

20 ans de recherche sur les leucodystrophies

• Chronologie

1992	1 ^{er} traitement de l'adrénoleucodystrophie par l'huile de Lorenzo chez l'homme
1993	Identification du gène responsable de l'adrénoleucodystrophie
1994	Isolation du gène responsable de la maladie de Krabbe
1995	1 ^{ère} tentative de transfert génétique in vitro pour la leucodystrophie métachromatique
1996	1 ^{er} modèle animal de leucodystrophie métachromatique
1997	1 ^{er} modèle animal de l'adrénoleucodystrophie
1998	1 ^{ère} tentative de transfert génétique in vitro pour la maladie de Krabbe
1999	Culture de cellules de la myéline in vitro
2000	Résultats du 1 ^{er} essai clinique de thérapie génique pour la maladie de Canavan
2001	Identification du 1 ^{er} gène responsable de la maladie MLC
2002	1 ^{er} traitement de la maladie de Canavan par du lithium chez l'animal
2003	Progression de l'adrénoleucodystrophie : aide à la prédiction par IRM
2004	Preuve de concept pour la thérapie génique de la leucodystrophie métachromatique chez l'animal
2005	Preuve de concept pour la thérapie génique de l'adrénoleucodystrophie chez l'animal
2006	1 ^{er} essai clinique de thérapie génique pour l'adrénoleucodystrophie
2007	1 ^{er} essai clinique d'enzymothérapie substitutive pour la leucodystrophie métachromatique
2008	Mise au point du modèle animal de la maladie de Refsum adulte
2009	1 ^{er} essai clinique de thérapie cellulaire pour la maladie de Pelizaeus-Merzbacher Premiers résultats de l'essai clinique de thérapie génique de l'adrénoleucodystrophie
2010	1 ^{er} essai clinique de thérapie génique pour la leucodystrophie métachromatique
2011	Reprogrammation de cellules de patients avec une adrénoleucodystrophie en cellules iPS Identification du gène responsable de la leucoencéphalopathie TACH
2012	Résultats de l'essai de thérapie cellulaire pour la maladie de Pelizaeus-Merzbacher

• Chiffres clés

Financement de la recherche médicale par ELA depuis 1992: **34,5 Millions €**

Nombre de programmes de recherche financés depuis 1992 : **434**



En 1992, une petite dizaine de leucodystrophies était connues de la communauté médicale comme l'adrénoleucodystrophie, la leucodystrophie métachromatique ou la maladie de Pelizaeus-Merzbacher. Avec les progrès de la génétique, les gènes responsables de ces maladies ont été identifiés (respectivement *ABCD1*, *ARSA* et *PLP1*).

En 20 ans, de nouvelles leucodystrophies ont été découvertes. A l'heure actuelle, on en dénombre plus d'une vingtaine. En parallèle, la cause génétique d'un grand nombre de ces nouvelles maladies a été identifiée offrant aux familles la possibilité de diagnostic moléculaire et de conseil génétique.

Toutefois, un tiers des leucodystrophies restent encore sans diagnostic. Un effort tout particulier est mis en œuvre par ELA afin d'identifier les gènes responsables de ces leucodystrophies dites « indéterminées ».

Exemple de nouvelles leucodystrophies identifiées depuis 1992

Nouvelles leucodystrophies	Gènes
Syndrome CACH	<i>EIF2B</i>
Leucoencéphalopathie mégalencéphalique avec kystes sous-corticaux (ou MLC)	<i>MLC1</i> , <i>HEPACAM</i>
Leucoencéphalopathie TACH	<i>POL3RA</i> , <i>POLR3B</i>
Leucodystrophie dominante autosomique avec début chez l'adulte (ou ADLD)	<i>LMNB1</i>
Leucoencéphalopathie avec atteinte du thalamus et du tronc cérébral et lactate élevé (ou LTBL)	<i>EARS2</i>

Afin de comprendre les mécanismes conduisant à la maladie, la collecte des échantillons biologiques de malades est essentielle tout comme le développement de modèles animaux de leucodystrophies qui contribuent en parallèle à l'évaluation de stratégies thérapeutiques. Parmi les modèles animaux créés ces 20 dernières années, on peut citer les modèles murins de leucodystrophie métachromatique (1996), d'adrénoleucodystrophie (1997), de maladie de Refsum adulte (2008) ou du syndrome CACH (2010). Le modèle de souris pour l'adrénoleucodystrophie a par exemple permis d'élucider le stress oxydatif lié à la maladie et d'identifier des cibles thérapeutiques afin de le contrôler.

Depuis 1992, différents types d'approches thérapeutiques ont été développés et testés pour les leucodystrophies :

1. La thérapie nutritionnelle

Dès 1992, l'huile de Lorenzo, huile enrichie en acides oléique et érucique, associée à un régime alimentaire réduit en acides gras à très longues chaînes, est testée chez des enfants atteints d'adrénoleucodystrophie. Ce traitement, mis au point par Augusto et Michaela Odone, parents de Lorenzo atteint de la maladie, permet de normaliser les taux plasmatiques en acides gras à très longues chaînes, caractéristique de la maladie. Mais il n'a aucun effet dans les formes cérébrales de la pathologie.

Lors de la maladie de Refsum adulte où l'acide phytanique s'accumule anormalement, une bonne maîtrise des taux plasmatiques de ce composé améliore l'état de santé et prévient le développement de certaines complications sérieuses de la maladie. Dans les années 60, un régime nutritionnel adapté permettant de contrôler les taux d'acide phytanique à un niveau très faible a été proposé aux malades et est constamment enrichi et amélioré.

2. La thérapie pharmacologique

Depuis 20 ans, de nombreux médicaments ont été testés dans le cadre d'essais cliniques pour différentes leucodystrophies. Malheureusement, leur efficacité n'a pu être démontrée. De nouveaux médicaments candidats se profilent à l'horizon pour des tests chez l'animal ou chez l'homme :

- Adrénonomyélongueuropathie : cocktail de 3 antioxydants (vitamine E, acide lipoïque et N-acétylcystéine), 4-aminopyridine, pioglitazone, thérapie par réduction des acides gras à très longues chaînes
- Leucodystrophie métachromatique : thérapie par réduction de substrat
- Maladie d'Alexander : rapamycine, lithium, α B-crystallin, Nrf2
- Canavan : lithium
- Maladie de Pelizaeus-Merzbacher : minocycline
- Leucodystrophie sensible à la biotine : biotine



3. La thérapie enzymatique

Leucodystrophie métachromatique

En 2007, le laboratoire Zymenex au Danemark a conduit un essai d'enzymothérapie substitutive avec l'enzyme arylsulfatase A humaine (appelée Metazym) pour la leucodystrophie métachromatique.

Durant cet essai poursuivi par le laboratoire Shire HGT, l'enzyme était administrée aux patients par voie intraveineuse toutes les 2 semaines. Vu l'inefficacité du traitement, le développement de cette formulation d'enzyme dérivée de cellules non humaines a été arrêtée.

Une nouvelle formulation de l'enzyme dérivée, cette fois, de cellules humaines a ensuite été développée par Shire sous le nom d'enzyme HGT-1110. Celle-ci est actuellement testée chez des patients atteints de leucodystrophie métachromatique dans le cadre d'un essai clinique au cours duquel l'enzyme est injectée directement dans le système nerveux central du malade une semaine sur deux.

Maladie de Krabbe

En 2011, le laboratoire danois Zymenex obtient la désignation orpheline pour son enzyme Galaczym en Europe et aux Etats-Unis. La désignation orpheline permet aux laboratoires pharmaceutiques de développer des traitements pour les maladies rares grâce à des mesures d'incitation destinées à favoriser la recherche, le développement et la mise sur le marché du médicament désigné. Un essai clinique testant l'effet de Galaczym devrait être développé prochainement.

4. La thérapie génique

Les premières expériences de transfert génétique in vitro ont été conduites pour les leucodystrophies dans les années 1990 en utilisant des vecteurs-médicaments de type rétroviral. Vu les risques associés au développement de leucémies, aucun essai clinique testant ces



vecteurs n'a été conduit pour les leucodystrophies. Les progrès dans le domaine de la virologie ont abouti au développement de nouveaux vecteurs-médicaments plus sûrs qui ont pu être testés chez des modèles animaux de leucodystrophie dès les années 2000. Une fois les preuves de concept chez l'animal établies, des essais cliniques ont pu voir le jour pour la maladie de Canavan, l'adrénoleucodystrophie (2006) et la leucodystrophie métachromatique (2010) :

Maladie de Canavan

En 2000, les résultats du premier essai de thérapie génique pour les leucodystrophies sont publiés. Cet essai conduit en Nouvelle-Zélande chez deux malades atteints de maladie de Canavan utilise un vecteur non viral transportant le gène *GALC* normal -gène qui fait défaut chez les malades- et est administré par injection directe dans l'espace ventriculaire du cerveau. Les résultats préliminaires semblent encourageants mais une étude plus large est alors nécessaire. En 2002, cette nouvelle étude voit le jour au Robert Wood Johnson Medical Center du New Jersey (USA). Cette fois-ci, un vecteur-médicament de type viral AAV2 est utilisé afin d'apporter le gène normal *GALC* aux malades à 6 endroits différents du cerveau par injection intracérébrale. Aucun résultat scientifique n'a été publié à ce jour par les investigateurs. Selon la fondation Canavan américaine, les parents des malades traités rapportent une amélioration clinique de leurs enfants. Actuellement, une nouvelle preuve de concept de thérapie génique chez l'animal retient l'attention à l'Université du Massachusetts (USA). Un nouveau type de vecteur-médicament AAV portant le gène *GALC* normal a permis, après injection par intraveineuse, de ralentir la progression de la maladie chez des souris malades et de restaurer les niveaux d'enzyme *GALC* à la normale.

Adrénoleucodystrophie

Jusqu'en 2006, le traitement de l'adrénoleucodystrophie cérébrale chez l'enfant reposait sur la greffe de moelle osseuse de donneur, une approche limitée par la rareté des donneurs et le risque de complications graves. Dans cette nouvelle approche, les médecins ont choisi la voie de l'autogreffe combinée à la thérapie génique. Les cellules souches de la moelle osseuse des patients sont prélevées, puis corrigées en laboratoire avant d'être réinjectées aux patients. Certaines d'entre elles, par un mécanisme naturel, vont se diriger vers le cerveau du patient et jouer leur rôle correcteur.

Lors de l'essai, un vecteur-médicament dérivé du virus du SIDA modifié et inactivé est utilisé pour introduire le gène normal *ABCD1* dans les cellules de moelle osseuse du malade. Une découverte qui ouvre des perspectives de traitement pour d'autres types de leucodystrophie et devrait profiter à d'autres maladies plus fréquentes (drépanocytose, bêta-thalassémie, immunodéficiences, parkinson...).

Quatre enfants atteints de la forme cérébrale de l'adrénoleucodystrophie à un stade pré-symptomatique sans donneurs compatibles de moelle osseuse mais avec une démyélinisation cérébrale progressive ont pu bénéficier de ce traitement innovateur.

Les résultats concernant les 2 premiers enfants traités ont été publiés dans la prestigieuse revue scientifique *Science*. Après 24 mois à 30 mois de suivi des 2 malades, 10 à 15% des cellules sanguines des malades expriment toujours la protéine ALD, auparavant indétectable. Quatre à cinq fois plus de gène *ABCD1* normal est exprimé par ces cellules par rapport au gène muté. D'un point de vue neurologique, les lésions cérébrales démyélinisantes chez ces deux enfants ont évolué jusqu'au 14ème-16ème mois après la greffe mais sont restées stables depuis. Sur ces résultats encourageants, les investigateurs envisagent d'étendre l'essai à plus de malades en Europe et aux USA.

Financement ELA : 1, 5 Million €

Leucodystrophie métachromatique

Un essai équivalent à celui conduit pour la thérapie génique dans l'adrénoleucodystrophie est actuellement en cours à Milan pour la leucodystrophie métachromatique. Huit enfants atteints de leucodystrophie métachromatique seront greffés avec leurs propres cellules de la moelle osseuse génétiquement corrigées à l'aide d'un vecteur-médicament dérivé du virus du SIDA transportant le gène humain *ARSA* normal. L'objectif de l'étude consiste à évaluer l'innocuité et l'efficacité du traitement. A ce jour, trois malades avec une forme infantile tardive pré-symptomatique de la maladie ont été traités. Aucun effet indésirable grave lié au traitement n'a été rapporté. Au vu de l'évolution de la maladie chez ses 2 frères malades non traités, le premier patient traité aurait dû développer les premiers symptômes de la maladie à l'âge de 18 mois et finir en chaise roulante à l'âge de 30 mois. Ce patient est capable à l'âge de 28 mois de se mettre debout de façon indépendante et a besoin d'une aide pour marcher et courir. Même si les premiers résultats sont encourageants, il faudra attendre la fin de l'essai pour tirer des conclusions.

Financement ELA : 298 000 €

Un deuxième essai de thérapie génique pour la leucodystrophie métachromatique est en cours de préparation en France. Comme l'essai précédent, il étudiera l'innocuité et l'efficacité d'un vecteur-médicament AAV10 avec le gène humain *ARSA* normal qui sera délivré au malade par injection intracérébrale simultanée dans 12 sites différents du cerveau. Si les autorisations réglementaires sont réunies rapidement, l'essai devrait démarrer en 2013 et permettra le traitement de 5 patients présentant une forme rapidement progressive de leucodystrophie métachromatique.

Financement ELA : 2,5 Millions €



5. La thérapie cellulaire

Maladie de Pelizaeus-Merzbacher

Le premier essai thérapeutique testant les effets d'une transplantation de cellules souches pour les malades souffrant de maladie de Pelizaeus-Merzbacher vient de s'achever à l'Université de Californie, San Francisco (USA). C'est le premier essai conçu pour traiter une maladie neurodégénérative résultant d'un manque de myéline. Son objectif visait à tester, sur une durée d'un an, l'innocuité et l'efficacité du traitement chez 4 enfants atteints de la forme sévère de la maladie. Les enfants ont reçus par neurochirurgie une transplantation de cellules souches neurales humaines nommées HuCNS-SC® et durant les 9 mois suivants, des immunosuppresseurs leur ont été donnés afin de prévenir le rejet des cellules souches transplantées. Aucun événement indésirable n'a été observé un an après la greffe. Par ailleurs, la fonction neurologique s'est faiblement améliorée chez 3 des 4 patients traités. L'analyse cérébrale par IRM révèle chez les malades une implantation durable des cellules souches ainsi que l'évidence de formation de myéline dans la zone transplantée. Une étude clinique plus large devrait être prochainement développée et impliquera selon toute vraisemblance un centre médical Européen



Adrénoleucodystrophie cérébrale de l'adulte

La greffe de cellules souches de moelle osseuse de donneur est le seul traitement qui permet, lorsqu'il est effectué au tout début de la maladie, de stabiliser ou de faire régresser les lésions cérébrales de la myéline chez l'enfant atteint de la forme cérébrale de l'adrénoleucodystrophie. Elle est inefficace et même néfaste à un stade tardif et la procédure reste associée à une lourde mortalité. A ce jour, seulement une quinzaine d'adultes dans le monde ont pu bénéficier de cette approche thérapeutique. Un groupe international de neurologues et d'hématologues experts travaille actuellement à la définition de recommandations en direction de la communauté médicale afin d'harmoniser la procédure de traitement pour les adultes malades et à la mise en place d'un registre de patients greffés dans le but de suivre l'évolution des malades.

En 20 ans, de nombreux progrès scientifiques et médicaux ont permis le diagnostic des leucodystrophies, une meilleure compréhension et une bonne prise en charge de ces maladies. De nouveaux outils et modèles sont maintenant à la disposition des chercheurs et des médecins pour tester de nouvelles technologies et des thérapies innovantes.

Thérapie génique de l'adrénoleucodystrophie : des nouvelles des quatre enfants traités

A ce jour, quatre enfants atteints d'ALD ont reçu ce traitement expérimental. Ce sont tout d'abord Andy et Angel qui en ont bénéficié, suivis d'Andrès et de Clément. Nous avons donc interrogé ces quatre familles d'ELA Espagne et d'ELA France afin de prendre des nouvelles des enfants.

Pour mémoire, les résultats de la thérapie génique de l'ALD, menée par le Pr Patrick Aubourg et le Dr Nathalie Cartier, ont été publiés en novembre 2009 dans la revue spécialisée *Science*. ELA suit les travaux de recherche sur l'ALD depuis sa création en 1992 et en est le premier financeur avec près de 8 millions d'euros investis en 20 ans.

Dans cette approche, les médecins ont choisi la voie de l'autogreffe combinée à la thérapie génique chez des enfants pour lesquels, faute de donneur, on ne pouvait pas tenter de greffe de moelle osseuse classique. Les cellules souches de la moelle osseuse des patients sont prélevées, puis corrigées génétiquement en laboratoire, avant d'être réinjectées aux patients.



Andy, 14 ans et originaire d'Espagne, est le premier à avoir bénéficié de cette thérapie expérimentale en août 2006. La maladie avait été détectée chez son grand frère Oscar ce qui a permis de poser rapidement le diagnostic chez Andy. Aujourd'hui, le garçon va bien, son état n'a pas évolué depuis sa dernière visite chez le Pr Aubourg à Paris et il continue à prendre des corticoïdes pour traiter son insuffisance surrénalienne. Aucune complication n'a été observée, son état est stable. Andy mène une vie à peu près normale et suit sa scolarité dans une école spécialisée à cause de ses difficultés d'apprentissage.



Pour **Angel**, espagnol âgé de 12 ans, la maladie a également été détectée suite au diagnostic de son grand frère. Angel est le deuxième patient qui a bénéficié de cette thérapie expérimentale, c'était en janvier 2007. Aujourd'hui, Angel se porte bien. Il souffre des mêmes dommages neurologiques constatés après stabilisation du traitement. Sa vision a été altérée, ainsi que sa mémoire immédiate et son sens de l'orientation. Malgré tout, il mène une vie normale, comme les autres garçons de son âge. Il continue à aller à l'école même s'il ne peut plus suivre le rythme de ses camarades. Comme Andy, Angel reçoit toujours des corticoïdes quotidiennement et passe une visite de contrôle à Paris avec le Pr Aubourg tous les 6 mois.



Andrès, originaire d'Espagne et âgé de 12 ans, a été diagnostiqué suite à une hospitalisation pour une importante gastroentérite qui cachait une insuffisance surrénalienne, anomalie souvent liée à une ALD. Andrès a bénéficié de la thérapie génique en juin 2008. Quatre ans après, le garçon a toujours des difficultés, mais sa maman constate des améliorations. Il est plus actif et bouge davantage qu'avant. Andrès n'a plus de mémoire immédiate et fréquente une école spécialisée depuis 2010, il fait des progrès et mène une vie normale. Aujourd'hui, il suit son traitement journalier de corticoïdes.



Clément, 6 ans, est le dernier à avoir été traité par thérapie génique en septembre 2010. Deux ans après, le petit garçon va bien. Il mène une vie tout à fait normale, il court, il va à la piscine, il fait du vélo et est entré en CP à la rentrée. Clément continue à prendre des corticoïdes tout à fait normalement pour traiter son insuffisance surrénalienne.