



**HAL**  
open science

## **SMA: from gene discovery to gene therapy**

Martine Barkats

► **To cite this version:**

Martine Barkats. SMA: from gene discovery to gene therapy. Médecine/Sciences, 2020, 36 (2), pp.137-140. 10.1051/medsci/2020010 . hal-02519519

**HAL Id: hal-02519519**

**<https://hal.sorbonne-universite.fr/hal-02519519>**

Submitted on 26 Mar 2020

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

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

► L'amyotrophie spinale ou SMA est la maladie génétique la plus fréquente menant à la mortalité infantile. Cette maladie neuromusculaire est due à l'altération du gène *SMN1*. Cette anomalie génétique provoque la réduction des taux de protéine Smn, induisant la dégénérescence des neurones moteurs, la faiblesse et l'atrophie musculaire. La thérapie génique, consistant à réintroduire le gène *SMN1* normal dans les motoneurons constitue une thérapie de choix pour la SMA. Nous avons montré l'efficacité sans précédent de cette approche chez la souris modèle de SMA après une simple injection intraveineuse d'un AAV9 exprimant *SMN1*. Une jeune société de biotechnologie, dirigée par le Dr Kaspar, a testé cette approche expérimentale chez de jeunes patients atteints de SMA type 1. Le Dr Mendell, en charge de ce projet clinique, a montré une augmentation significative de la survie et des fonctions motrices des patients (jusqu'à 4 ans) après une seule injection de l'AAV9-SMN (appelé ZolgenSMA) dans la veine du bras ou de la jambe. Cette thérapie, qui a obtenu l'AMM par la FDA le 24 mai 2019, est actuellement la première thérapie génique efficace dans les maladies neuromusculaires. ◀

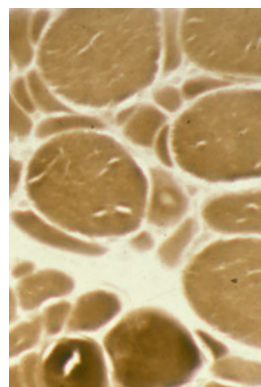
Le ZolgenSMA® est un produit de thérapie génique développé par une société de biotechnologie et racheté par un grand laboratoire pharmaceutique pour le traitement de l'amyotrophie spinale (SMA) atteignant les enfants avant l'âge de deux ans. Ce traitement de thérapie génique a reçu l'autorisation de mise sur le marché par la FDA (*Food and Drug Administration*) le 24 mai 2019, portant cette technologie à un niveau sans précédent pour les maladies neuromusculaires. Précédemment, le Glybera® indiqué pour le traitement par thérapie génique de patients atteints de déficience en lipoprotéine et sujets à de graves pancréatites, avait lui aussi reçu l'autorisation de mise sur le marché par

Vignette (Photo © Inserm - Michel Fardeau).

## Amyotrophie spinale infantile

### De la découverte du gène à la thérapie génique

Martine Barkats



Groupe Biothérapies des maladies du motoneurone, Centre de Recherche en Myologie, Sorbonne Université - UMRS974 Inserm - Institut de Myologie, Faculté de Médecine, 105 boulevard de l'Hôpital, 75013 Paris, France. [m.barkats@institut-myologie.org](mailto:m.barkats@institut-myologie.org)

l'EMA (*European Medicine Agency*) en 2012. Cependant cette maladie étant trop rare, la demande était très faible et a mené à l'expiration de l'autorisation de la FDA en 2017.

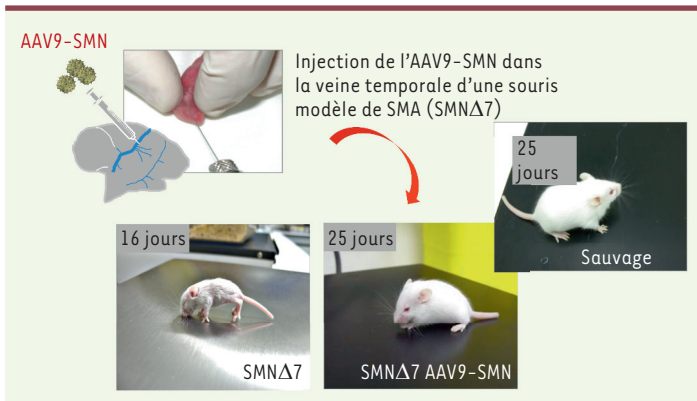
### L'amyotrophie spinale

Bien que classée parmi les « maladies rares », l'incidence de la SMA atteint 1 naissance sur 10 000 aux États-Unis et jusqu'à 2 naissances sur 10 000 par an en France, se situant dans la fourchette haute des pays européens [1]. En France, environ 120 nouveaux cas sont découverts chaque année, et on recense environ 1 500 malades, tous types confondus. La SMA constitue ainsi la deuxième maladie la plus fréquente parmi les maladies neuromusculaires de l'enfant (derrière la myopathie de Duchenne), sans aucun traitement efficace jusqu'à présent [2].

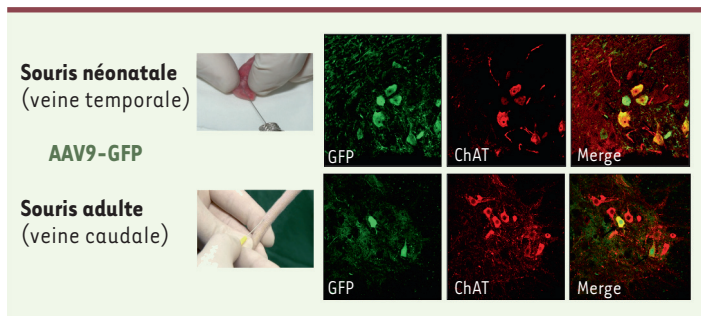
La SMA est une maladie autosomique récessive affectant les motoneurons de la moelle épinière mais également d'autres organes, tels que le cœur, le foie ou les muscles squelettiques, menant à l'atrophie progressive des muscles, l'hypotonie et la faiblesse musculaire progressive et à la mort par arrêt respiratoire à l'âge de 6 mois dans les cas les plus sévères, correspondant au type 1 de la maladie<sup>1</sup> qui représente environ 60 % de l'ensemble des cas de SMA, quelque soit le type [3].

Le gène responsable de la SMA a été identifié en 1995 sur le chromosome 5 et a été nommé *survival of motor neurons* ou *Smn* [4]. Deux copies de ce gène sont localisées sur le même chromosome, le gène télomérique *SMN1* et le gène centromérique *SMN2*. La SMA est provoquée par l'altération homozygote du gène *SMN1* dans les cellules (délétion, conversion ou mutation) empêchant la production de la protéine Smn déficiente [5]. Le second gène, *SMN2*, tronqué au

<sup>1</sup> La SMA est classée en 4 types selon la sévérité de la maladie : 1, la plus sévère ; 4, la plus légère.



**Figure 1.** Un vecteur AAV9 contenant le gène *SMN1* (AAV9-SMN) a été injecté par voie intraveineuse (veine temporale) un jour après leur naissance à des souris modèle de SMA. Cette thérapie génique a permis d'augmenter significativement la survie des souris SMA, celle-ci passant de 14 jours à une médiane de 199 jours. Le poids des souris traitées était également significativement plus élevé que celui des souris sauvages 2 à 3 jours après la naissance. Étonnamment, l'apparence et l'activité spontanée des souris traitées par l'AAV9-SMN étaient identiques à celles de souris sauvages.



**Figure 2.** Un AAV9 exprimant la protéine fluorescente GFP (AAV9-GFP) a été injecté dans la veine temporale chez la souris nouveau-née, et dans la veine caudale chez la souris adulte. Les photographies illustrent la présence de motoneurons fluorescents dans la moelle épinière des animaux. Barkats M. PCT/EP2008/063297 GENETHON/CNRS (Oct. 5, 2007) (d'après [8]).

niveau de l'exon 7, ne permet pas de compenser l'absence de protéine *Smn* dans les cellules. Néanmoins, le nombre de copies du gène *SMN2* variant selon les patients, ce dernier mécanisme peut contrôler la sévérité de la maladie par l'expression d'une quantité variable de faibles niveaux de protéine *Smn* fonctionnelle [6].

### Thérapie génique par AAV

Au vu du caractère monogénique et récessif de la maladie, l'introduction du gène *SMN1* dans les cellules des patients atteints de SMA est apparue une approche particulièrement intéressante rendue possible par la thérapie génique que nous avons développée il y a une dizaine d'années. En effet, nous avons découvert en 2007 qu'après une simple injection par voie intraveineuse, le virus associé à l'adénovirus (AAV) de sérotype 9 sous forme double brin ou « self-

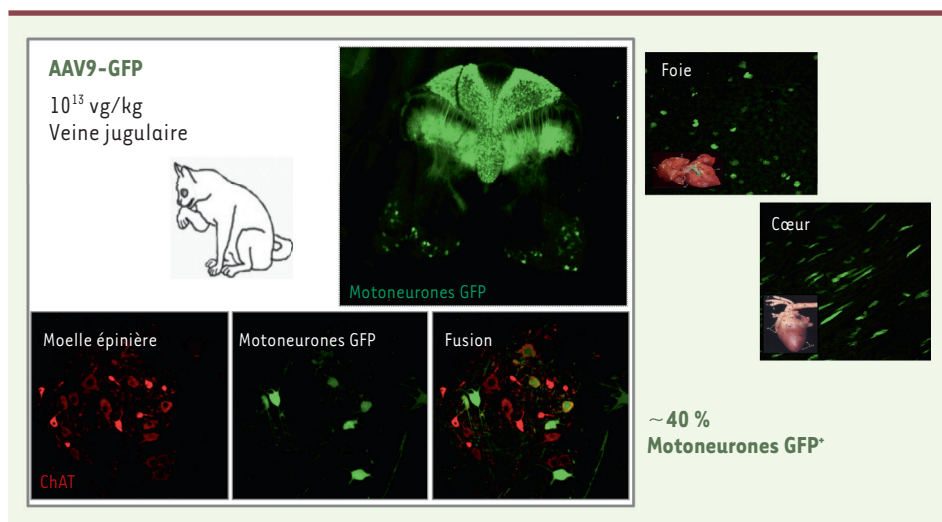
complementary » (scAAV9) [7] possédait la capacité remarquable et spécifique de traverser la barrière hémato-encéphalique et de pénétrer ainsi dans les cellules du système nerveux central (neurones et astrocytes) pour y introduire un gène thérapeutique produisant durablement la protéine correspondante chez la souris et le chat [8].

Nous avons utilisé cette approche pour le traitement de la SMA en construisant un vecteur scAAV9 contenant une ou plusieurs copies du gène *SMN1* (AAV9-SMN) [9] et en l'injectant par voie intraveineuse (veine temporale) un jour après la naissance à des souris modèle de SMA (souris *SMN2<sup>+/+</sup>* ; *Smn<sup>-/-</sup>* ; *SMNΔ7* transfectées avec une construction de SMM dépourvu de l'exon 7) [10] (Figure 1). Cette thérapie génique a permis d'augmenter significativement la survie de ces souris SMA, passant de 14 jours en l'absence de traitement à une médiane de 199 jours. Sans traitement, aucune souris SMA n'a en effet dépassé l'âge de 16 jours alors que les souris ayant reçu l'AAV9-SMN survécurent jusqu'à 340 jours. Le poids des souris traitées, 2 à 3 jours après leur naissance, était également significativement plus élevé que celui des souris non traitées.

L'apparence et l'activité spontanée des souris traitées par l'AAV9-SMN étaient identiques à celles de souris sauvages (Figure 1), l'unique différence entre ces souris étant l'apparition d'une nécrose inexplicée au niveau des oreilles et de la queue des souris traitées. Une cataracte a également été observée à partir de 210 jours chez les souris traitées les plus âgées.

La quantité de protéine *Smn* produite dans différents tissus (y compris la moelle épinière et les muscles) a montré une importante augmentation chez les souris SMA traitées par l'AAV9 par rapport à celle mesurée chez des souris sauvages ou des souris SMA non traitées. Environ 50 % de motoneurons (en moyenne) (et jusqu'à 78 % chez une souris) exprimaient *SMN* dans la moelle épinière des souris traitées [9] (Figure 2).

Ces études pionnières réalisées chez la souris ont donc montré qu'une simple injection intraveineuse d'un AAV9 permettait le transfert de gène dans les motoneurons, malgré la présence de la barrière hémato-encéphalique [8]. Cette technique de thérapie génique a permis de réduire considérablement la pathologie dans un modèle de souris SMA [9]. L'ensemble de ces études précliniques qui ont permis une avancée biologique majeure, a été en partie réalisée à Généthon, une structure créée grâce aux opérations caritatives du Téléthon. Ils ont été résumés dans un brevet d'invention déposé en 2007 [11], bien avant qu'une équipe américaine dirigée par Brian Kaspar au *Nationwide hospital* (Ohio state university, Columbus) ne décrivent des résultats similaires dans la revue *Nature Biotechnology* en 2009 et en 2010 [12,13].



**Figure 3.** Ciblage efficace du système nerveux central chez le chat ayant reçu à la naissance une injection intraveineuse d'un AAV9-GFP. Les photographies illustrent la présence de nombreux motoneurones fluorescents dans la moelle épinière. La protéine fluorescente GFP a été détectée également dans les cellules gliales du cerveau, dans les neurones du ganglion de la racine dorsale, ainsi que dans les muscles squelettiques et d'autres organes périphériques, tels que le cœur, le foie, ou les intestins. Barkats M. PCT/EP2008/063297 GENETHON/CNRS (Oct. 5, 2007) (d'après [8, 12]).

Ces études précliniques offraient la possibilité de porter l'injection systémique de l'AAV9-SMN en clinique, en particulier pour les patients atteints de la forme pédiatrique de la SMA (SMA Type 1). Il était néanmoins nécessaire, avant cette application à l'homme, de montrer l'efficacité du ciblage dans le système nerveux central d'un animal de grande taille. Nous avons choisi le chat comme modèle [8] (Figure 3), contrairement à Kaspar et Samulski qui réalisèrent ensuite ces expériences sur des primates non-humains [14,15].

Un AAV9 exprimant le gène codant la protéine fluorescente GFP (*green fluorescent protein*) (AAV-GFP) a été administré à la naissance, par voie intraveineuse. L'analyse de la moelle épinière des chats ainsi traités a révélé la présence de nombreux motoneurones fluorescents, preuve de la présence de la GFP dans ces cellules. La GFP a également été détectée dans les cellules gliales du cerveau, dans les neurones du ganglion de la racine dorsale, ainsi que dans les muscles squelettiques et d'autres organes périphériques, tels que le cœur, le foie, ou les intestins [8, 14]. L'équipe du Dr Samulski, en utilisant des macaques Rhésus âgés de 3 à 4 ans, a également montré que l'administration de doses plus faibles d'AAV9-GFP cible préférentiellement les cellules gliales, plutôt que les neurones, et montrent un tropisme important des organes périphériques [15].

L'ensemble de ces résultats était donc prometteur pour le passage en clinique de l'injection systémique de l'AAV9-SMN chez les patients atteints de SMA de type 1.

### Le passage à l'homme

Le groupe de Kaspar a décidé de tester cette thérapie expérimentale en clinique chez des enfants atteints de SMA de type 1, en dépit des

forts risques estimés. Dans ce but, il a créé une compagnie pharmaceutique afin de développer l'AAV-SMN ZolgenSMA®. Les résultats de phase I, en accord avec ceux de phase III, ont montré avec un recul de 4 ans, une augmentation très significative de la survie et des fonctions motrices des patients après une seule injection de ZolgenSMA® dans une veine du bras ou de la jambe<sup>2</sup>. Cette firme de biotechnologie a ensuite été rachetée par un grand laboratoire pharmaceutique, et a annoncé le 24 mai 2019 que la FDA avait accepté la mise sur le marché du ZolgenSMA® pour le traitement d'enfants atteints de SMA, âgés de près de 2 ans, incluant des enfants pré-symptomatiques. Les résultats ont atteint des

niveaux d'amélioration jamais obtenus dans l'histoire de la maladie, les enfants traités pouvant s'asseoir, parler, avaler et quelques-uns, marcher. Après des années sans issue thérapeutique, le ZolgenSMA® est donc le premier et l'unique produit de thérapie génique approuvé par la FDA pour le traitement de la SMA. Il constitue une révolution médicale pour les enfants atteints de cette maladie. Comme tout médicament, l'injection de ZolgenSMA® s'accompagne cependant d'effets secondaires plus ou moins importants, le plus sérieux étant l'augmentation des enzymes hépatiques, ce qui pourrait causer d'importants dommages au foie des enfants traités. Il est donc vital d'associer l'administration de corticostéroïdes à l'injection de ZolgenSMA®.

Ce médicament a une valeur de 2,125 millions de dollars (pour une seule prise) (soit près de 1,9 million d'euros). Il est donc actuellement le médicament le plus cher au monde, ce qui a déclenché une polémique, ce coût étant considéré comme abusif [16].

### Conclusion

Nos travaux, qui représentent une avancée biologique majeure pour le traitement de la SMA (et d'autres maladies du système nerveux) ont permis, chez la souris modèle de SMA, la correction du gène anormal, y com-

<sup>2</sup> ClinicalTrials.gov number, NCT02122952

pris chez le gros animal. Ces travaux ont ensuite été exploités par une jeune *start-up* américaine, qui a développé ZolgenSMA® et effectué un premier essai clinique chez des enfants souffrant de SMA de type 1, la forme la plus grave de cette maladie. Cet essai clinique de phase I a montré des résultats extrêmement encourageants, les 15 patients traités étant toujours vivants à l'âge de 4 ans. Sur les 12 patients ayant reçu une forte dose de ZolgenSMA®, la plupart peuvent s'asseoir sans assistance, se nourrir et parler, et certains peuvent marcher de façon indépendante. En conclusion, chez des patients atteints de SMA type 1, une seule infusion intraveineuse d'un AAV9 contenant le gène codant la protéine SMN a augmenté significativement la durée de vie et entraîné une fonction motrice bien meilleure que dans des cohortes historiques. D'autres études seront cependant nécessaires pour confirmer l'efficacité et l'innocuité à très long terme de cette première thérapie. ♦

## SUMMARY

### SMA: from gene discovery to gene therapy

Spinal muscular atrophy (SMA) is the most common genetic disease leading to infant mortality. This neuro-muscular disorder is caused by the loss or mutation of the telomeric copy of the 'survival of motor neuron' (Smn) gene, termed SMN1. Loss of SMN1 leads to reduced SMN protein levels, inducing degeneration of motor neurons (MN) and progressive muscle weakness and atrophy. Gene therapy, consisting of reintroducing SMN1 in the MNs, is an attractive approach for SMA. We showed the most efficient rescue of SMA mice to date after a single intravenous injection of an AAV9 expressing SMN1, highlighting the considerable potential of this method for the treatment of human SMA. Recently, a startup led by the Dr Kaspar decided to test this experimental approach in children with SMA type 1. Dr Mendell, in charge of this clinical project, showed a very significant increase of the lifespan and motor function of the patients (until 4 years) after a single injection of AAV9-SMN1 (named ZolgenSMA®) into an arm or leg vein. This gene therapy treatment obtained a marketing authorization by the FDA in May 24 and is now the first efficient therapy for neuromuscular disease. ♦

## LIENS D'INTÉRÊT


L'auteur déclare n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

## RÉFÉRENCES

1. Verhaart IEC, Robertson A, Wilson IJ *et al.* Prevalence, incidence and carrier frequency of 5q-linked spinal muscular atrophy: a literature review. *Orphanet J Rare Dis* 2017; 12: 124.
2. Roberts DF, Chavez J, Court SD. The genetic component in child mortality. *Arch Dis Child* 1970; 45: 33-8.
3. Kolb SJ, Kissel JT. 2011, Spinal muscular atrophy: a timely review. *Arch Neurol* 2011; 68(8): 979-84.
4. Lefebvre S, Burglen L, Reboullet S, *et al.* Identification and characterization of a spinal muscular atrophy-determining gene. *Cell* 1995; 80: 155-65.
5. Monani UR. Spinal muscular atrophy: a deficiency in a ubiquitous protein; a motor neuron-specific disease. *Neuron* 2005; 48: 885-96.
6. Mailman MD, Heinz JW, Papp AC, *et al.* Molecular analysis of spinal muscular atrophy and modification of the phenotype by SMN2. *Genet Med* 2002; 4: 20-6.
7. McCarty DM. Self-complementary AAV vectors; advances and applications. *Mol Ther* 2008; 16: 1648-56.
8. Duque S, Joussemet B, Riviere C, *et al.* Intravenous administration of self-complementary AAV9 enables transgene delivery to adult motor neurons. *Mol Ther* 2009; 17: 1187-96.
9. Dominguez E, Marais T, Chatauret N, *et al.* Intravenous scAAV9 delivery of a codon-optimized SMN1 sequence rescues SMA mice. *Hum Mol Genet* 2011; 20: 681-93.
10. Le TT, Butchbach LT, Zhang ME, *et al.* SMNDelta7, the major product of the centromeric survival motor neuron (SMN2) gene, extends survival in mice with spinal muscular atrophy and associates with full-length SMN. *Hum Mol Genet* 2005; 14: 845-57.
11. Barkats M. Widespread gene delivery to motor neurons using peripheral injection of AAV vectors (US2019153474 (A1). May 10, 2007.
12. Foust KD, Nurre E, Montgomery CL, *et al.* Intravascular AAV9 preferentially targets neonatal neurons and adult astrocytes. *Nat Biotechnol* 2009; 27: 59-65.
13. Foust KD, Wang X, McGovern VL, *et al.* Rescue of the spinal muscular atrophy phenotype in a mouse model by early postnatal delivery of SMN. *Nat Biotechnol* 2010; 28: 271-4.
14. Bevan AK, Duque S, Foust KD, *et al.* Systemic gene delivery in large species for targeting spinal cord, brain, and peripheral tissues for pediatric disorders. *Mol Ther* 2011; 19(1): 1971-80.
15. Gray SJ, Matagne V, Bachaboia L, *et al.* Preclinical differences of intravascular AAV9 delivery to neurons and glia: a comparative study of adult mice and nonhuman primates. *Mol Ther* 2011; 19: 1058-69.
16. Nau JY. À quel prix le Zolgensma®, le médicament le plus cher du monde, sera-t-il vendu en France ? *Slate* 2019. <http://www.slate.fr/story/178845/sante-medicaments-zolgensma-novartis-avexis-fixation-prix-transparence>

## TIRÉS À PART

M. Barkats



**Tarifs d'abonnement m/s - 2020**

**Abonnez-vous**

**à médecine/sciences**

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

---

**Bulletin d'abonnement**

**page 186 dans ce numéro de m/s**

---

