontré que la stimulation du transport inverse du cholestérol était suffisante pour restaurer la capacité des vieilles souris qu'il étudiaient à remyéliniser les parties lésées de leur SNC ⁹⁸.

En effet, les débris de myéline, une fois phagocytés par les macrophages, doivent être éliminés par ces derniers. S'ils ne parviennent pas à se débarrasser de leur surcharge en lipides, le cholestérol qu'ils ont phagocyté cristallise, provoquant ainsi la rupture de la membrane phagolysosomale et stimulant l'inflammation. Grâce à l'action des transporteurs du cholestérol, parmi lesquels ApoE, le cholestérol est éliminé du cytoplasme des macrophages et remis en circulation, permettant ainsi une clairance efficace des débris de myéline et secondairement une remyélinisation plus efficace du SNC ⁹⁸.

Les apolipoprotéines participant à la circulation du cholestérol pourraient donc être des cibles thérapeutiques pour une thérapie génique cherchant à agir sur les mécanismes de remyélinisation.

Le potentiel régénérateur d'une telle thérapie a été confirmé dans la publication de Voskuhl et al. en 2019 ⁹⁹. Cette équipe a démontré que les gènes de synthèse du cholestérol se trouvaient être les voies les plus régulées à la hausse dans les cellules de la lignée oligodendrocytaire pendant la phase de remyélinisation dans deux modèles murins. Le premier est un modèle murin de SEP, le modèle d'encéphalomyélite auto-immune expérimentale (EAE). Le second modèle murin est produit en exposant des souris à la cuprizone, ce qui cause chez ces animaux des dommages axonaux ⁹⁹.

La cuprizone est une toxine qui permet de modéliser la SEP en provoquant une démyélinisation par l'induction de la mort sélective d'oligodendrocytes. La phase de démyélinisation est ensuite suivie d'une remyélinisation spontanée. La cuprizone peut être incorporée dans la nourriture, ce qui la rend simple d'utilisation ¹⁰⁰. Au contraire, le modèle d'EAE est un modèle de démyélinisation à médiation immunitaire, plus complexe, et n'étant

pas suivi d'une remyélinisation spontanée. Celui-ci permet d'imiter la sclérose en plaques et a déjà conduit à la commercialisation de médicaments approuvés par la Food and Drug Administration ¹⁰¹.

Il est finalement intéressant de noter que cette équipe a traité les modèles de souris avec deux molécules différentes : un agoniste sélectif de Erβ, le Diarylpropionitrile ou un agoniste de ABCA1, la molécule CS-6253 ⁹⁹ (cette seconde uniquement pour le modèle d'EAE).

L'agoniste sélectif de Erβ a, au sein du modèle cuprizone, augmenté les voies de synthèse du cholestérol et amélioré la remyélinisation par rapport au traitement témoin par véhicule. En outre, dans le modèle EAE, le traitement a également augmenté l'expression de gènes de la voie de synthèse du cholestérol dans les oligodendrocytes et en plus induit une remyélinisation ⁹⁹.

L'agoniste de ABCA1 a augmenté les voies de synthèse du cholestérol dans les astrocytes, ainsi que le nombre d'axones sains le nombre de synapses dans le modèle d'EAE mais n'a pas augmenté la remyélinisation en elle-même ⁹⁹.

Ces études révèlent les effets complémentaires de ces deux approches ainsi que le potentiel d'une thérapie ciblant le métabolisme du cholestérol sur la remyélinisation du SNC suite à une lésion d'origine toxique ou immunitaire.

V) Contextualisation de cette stratégie de thérapie génique : l'exemple de la maladie d'Alzheimer

La médecine est un univers en perpétuelle évolution, de nouvelles thérapies sont recherchées constamment, aussi il est important de contextualiser cette stratégie, ainsi que la thérapie génique en général, face aux candidats-médicaments encore en phase de recherche.

1) La recherche clinique des thérapies classiques autour de la maladie d'Alzheimer

La MA s'agit sans doute de la maladie neurodégénérative avec un des plus gros efforts de recherche. Il existe de nos jours une poignée de candidats-médicaments qui sont au stade de recherche clinique, parfois même en phase 3 (**Tableau 6**).

Nom des molécules	Famille de molécules	Mécanisme d'action	Essais cliniques menés	Résultats
Semagacestat	Inhibiteur des enzymes γ -sécrétase	Inhibition de la production du peptide β -amyloïde (produit par clivage du précurseur)	Phase III : IDENTITY (NCT00594568) et IDENTITY-2 (NCT00762411)	La molécule a échoué à ralentir la progression de la MA, et était associée à une « aggravation des mesures cliniques de la cognition et de la capacité à effectuer les activités de la vie quotidienne », ainsi qu'à un risque accru de cancer de la peau, par rapport au groupe placebo ¹⁰² .
Elenbecestat	Inhibiteur de β -sécrétases	Inhibition de la production du peptide β -amyloïde (produit par clivage du précurseur)	Phase III : MISSION AD1 (NCT02956486) et MISSION AD2 (NCT03036280)	Balance bénéfique/risque défavorable ¹⁰³ .
Aducanumab	Anticorps anti-myéloïde	Se lie aux fibrilles de protéine bêta-amyloïde, les empêchant de former des plaques, et active leur clairance via la microglie	Phase III : EMERGE et ENGAGE	ENGAGE : manque d'efficacité EMERGE* : le déclin cognitif a été réduit significativement de 23% dans le groupe à dosage élevé (10mg/kg) par rapport au groupe placebo
TRx0237 (LMTX™)	Inhibiteur d'agrégation de Tau	Préviennent l'agrégation de la protéine Tau ou dissolvent les amas. Limitent de ce fait la	TRx-005 (NCT01689233) et TRx-015	Pour un sous-ensemble de patients (environ 15%) qui prenait du LMTX en monothérapie :

		toxicité de cette accumulation impliquée dans la pathogenèse de plusieurs maladies neurodégénératives, dont la MA fait partie ¹⁰⁸ .	(NCT01689246) **	diminution significative du taux de progression de la maladie par rapport au placebo. Le niveau d'atrophie cérébrale a ralenti de 33 à 38% dans ce groupe par rapport au placebo ^{109,110} Aucune amélioration dans les groupes de patients prenant déjà un traitement anti-Alzheimer.
Gosuranemab, Semorinemab, Zagotenemab, et C2N 8E12	Anticorps monoclonaux anti-Tau	Inhibition de l'agrégation de Tau	Etudes de phase II	En cours
AADvac1	Anti-Tau	Vaccin actif destiné à provoquer une réponse immune contre les formes pathologiques de Tau ¹¹² .	Etudes de phase II	En cours

*Le niveau de déclin cognitif et d'autonomie était le critère principal d'évaluation et était mesuré par la « clinical Dementia Rating – sum of box ». Cette amélioration du déclin cognitif a été associée à une forte diminution du peptide amyloïde bêta dans le cerveau des patients traités avec le dosage élevé, **bien qu'une baisse significative de ces plaques a été observées chez les patients traités avec une dose plus faible, sans être associé à une amélioration significative du déclin cognitif** ^{104,105}.

** Les deux essais ont également déterminé que le bénéfice de la dose de 8 mg / jour, initialement utilisée dans le groupe contrôle, était similaire aux doses plus élevées, tout en provoquant moins d'effets secondaires ¹⁰⁹. Un nouvel essai clinique de phase III a donc été lancé en janvier 2018. Nommé LUCIDITY (NCT03446001), il vise à déterminer les bénéfices du LMTX en monothérapie à petite dose (8mg/j) sur la MA. La date d'achèvement de cette étude est prévue en décembre 2022 ¹¹¹.

Tableau 6 : Bilan de la recherche clinique des thérapies classiques autour de la maladie d'Alzheimer

En conclusion, les bénéfices thérapeutiques de ces molécules sont difficiles à mettre en évidence et restent modestes. De plus, un nombre non négligeable d'effets indésirables sont observés : des céphalées (chez 20% des patients) ainsi que des « anomalies de l'imagerie liées à l'amyloïde avec œdème cérébral » (ARIA-E), chez 35% des malades ¹⁰⁵ ont par exemple été

mis en évidence pour l'Aducanunab. Enfin, il s'agit de traitements « atténuateurs », qui ralentissent le cours de la maladie, mais ne la stoppent pas.

L'Aducanumab pourrait cependant être le premier anticorps anti-amyloïde à prouver son utilité dans la maladie d'Alzheimer car avant lui, ce type de traitements échouaient à montrer une quelconque efficacité. Ce dernier est aujourd'hui évalué par la Food and Drug Administration en vue d'une possible mise sur le marché aux Etats-Unis. Faisant actuellement l'objet d'une revue prioritaire, l'organisation devra statuer au plus tard le 7 mars 2021, même s'il est possible qu'elle le fasse avant. Si l'Aducanumab est approuvé, il serait alors **le premier traitement à réduire efficacement la progression de la MA.**

Il est cependant intéressant de noter que, comme dit précédemment, l'efficacité de l'Aducanumab ne semble pas être corrélée à son action contre les plaques amyloïdes.

Devant cette constatation, un nombre croissant de chercheurs avancent la théorie que non seulement les plaques formées de ces peptides ne seraient pas le mécanisme principal dans la pathogenèse de la maladie d'Alzheimer, mais qu'au contraire ces-dernières pourraient bien être un mécanisme de protection du cerveau contre les oligomères bêta-amyloïdes, qui se trouveraient être les réels agents toxiques ^{106,107}. Pire, dans un article paru en 2014 dans la revue BMC Neurology, Castello et al. avancent que ce le fait d'éliminer les plaques amyloïdes pourrait en fait être délétère pour les patients : ces dernières pourraient être en fait un mécanisme d'adaptation du cerveau en réponse à une exposition au long terme à un stress chronique ¹⁰⁷.

Les thérapies non-géniques et les mécanismes d'actions explorés pour traiter la MA semblent donc montrer leurs limites, car se trouvant être peu efficaces et provoquant des effets indésirables. Il est donc crucial de trouver d'autres mécanismes actions pour agir sur cette maladie complexe et multifactorielle qu'est la MA.

2) La recherche clinique des thérapies géniques sur la maladie d'Alzheimer

La recherche en thérapie génique sur les maladies neurologiques en général est également très difficile, pavée d'embûches et de tentatives infructueuses. En 2017, les essais cliniques les concernant ne représentaient que 1.8% des essais de thérapies géniques totaux ¹¹³. En 2020, il n'y a que 2 essais actifs sur des patients atteints de MA, tous les 2 en phase 1. Les études cliniques de thérapie génique ont de particulier qu'elles se déroulent directement sur des malades, et non des volontaires sains, pour des questions éthiques.

a) Thérapie génique contre les patients atteints de MA et homozygotes pour ApoE4 : AAVrh.10hAPOE2

Cet essai clinique (NCT03634007), incluant une quinzaine de patients, est une étude ouverte, à dose variable (8.0×10^{10} gc/kg, 2.5×10^{11} gc/kg ou 8.0×10^{11} gc/kg) cherchant à évaluer un vecteur viral adéno-associé afin de traiter les patients homozygotes pour le gène ApoE4 et diagnostiqués d'une déficience cognitive « subjective ou légère » à une démence « très légère à sévère » causée par la MA. Dans ce protocole, l'injection du vecteur se fait directement dans le liquide cébrospinal.

Cette étude évalue donc chez l'Homme la sécurité et la toxicité (dose maximale tolérée) de l'administration intracisternale d'AAVrh.10hAPOE2, un AAVr de sérotype rh.10 codant pour ApoE2 qui a été décrit plutôt dans cette thèse, directement dans le SNC / LCR des patients. L'étude établira une dose maximale tolérable cherchera à savoir si l'administration directe d'AAVrh.10hAPOE2 conduira à la conversion des isoformes de la protéine de APOE4 à APOE2-APOE4 ¹¹⁴. La date estimée de fin de l'étude est décembre 2021.

b) Thérapie génique Libella pour la maladie d'Alzheimer : AAV- hTERT

Cet essai de thérapie génique (NCT04133454) vise à évaluer la sécurité et la tolérance d'une thérapie génique cherchant à faire exprimer une télomérase active dans des cellules humaines. Cette stratégie, tout comme le fait de cibler le métabolisme du cholestérol, aurait un potentiel d'application pour soigner de nombreuses maladies neurodégénératives liées à l'âge, cependant cette étude se concentre sur la MA. Les patients sont traités avec un AAVr codant pour une télomérase active : AAV- hTERT. ¹¹⁵

Le but, à terme, serait d'augmenter la longueur des télomères afin de retarder, d'inverser ou d'éviter le développement de la MA, avec des bénéfices attendus sur la fonction cognitive et la qualité de vie de ces patients.

Pour ce premier essai, la sécurité ainsi que la tolérance de cette stratégie sont évaluées sur 5 patients atteints de MA ou montrant des signes de début de démence. Une dose de vAAV-hTERT leur est pour cela délivrée en intraveineux ainsi qu'en intrathécal, et les patients sont ensuite suivis pendant 52 semaines. Les objectifs secondaires de cette étude sont ensuite d'évaluer l'efficacité de cette stratégie (habilité à exprimer le gène ainsi qu'à allonger les télomères, effets de l'allongement des télomères sur la MA ainsi que les potentiels autres bénéfices cliniques). La fin de l'étude est prévue pour janvier 2021.

En conclusion de cette partie, des 2 essais de thérapies géniques en cours sur la MA, un vise en particulier le métabolisme du cholestérol via l'introduction d'ApoE2. Même si les résultats sont encore attendus, ce constat est la preuve que la stratégie du ciblage du métabolisme du cholestérol a déjà pu aboutir à un premier candidat-médicament. Des résultats positifs sur cette maladie pourraient encourager la recherche clinique sur d'autres stratégies similaires, ciblant d'autres maladies neurodégénératives et démyélinisantes du SNC.

3) Les bénéfices d'une stratégie de thérapie génique ciblant le cholestérol par rapport aux thérapies classiques ou en recherche clinique

La recherche sur la MA, ainsi que pour les maladies touchant le SNC en général, est très compliquée et a donné lieu à beaucoup de ratés. Cela est dû aux nombreuses difficultés à surmonter pour tout nouveau médicament cherchant à traiter une affection touchant le SNC.

Tout d'abord, les maladies neurodégénératives sont très complexes et multifactorielles. Leur physiopathologie et l'implication des différents acteurs cellulaires sont souvent mal comprises, et les approches pharmacologiques classiques manquent donc de spécificité. Deuxièmement, l'accès au SNC est difficile car la BHE empêche la délivrance du médicament par voie systémique (donc une administration orale ou par injection). Enfin, l'évaluation des résultats cliniques après le traitement est compliquée à mesurer ¹¹⁶.

La MA elle-même étant une pathologie multifactorielle, il est très probable qu'une association de plusieurs traitements agissant sur des mécanismes d'actions différents vont être nécessaires afin de la traiter efficacement.

La thérapie génique, d'une manière générale, offre des solutions aux problèmes auxquels doivent faire face les thérapies classiques. Par exemple au niveau du ciblage, car elle peut être adaptée pour modifier spécifiquement l'expression génique, inverser le phénotype de la maladie, et restaurer une fonction normale ¹¹⁷. Elle offre également la possibilité de soigner des maladies avec une seule injection, ce qui est un bénéfice énorme par rapport aux thérapies classiques qui sont à prendre au long cours, quand elles existent. Enfin, la thérapie génique permet de remplacer une administration répétée de protéines, de facteurs de croissance ou d'hormones par exemple.

Ces derniers sont alors synthétisés directement sous le contrôle du transgène, offrant une bien meilleure pharmacocinétique, lorsqu'elle se produit à concentration suffisante. Cette sécrétion, stable et prolongée, permet alors d'éviter les pics de concentration liés à l'injection répétée de la protéine, et de diminuer le risque de désensibilisation des récepteurs ¹¹⁸.

La stratégie de ciblage du cholestérol offre des avantages également. Tout d'abord, il s'agit d'une stratégie originale, car l'action se fait sur une voie métabolique n'ayant pas encore fait l'objet de médicaments pour le SNC. Cela ouvre beaucoup de perspectives à explorer, notamment en termes de gènes et de maladies à cibler. La précision de ces 2 points nécessitera bien sûr l'appui d'un gros effort de recherche fondamentale et pré-clinique. De plus, cette stratégie possède un énorme potentiel, car elle pourrait possiblement cibler plusieurs maladies. En effet, le dérèglement du métabolisme du cholestérol et la démyélinisation ne sont pas des phénomènes spécifiques d'une pathologie, comme il a été mentionné plus tôt dans cette thèse. Cela différencie cette stratégie de beaucoup d'autres, encore en cours de recherche ou déjà sur le marché. Enfin, une quantité non-négligeable de travaux de recherches pré-cliniques réussies ainsi qu'une étude clinique actuellement en cours renforcent la solidité de cette approche.

Conclusion

En conclusion, le fait de cibler le métabolisme du cholestérol est une stratégie innovante et prometteuse, pour soigner les maladies neurodégénératives et démyélinisantes du SNC. Pour ces dernières il n'existe aucune solution thérapeutique à visée curative, ou même une véritable option thérapeutique satisfaisante. En effet les thérapies classiques ont plutôt pour but de soulager les symptômes ou de ralentir le cours de la maladie.

Le fait d'améliorer la circulation et l'élimination du cholestérol au sein du SNC pourrait permettre de restaurer son métabolisme. En effet, il a été prouvé que ce dernier est altéré dans plusieurs de ces pathologies, et une restauration de celui-ci a pu apporter une amélioration des symptômes moteurs et neurologiques dans plusieurs modèles animaux de pathologies neurodégénératives. Une élimination correcte du cholestérol est également cruciale pour éviter l'engorgement des macrophages au sein d'une lésion de démyélinisation, ainsi que le phénomène d'inflammasome qui prévient une remyélinisation correcte.

Une telle stratégie aurait donc des possibilités d'application multiples, avec pour un même produit de thérapie génique, plusieurs indications possibles, car l'homéostasie du cholestérol est un phénomène crucial à la bonne santé du SNC.

Un premier essai de thérapie génique, impliquant le gène d'ApoE2, est aujourd'hui à l'étude pour traiter une forme particulière de la maladie d'Alzheimer. Des résultats sont attendus en 2021 et pourraient permettre d'ouvrir la voie à une toute nouvelle classe thérapeutique.

La thérapie génique pourrait devenir une option de soin courante d'ici à quelques années. En effet, il existe de nos jours un gros effort de recherche sur les médicaments de ce type, de plus, profitant des dernières avancées en termes de sécurité d'utilisation de vecteurs viraux, plusieurs médicaments ont déjà été mis sur le marché ces dernières années. On dénombre ainsi de plus en plus de thérapies géniques arrivant sur le marché, la vaste majorité utilisant des vecteurs viraux (**Tableau 7**)^{119, 120}.

Nom	Date de mise sur le marché	Pays	Type de molécule	Indication
Gendicine	2003	Chine	Adénovirus recombinant	Cancers de la tête et du cou
Oncorine	2005	Chine	Virus oncolytique	Cancers nasopharyngés réfractaires, en combinaison avec une chimiothérapie
Glybera *	2012	Europe	AAVr	Déficit familial en lipoprotéine lipase
Imlygic	2015	Etats-Unis et Europe	Vecteur dérivé de l' <i>Herpes simplex</i> de type 1	Mélanome métastatique non résecable
Strimvelis**	2016	Europe	Cellules souches CD34+ autologues transduites pour exprimer le gène ADA	ADA-SCID
Zalmoxis	2016	Europe	Cellules T allogéniques modifiées avec un vecteur rétroviral	Rejet de greffe de moelle osseuse
Kymriah	2017	Etats-Unis	CAR T cells	Lymphome aigu touchant les cellules B
Yescarta	2018	Etats-Unis	CAR T cells	Lymphome aigu touchant les cellules B
Luxturna	2017	Etats-Unis	AAVr	Dystrophie rétinienne liée à la mutation RPE65
Zolgesma	2019	Etats-Unis	AAVr	Amyotrophie spinale infantile de type 1
Zynteglo	2015 2019	Etats-Unis Europe	Vecteur lentiviral	β-thalassémie

*Le Glybera a fait l'objet d'un avis négatif de la HAS quant à son remboursement en France. Cette dernière avait ainsi considéré son service médical rendu comme insuffisant compte-tenu de son effet thérapeutique modeste à court et long terme, mais aussi de l'hétérogénéité de la réponse inter-patient, et des incertitudes sur la tolérance à court et moyen terme ¹²¹.

**Strimvelis combine thérapies génique et cellulaire. Il s'agit du premier médicament de thérapie génique *ex vivo* à avoir été mis sur le marché.

Tableau 7 : Liste des médicaments de thérapies géniques sur le marché en 2020.

Les biomédicaments listés précédemment sont des thérapies géniques utilisant des vecteurs viraux, mais il en existe également 2 thérapies géniques non virales actuellement sur le marché ¹²⁰ :

- **Spinraza**. Disponible depuis 2016 aux Etats-Unis et depuis 2017 en Europe, il s'agit d'un oligonucléotide antisens indiqué dans l'amyotrophie spinale.
- **Eteplirsen**. Il s'agit également d'un oligonucléotide antisens disponible depuis 2016 aux Etats-Unis. Il a reçu une approbation accélérée mais révoquée de mise sur le marché dans ce pays. Concernant l'Europe, l'EMA a quant à elle émis un avis défavorable en 2018.

L'utilisation de ces thérapies est cependant très restreinte, malgré l'opportunité qu'elles représentent pour l'industrie pharmaceutique en face d'essoufflement face à la percée des génériques. En effet, pour beaucoup, leur coût demeure prohibitif, de plus leur capacité d'industrialisation reste pour le moment très limitée. La production des biomédicaments étant très complexe, industrialiser leurs procédés de fabrication et de production des biomédicaments sera donc un enjeu majeur pour les prochaines années, afin d'augmenter leur accessibilité, et potentiellement de baisser leur coût ¹²². De plus, la réglementation, notamment française et européennes restent très lourdes et contribuent à ralentir et limiter l'accès aux thérapies géniques.

Enfin, avant même l'étape de mise sur le marché, il reste des obstacles à surmonter afin de développer un produit de thérapie génique visant le SNC qui pourrait par la suite être couramment utilisé.

Tout d'abord, au niveau de la voie d'administration. Il est compliqué de passer la BHE par voie systémique, c'est pourquoi actuellement des méthodes d'administration invasives pour le patient sont utilisées. Les deux thérapies développées en cliniques utilisent actuellement les voies intracisternale et intrathécale, afin d'infuser les vecteurs dans le liquide cébrospinal. Cela permet ainsi une distribution large dans le SNC, ainsi que l'accès à des zones moins accessibles, tout en limitant tout de même l'exposition aux tissus non nerveux. Une autre des voies les plus utilisées, cette fois en pré-clinique, est la microinjection intracérébrale directe, guidée par stéréotaxie. Elle offre la possibilité de pouvoir cibler très précisément des zones

cérébrales, ce qui est un avantage pour traiter les pathologies focales, comme la maladie de Parkinson ¹²³ mais ne permet pas une bonne expression dans le cerveau en entier.

Malheureusement, ces procédures sont délicates, et lourdes pour le patient, car nécessitant pour certaines une intervention chirurgicale complexe (notamment pour les injections intracrânielles), ainsi qu'une équipe spécialisée. Elles constituent donc un frein à l'utilisation à grande échelle d'une thérapie génique pour le SNC, surtout une visant à traiter une large population.

Le ciblage peut également poser problème en limitant l'efficacité d'un vecteur par son impossibilité à rejoindre sa cible. C'est à cause de cette difficulté que dans un essai clinique récent pour la MA, l'administration intraparenchymateuse du vecteur AAV2-NGF n'a pas amélioré la cognition. En examinant 3 cerveaux en post-mortem, il a en effet été démontré que bien que l'expression du gène NGF avait persisté pendant au moins 7 ans, le NGF n'avait pas pu diffuser correctement dans les cerveaux à partir des 15 sites d'injections et n'avait pas ainsi atteint sa cible : les neurones cholinergiques. En raison de cette propagation limitée, il est donc impossible de conclure à l'efficacité de cette thérapie génique ¹²⁴. Le ciblage est donc comme un élément crucial à prendre en compte, et ce-dernier est directement lié à la voie d'administration.

Il apparaît également que l'administration parenchymale ne paraît pas être une voie idéale en clinique pour traiter les maladies touchant une partie importante du SNC. En effet, bien que la distribution parenchymateuse des thérapies géniques puisse être améliorée dans le futur par des administrations guidées par image et améliorées par convection, ces nouvelles techniques nécessitent pour leur application la formation d'un nombre très conséquent de neurochirurgiens hyperspécialisés, afin de garantir l'accessibilité à un grand nombre de personnes de l'injection par voie parenchymale ¹²⁵. Cette contrainte pourrait donc aussi limiter dans le futur l'accessibilité d'une thérapie génique injectée par voie parenchymale.

Les vecteurs viraux de par leur nature, et notamment les AAVr, peuvent également engendrer des réponses immunitaires chez le patient, et limiter le nombre d'injections qu'il est possible de leur donner ¹²⁶, ce qui limite pour le moment également leur utilisation, même si leur tolérance est améliorée de jour en jour.

De même, il ne faut pas oublier la toxicité potentielle de la thérapie génique, qui a pu donner lieu à des arrêts de développement de thérapies géniques prometteuse au stade clinique, aussi bien par le passé que récemment ¹²⁷.

Enfin, pour soigner une maladie par thérapie génique, il ne faut pas perdre de vue le patient. Il faut ainsi soigner ce dernier tôt, afin d'éviter qu'une neurodégénération trop importante ne se produise. De plus, il faut également garder à l'esprit qu'il y a un temps de latence entre l'administration de la thérapie génique, et son effet clinique sur le SNC comme il l'a été démontré pour l'adrénoleucodystrophie, par exemple ¹²⁸. Le dépistage des maladies à un stade précoce est donc crucial pour une stratégie de soin efficace. De même, une trop forte expression génique ne doit pas être délétère. En effet, il est de nos jours difficile de contrôler l'expression génique des vecteurs, une fois délivrés au patient ¹²⁹.

En conclusion, le succès des futures thérapies géniques ciblant le SNC ne pourra se faire qu'avec la poursuite des efforts de recherche afin notamment d'améliorer les moyens d'administration de ces dernières, de pouvoir garantir des vecteurs toujours plus sûrs d'utilisation, ainsi que de mettre au point des tests de dépistages précoces et efficaces. Il y aura également besoin de concertations avec les pouvoirs publics pour mettre en place des campagnes de dépistage à grande échelle, comme elles peuvent déjà exister pour d'autres pathologies, et enfin il faudra également une industrialisation des procédés de fabrication suffisamment efficace pour pouvoir produire ces biothérapies à grande échelle.

Bibliographie

1. myelin (n.d.). Miller-Keane Encyclopedia and Dictionary of Medicine, Nursing, and Allied Health, Seventh Edition. (2003).
2. Wang, S.-S. et al. Myelin injury in the central nervous system and Alzheimer's disease. *Brain Res. Bull.* **140**, 162–168 (2018).
3. Revue générale des troubles démyélinisants - Troubles neurologiques. Édition professionnelle du Manuel MSD <https://www.msmanuals.com/fr/professional/troubles-neurologiques/maladies-d%C3%A9my%C3%A9linisantes/revue-g%C3%A9n%C3%A9rale-des-troubles-d%C3%A9my%C3%A9linisants>.
4. Dean, D. C. et al. Alterations of Myelin Content in Parkinson's Disease: A Cross-Sectional Neuroimaging Study. *PLOS ONE* **11**, e0163774 (2016).
5. Chu, T.-H. et al. Axonal and myelinic pathology in 5xFAD Alzheimer's mouse spinal cord. *PloS One* **12**, e0188218 (2017).
6. Love, S. Demyelinating diseases. *J. Clin. Pathol.* **59**, 1151–1159 (2006).
7. Mayeux, R. & Stern, Y. Epidemiology of Alzheimer Disease. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **2**, a006239–a006239 (2012).
8. Elbaz, A., Carcaillon, L., Kab, S. & Moisan, F. Epidemiology of Parkinson's disease. *Rev. Neurol. (Paris)* **172**, 14–26 (2016).
9. World Population Ageing 2019. 64.
10. Browne, P. et al. Atlas of Multiple Sclerosis 2013: A growing global problem with widespread inequity. *Neurology* **83**, 1022–1024 (2014).
11. Brodal, P. *The Central Nervous System: Structure and Function*. (Oxford University Press, USA, 2004).
12. dendrite (n.d.). Collins Dictionary of Medicine. (2004, 2005).

13. axon (n.d.). Medical Dictionary for the Health Professions and Nursing. (2012).
14. astrocyte (n.d.). Farlex Partner Medical Dictionary. (2012).
15. oligodendrocyte (n.d.). Farlex Partner Medical Dictionary. (2012).
16. Thériault, P. & Rivest, S. Microglia: Senescence Impairs Clearance of Myelin Debris. *Curr. Biol.* **26**, R772–R775 (2016).
17. microglia (n.d.). Miller-Keane Encyclopedia and Dictionary of Medicine, Nursing, and Allied Health, Seventh Edition. (2003).
18. Prinz, M. & Priller, J. Microglia and brain macrophages in the molecular age: from origin to neuropsychiatric disease. *Nat. Rev. Neurosci.* **15**, 300–312 (2014).
19. MD, N. M. B., MD, S. E. F. & MD, C. S. Imaging Anatomy of the Human Brain: A Comprehensive Atlas Including Adjacent Structures. (Springer Publishing Company, 2015).
20. Drake, R. L., Vogl, A. W. & Mitchell, A. W. M. Gray's Anatomy for Students 4th Edition. (Elsevier, 2020).
21. Neuroscience. (Sinauer Associates, 2001).
22. Morell, P. & Quarles, R. H. Characteristic Composition of Myelin. *Basic Neurochem. Mol. Cell. Med. Asp.* 6th Ed. (1999).
23. Min, Y., Kristiansen, K., Boggs, J., Husted, C. & Israelachvili, J. Interaction forces and adhesion of supported myelin lipid bilayers modulated by myelin basic protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **106**, 3154–9 (2009).
24. Goldenberg, M. M. Multiple Sclerosis Review. *Pharm. Ther.* **37**, 175–184 (2012).
25. Melchor, G. S., Khan, T., Reger, J. F. & Huang, J. K. Remyelination Pharmacotherapy Investigations Highlight Diverse Mechanisms Underlying Multiple Sclerosis Progression. *ACS Pharmacol. Transl. Sci.* **2**, 372–386 (2019).
26. Ciccarelli, O. et al. Pathogenesis of multiple sclerosis: insights from molecular and metabolic imaging. *Lancet Neurol.* **13**, 807–822 (2014).

27. Höftberger, R. & Lassmann, H. Chapter 19 - Inflammatory demyelinating diseases of the central nervous system. in *Handbook of Clinical Neurology* (eds. Kovacs, G. G. & Alafuzoff, I.) vol. 145 263–283 (Elsevier, 2018).
28. van der Knaap, M. S., Schiffmann, R., Mochel, F. & Wolf, N. I. Diagnosis, prognosis, and treatment of leukodystrophies. *Lancet Neurol.* **18**, 962–972 (2019).
29. Gordon, H., Letsou, A. & Bonkowsky, J. The Leukodystrophies. *Semin. Neurol.* **34**, 312–320 (2014).
30. van der Knaap, M. S. & Bugiani, M. Leukodystrophies: a proposed classification system based on pathological changes and pathogenetic mechanisms. *Acta Neuropathol. (Berl.)* **134**, 351–382 (2017).
31. Poletti, V. & Biffi, A. Gene-Based Approaches to Inherited Neurometabolic Diseases. *Hum. Gene Ther.* **30**, 1222–1235 (2019).
32. Bosch, M. E. & Kielian, T. Neuroinflammatory paradigms in lysosomal storage diseases. *Front. Neurosci.* **9**, (2015).
33. Aubourg, P. Adrénoleucodystrophie liée à l’X. **13** (2007).
34. Yin, Y. & Wang, Z. ApoE and Neurodegenerative Diseases in Aging. *Adv. Exp. Med. Biol.* **1086**, 77–92 (2018).
35. Liu, C.-C., Kanekiyo, T., Xu, H. & Bu, G. Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms and therapy. *Nat. Rev. Neurol.* **9**, 106–118 (2013).
36. Wood, W. G., Li, L., Müller, W. E. & Eckert, G. P. Cholesterol as a causative factor in Alzheimer’s disease: a debatable hypothesis. *J. Neurochem.* **129**, 559–572 (2014).
37. Hudry, E. et al. Adeno-associated Virus Gene Therapy With Cholesterol 24-Hydroxylase Reduces the Amyloid Pathology Before or After the Onset of Amyloid Plaques in Mouse Models of Alzheimer’s Disease. *Mol. Ther.* **18**, 44–53 (2010).

38. DelBove, C. E. et al. Reciprocal modulation between amyloid precursor protein and synaptic membrane cholesterol revealed by live cell imaging. *Neurobiol. Dis.* **127**, 449–461 (2019).
39. Burlot, M.-A. et al. Cholesterol 24-hydroxylase defect is implicated in memory impairments associated with Alzheimer-like Tau pathology. *Hum. Mol. Genet.* **24**, 5965–5976 (2015).
40. Nasrabad, S. E., Rizvi, B., Goldman, J. E. & Brickman, A. M. White matter changes in Alzheimer's disease: a focus on myelin and oligodendrocytes. *Acta Neuropathol. Commun.* **6**, 22 (2018).
41. 4556.pdf.
42. VIDAL : Base de données médicamenteuse pour les prescripteurs libéraux. VIDAL <https://www.vidal.fr/>.
43. Nóbrega, C. et al. The cholesterol 24-hydroxylase activates autophagy and decreases mutant huntingtin build-up in a neuroblastoma culture model of Huntington's disease. *BMC Res. Notes* **13**, 210 (2020).
44. Valenza, M. et al. Cholesterol Defect Is Marked across Multiple Rodent Models of Huntington's Disease and Is Manifest in Astrocytes. *J. Neurosci.* **30**, 10844–10850 (2010).
45. van Geel, B. M. et al. Progression of abnormalities in adrenomyeloneuropathy and neurologically asymptomatic X-linked adrenoleukodystrophy despite treatment with 'Lorenzo's oil'. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **67**, 290–299 (1999).
46. Maladie d'Alzheimer : la HAS recommande le déremboursement de 4 médicaments, Marisol Touraine temporise. VIDAL https://www.vidal.fr/actualites/20284/maladie_d_alzheimer_la_has_recommande_le_de_remboursement_de_4_medicaments_marisol_touraine_temporise/.
47. Montastruc, F. Iatrogénie et maladie d'Alzheimer : approche de pharmacovigilance et de pharmacoépidémiologie. in *Traité sur la maladie d'Alzheimer* (eds. Vellas, B. & Robert, P.) 365–375 (Springer, 2013). doi:10.1007/978-2-8178-0443-9_23.

48. PNDS - Maladie de Huntington. 47 (2015).
49. Wang, S.-S. et al. Myelin injury in the central nervous system and Alzheimer's disease. *Brain Res. Bull.* **140**, 162–168 (2018).
50. Kotter, M. R., Li, W.-W., Zhao, C. & Franklin, R. J. M. Myelin Impairs CNS Remyelination by Inhibiting Oligodendrocyte Precursor Cell Differentiation. *J. Neurosci.* **26**, 328–332 (2006).
51. Miron, V. E. & Franklin, R. J. M. Macrophages and CNS remyelination. *J. Neurochem.* **130**, 165–171 (2014).
52. Lloyd, A. F. & Miron, V. E. The pro-remyelination properties of microglia in the central nervous system. *Nat. Rev. Neurol.* **15**, 447–458 (2019).
53. Du, L. et al. Role of Microglia in Neurological Disorders and Their Potentials as a Therapeutic Target. *Mol. Neurobiol.* **54**, 7567–7584 (2017).
54. Zhang, J. & Liu, Q. Cholesterol metabolism and homeostasis in the brain. *Protein Cell* **6**, 254–264 (2015).
55. gene therapy. (n.d.). The American Heritage Medical Dictionary. (2007).
56. Piguet, F., Alves, S. & Cartier, N. Clinical Gene Therapy for Neurodegenerative Diseases: Past, Present, and Future. *Hum. Gene Ther.* **28**, 988–1003 (2017).
57. Tomatsu, S., Sawamoto, K., Chen, H.-H. & Mason, R. Gene therapy for mucopolysaccharidoses. *Mol. Genet. Metab.* **123**, S140 (2018).
58. Kantor, B., Bailey, R. M., Wimberly, K., Kalburgi, S. N. & Gray, S. J. Methods for Gene Transfer to the Central Nervous System. in *Advances in Genetics* vol. 87 125–197 (Elsevier, 2014).
59. Addgene: Adeno-associated virus (AAV) Guide.
<https://www.addgene.org/guides/aav/>.

60. McCarty, D., Monahan, P. & Samulski, R. Self-complementary recombinant adeno-associated virus (scAAV) vectors promote efficient transduction independently of DNA synthesis. *Gene Ther.* **8**, 1248–1254 (2001).
61. Meliani, A. et al. Antigen-selective modulation of AAV immunogenicity with tolerogenic rapamycin nanoparticles enables successful vector re-administration. *Nat. Commun.* **9**, 4098 (2018).
62. MoMAAV: vers une thérapie génique pour tous? | Result In Brief | CORDIS | European Commission. <https://cordis.europa.eu/article/id/418333-momaav-towards-gene-therapy-for-all/fr>.
63. Bertin, B. et al. Capsid-specific removal of circulating antibodies to adeno-associated virus vectors. *Sci. Rep.* **10**, (2020).
64. Amar, L. Développement de vecteurs lentiviraux regulables pour le transfert de gène dans le système nerveux central. 186.
65. Tolmachov, O., Tolmachova, T. & A., F. Designing Lentiviral Gene Vectors. in *Viral Gene Therapy* (ed. Xu, K.) (InTech, 2011). doi:10.5772/17361.
66. Legendre, J., Haensler, J. & Rémy, J. Les vecteurs non-viraux de thérapie génique. *médecine/sciences* **12**, 1334 (1996).
67. P. de Lima, M., Girao da Cruz, M., C. Cardoso, A., Simoes, S. & de Almeida, L. Liposomal and Viral Vectors for Gene Therapy of the Central Nervous System. *Curr. Drug Target -CNS Neurol. Disord.* **4**, 453–465 (2005).
68. Balazs, D. A. & Godbey, Wt. Liposomes for Use in Gene Delivery. *J. Drug Deliv.* **2011**, 1–12 (2011).
69. Chew, H., Solomon, V. A. & Fonteh, A. N. Involvement of Lipids in Alzheimer's Disease Pathology and Potential Therapies. *Front. Physiol.* **11**, (2020).

70. Martínez-Lapiscina, E. H. et al. Mediterranean diet improves cognition: the PREDIMED-NAVARRA randomised trial. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **84**, 1318–1325 (2013).
71. Kastorini, C.-M. et al. The Effect of Mediterranean Diet on Metabolic Syndrome and its Components: A Meta-Analysis of 50 Studies and 534,906 Individuals. *J. Am. Coll. Cardiol.* **57**, 1299–1313 (2011).
72. Fitó, M. et al. Effect of a traditional Mediterranean diet on lipoprotein oxidation: a randomized controlled trial. *Arch. Intern. Med.* **167**, 1195–1203 (2007).
73. DASH Eating Plan | NHLBI, NIH. <https://www.nhlbi.nih.gov/health-topics/dash-eating-plan>.
74. Morris, M. C. et al. MIND diet associated with reduced incidence of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* **11**, 1007–1014 (2015).
75. Scheen, A. J. & Sadzot, B. Quelles indications pour les statines hormis le traitement de l'hypercholestérolémie ? *Rev. Médicale Suisse* (2005).
76. VIDAL - Atorvastatine. <https://www.vidal.fr/substances/17825/atorvastatine/>.
77. Wolozin, B., Kellman, W., Ruosseau, P., Celesia, G. & Siegel, G. Decreased Prevalence of Alzheimer Disease Associated With 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl Coenzyme A Reductase Inhibitors. *Arch. Neurol. - ARCH NEUROL* **57**, 1439–1443 (2000).
78. Jick, H., Zornberg, G. L., Jick, S. S., Seshadri, S. & Drachman, D. A. Statins and the risk of dementia. *The Lancet* **356**, 1627–1631 (2000).
79. Shepherd, J. et al. Pravastatin in elderly individuals at risk of vascular disease (PROSPER): a randomised controlled trial. *Lancet Lond. Engl.* **360**, 1623–1630 (2002).
80. Heart Protection Study Collaborative Group. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet Lond. Engl.* **360**, 7–22 (2002).

81. Sparks, D. et al. Benefit of atorvastatin in the treatment of Alzheimer disease. S24 (2004).
82. Randomized controlled trial of atorvastatin in mild to moderate Alzheimer disease: LEADe. http://www.druglib.com/abstract/fe/feldman-hh_neurology_20100323.html.
83. Karasinska, J. M. & Hayden, M. R. Cholesterol metabolism in Huntington disease. *Nat. Rev. Neurol.* **7**, 561–572 (2011).
84. Boussicault, L. et al. CYP46A1, the rate-limiting enzyme for cholesterol degradation, is neuroprotective in Huntington's disease. *Brain* **139**, 953–970 (2016).
85. Liévens, J.-C. & Birman, S. La chorée de Huntington chez la drosophile et chez la souris : vers de nouvelles pistes thérapeutiques ? *médecine/sciences* **19**, 593–599 (2003).
86. Kacher, R. et al. CYP46A1 gene therapy deciphers the role of brain cholesterol metabolism in Huntington's disease. *Brain* **142**, 2432–2450 (2019).
87. AskBio Acquires BrainVectis to Expand its Clinical Pipeline for Neurodegenerative Diseases. AskBio <https://www.askbio.com/askbio-acquires-brainvectis-to-expand-its-clinical-pipeline-for-neurodegenerative-diseases/> (2020).
88. Hudry, E. et al. Adeno-associated Virus Gene Therapy With Cholesterol 24-Hydroxylase Reduces the Amyloid Pathology Before or After the Onset of Amyloid Plaques in Mouse Models of Alzheimer's Disease. *Mol. Ther.* **18**, 44–53 (2010).
89. Djelti, F. et al. CYP46A1 inhibition, brain cholesterol accumulation and neurodegeneration pave the way for Alzheimer's disease. *Brain* **138**, 2383–2398 (2015).
90. Orphanet: Ataxie cérébelleuse autosomique dominante.
[https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=FR&data_id=263&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=Ataxie-spinocerebelleuse&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Maladie\(s\)/groupes%20de%20maladies=Ataxie-cerebelleuse-autosomique-](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=FR&data_id=263&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=Ataxie-spinocerebelleuse&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Maladie(s)/groupes%20de%20maladies=Ataxie-cerebelleuse-autosomique-)

dominante&title=Ataxie%20c%20r%20belleuse%20autosomique%20dominante&search=Disease_Search_Simple.

91. Home - ClinicalTrials.gov. <https://clinicaltrials.gov/ct2/home>.
92. Nóbrega, C. et al. Restoring brain cholesterol turnover improves autophagy and has therapeutic potential in mouse models of spinocerebellar ataxia. *Acta Neuropathol. (Berl.)* **138**, 837–858 (2019).
93. Dodart, J.-C. et al. Gene delivery of human apolipoprotein E alters brain A burden in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **102**, 1211–1216 (2005).
94. Hudry, E. et al. Gene Transfer of Human Apoe Isoforms Results in Differential Modulation of Amyloid Deposition and Neurotoxicity in Mouse Brain. *Sci. Transl. Med.* **5**, 212ra161-212ra161 (2013).
95. Zhao, L. et al. Intracerebral adeno-associated virus gene delivery of apolipoprotein E2 markedly reduces brain amyloid pathology in Alzheimer's disease mouse models. *Neurobiol. Aging* **44**, 159–172 (2016).
96. Rosenberg, J. B. et al. AAVrh.10-Mediated APOE2 Central Nervous System Gene Therapy for APOE4-Associated Alzheimer's Disease. *Hum. Gene Ther. Clin. Dev.* **29**, 24–47 (2018).
97. Dos Santos Rodrigues, B., Kanekiyo, T. & Singh, J. ApoE-2 Brain-Targeted Gene Therapy Through Transferrin and Penetratin Tagged Liposomal Nanoparticles. *Pharm. Res.* **36**, 161 (2019).
98. Cantuti-Castelvetri, L. et al. Defective cholesterol clearance limits remyelination in the aged central nervous system. *Science* **359**, 684–688 (2018).
99. Voskuhl, R. R. et al. Gene expression in oligodendrocytes during remyelination reveals cholesterol homeostasis as a therapeutic target in multiple sclerosis. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **116**, 10130–10139 (2019).

100. Zendedel, A. & Kipp, M. Cuprizone-Induced Demyelination as a Tool to Study Remyelination and Axonal Protection. *J. Mol. Neurosci.* MN **51**, (2013).
101. Constantinescu, C. S., Farooqi, N., O'Brien, K. & Gran, B. Experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) as a model for multiple sclerosis (MS). *Br. J. Pharmacol.* **164**, 1079–1106 (2011).
102. McKee, S. Lilly hit by spectacular failure of Phase III Alzheimer's candidate. *PharmaTimes*
http://www.pharmatimes.com/news/lilly_hit_by_spectacular_failure_of_phase_iii_alzheimers_candidate_982579 (2010).
103. enews201965pdf.pdf.
104. expert reaction to Biogen's presentation on the drug aducanumab for Alzheimer's at the CTAD Conference | Science Media Centre.
<https://www.sciencemediacentre.org/expert-reaction-to-biogens-presentation-on-the-drug-aducanumab-for-alzheimers-at-the-ctad-conference/>.
105. Information concernant les études EMERGE et ENGAGE – Communiqué de presse Laboratoires Biogen – Année g rontologique. <http://annee-gerontologique.com/information-concernant-les-etudes-emerge-et-engage-communique-de-presse-laboratoires-biogen/>.
106. Steenhuysen, J. New theory of Alzheimer's explains drug failures. *Reuters* (2010).
107. Castello, M. A., Jeppson, J. D. & Soriano, S. Moving beyond anti-amyloid therapy for the prevention and treatment of Alzheimer's disease. *BMC Neurol.* **14**, 169 (2014).
108. LMTM | ALZFORUM. <https://www.alzforum.org/therapeutics/lmtm>.
109. PhD, L. F. LMTX - Alzheimer's News Today. <https://alzheimersnewstoday.com/lmtx/>.
110. TauRx Therapeutics Ltd. Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Parallel-Group, 15-Month Trial of TRx0237 in Subjects With Mild to Moderate Alzheimer's Disease. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01689246> (2018).

111. TauRx Therapeutics Ltd. Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Three-Arm, 12-Month, Safety and Efficacy Study of TRx0237 Monotherapy in Subjects With Alzheimer's Disease Followed by a 12-Month Open-Label Treatment.
<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03446001> (2020).
112. Therapeutics Search | ALZFORUM.
https://www.alzforum.org/therapeutics/search?fda_statuses%5B0%5D=182&target_types%5B0%5D=177.
113. Ginn, S. L., Amaya, A. K., Alexander, I. E., Edelstein, M. & Abedi, M. R. Gene therapy clinical trials worldwide to 2017: An update. *J. Gene Med.* **20**, e3015 (2018).
114. Gene Therapy for APOE4 Homozygote of Alzheimer's Disease - Full Text View - ClinicalTrials.gov. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03634007>.
115. Libella Gene Therapeutics. Evaluation of Safety and Tolerability of Libella Gene Therapy (LGT) for Alzheimer's Disease: AAV- hTERT.
<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04133454> (2019).
116. Du, L. et al. Role of Microglia in Neurological Disorders and Their Potentials as a Therapeutic Target. *Mol. Neurobiol.* **54**, 7567–7584 (2017).
117. Joshi, C. R., Labhasetwar, V. & Ghorpade, A. Destination Brain: the Past, Present, and Future of Therapeutic Gene Delivery. *J. Neuroimmune Pharmacol.* **12**, 51–83 (2017).
118. Ardaillou, R. La thérapie génique : bilan et perspectives. *Bull. Académie Natl. Médecine* **185**, 1539–1560 (2001).
119. Thérapie génique. Inserm - La science pour la santé
<https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/therapie-genique>.
120. Médicaments de thérapie génique sur le marché. /patients-et-grand-public/médicaments-de-thérapie-génique-sur-le-marché.aspx.

121. GLYBERA (alipogène tiparvovec), thérapie génique. Haute Autorité de Santé
https://www.has-sante.fr/jcms/c_2579395/fr/glybera-alipogene-tiparvovec-therapie-genique.
122. [dp_reussir_l_industrialisation_des_therapies_innovantes.pdf](#).
123. Donde, A., Wong, P. C. & Chen, L. L. Challenges and Advances in Gene Therapy Approaches for Neurodegenerative Disorders. *Curr. Gene Ther.* **17**, (2017).
124. Castle, M. et al. Postmortem Analysis in a Clinical Trial of AAV2-NGF Gene Therapy for Alzheimer's Disease Identifies a Need for Improved Vector Delivery. *Hum. Gene Ther.* **31**, (2020).
125. Fiandaca, M., Lonser, R., Elder, J., Ząbek, M. & Bankiewicz, K. Advancing gene therapies, methods, and technologies for Parkinson's Disease and other neurological disorders. *Neurol. Neurochir. Pol.* **ahead of print**, 1–12 (2020).
126. Wang, D., Tai, P. W. L. & Gao, G. Adeno-associated virus vector as a platform for gene therapy delivery. *Nat. Rev. Drug Discov.* **18**, 358–378 (2019).
127. Wilson, J. M. & Flotte, T. R. Moving Forward After Two Deaths in a Gene Therapy Trial of Myotubular Myopathy. *Hum. Gene Ther.* **31**, 695–696 (2020).
128. Cartier, N. et al. Hematopoietic Stem Cell Gene Therapy with a Lentiviral Vector in X-Linked Adrenoleukodystrophy. *Science* **326**, 818–823 (2009).
129. Choudhury, S. R. et al. Viral vectors for therapy of neurologic diseases. *Neuropharmacology* **120**, 63–80 (2017).

UNE APPROCHE PROMETTEUSE POUR LES MALADIES DEMYELINISANTES DU SYSTEME NERVEUX CENTRAL : CIBLER LE METABOLISME DU CHOLESTEROL PAR THERAPIE GENIQUE

Résumé :

Dans le monde, un nombre croissant de personnes sont touchées par des maladies affectant le système nerveux central et ayant une composante de démyélinisation. Le dérèglement du métabolisme du cholestérol, un des composants principaux de la gaine de myéline, est un phénomène retrouvé dans de plus en plus de maladies neurodégénératives. Malheureusement, les thérapies classiques ne permettent pas d'exploiter cette piste. Au contraire, la thérapie génique permet de cibler le cholestérol de manière plus précise. Des résultats prometteurs obtenus en pré-clinique doivent maintenant être confirmés en clinique. Cependant, pour une adoption large de la thérapie génique, des progrès sont à faire en matière d'industrialisation des procédés de production et de voies d'administration.

A PROMISING APPROACH FOR DEMYELINATING DISEASES OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM: TARGETING CHOLESTEROL METABOLISM BY GENE THERAPY

Abstract:

An increasing number of people worldwide are affected by diseases of the central nervous system that have a demyelination component. The dysregulation of cholesterol metabolism, one of the main components of the myelin sheath, is a phenomenon found in an increasing number of neurodegenerative diseases. Unfortunately, conventional therapies do not make it possible to fully exploit this strategy. On the contrary, gene therapy makes it possible to target cholesterol more precisely. Promising results obtained in preclinical studies must now be confirmed in the clinic. However, for a wide adoption of gene therapy, progress needs to be made in terms of industrialization of production processes and routes of administration.

DISCIPLINE administrative : Pharmacie

MOTS-CLEFS : Thérapie génique, cholestérol, myéline, maladie d'Alzheimer, système nerveux central, sclérose en plaques, maladie de Huntington, Ataxies, CYP46A1, ApoE2

INTITULE ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE :

Faculté des Sciences Pharmaceutiques, Toulouse III. 35 chemin des Maraîchers
31062 TOULOUSE Cedex

Directrice de thèse : Isabelle LAJOIE-MAZENC