

MORBIDITÉ, MORTALITÉ : problèmes de mesure, facteurs d'évolution, essai de prospective.

Colloque international de Sinaia (2-6 septembre 1996)



ASSOCIATION INTERNATIONALE DES DÉMOGRAPHES DE LANGUE FRANÇAISE

AIDELF

La cartographie du génome humain : Localisation des gènes, médecine prédictive et thérapie génique

Gil BELLIS

Institut National d'Études Démographiques, Paris, France

La possibilité que l'on a aujourd'hui de cartographier le génome humain⁽¹⁾ fait suite aux progrès qu'a connus le génie génétique au cours des années 1980. Cette entreprise représente, en biologie et en médecine, une avancée considérable et nourrit de nombreux espoirs, notamment en matière de diagnostic et de thérapie des maladies héréditaires. Ces deux points seront développés et discutés après une présentation des méthodes habituellement employées pour cartographier les gènes.

1. Quelques données préalables

On recense actuellement près de 4200 maladies monogéniques, ces maladies étant héréditaires et dues aux anomalies – ou mutations – présentées à chaque fois par un seul gène. En Europe occidentale, ces affections se manifestent chez 2,5 % environ des nouveau-nés et conduisent, en partie, au décès durant l'enfance. Autre donnée plus complète : une étude menée dans l'état canadien de la Colombie Britannique et portant sur un million de nouveau-nés a montré qu'avant l'âge de 25 ans, 5,3 % des sujets observés ont présenté une maladie grave à composante génétique, ceci pouvant être une anomalie chromosomique, une maladie monogénique ou un désordre multifactoriel, des facteurs environnementaux étant impliqués dans ce cas en plus du trouble génétique (Baird et al., 1988).

En matière de morbidité et de mortalité, les connaissances acquises sur les pathologies génétiques chez l'homme se sont limitées, jusqu'au milieu de notre siècle, à de seules indications cliniques et à leur caractère héréditaire. En dehors des maladies que l'on parvenait à lier au chromosome X – celles-ci s'expriment pleinement chez les sujets de sexe masculin et sont facilement identifiables à l'examen généalogique – il était le plus souvent impossible d'individualiser le chromosome, et encore moins, de localiser sur ce chromosome le gène responsable de telle ou telle maladie. Faute d'une localisation et d'une connaissance précise du gène, la nature des mutations ainsi que les mécanismes pathogéniques restaient en conséquence totalement méconnus.

De nombreuses équipes ont ainsi orienté leurs travaux sur la localisation de défauts génétiques responsables de maladies graves, ce qui a produit une série de résultats importants, en particulier la découverte du gène de la myopathie de Duchenne en 1986 ou celui de la mucoviscidose en 1989. Ces travaux restaient cependant ponctuels et sans réelle coordination. Aussi en 1986, dans le cadre du Projet sur le génome humain (PGH), plusieurs groupes de scientifiques ont proposé que des travaux concertés soient réalisés afin d'analyser, de façon systématique, la totalité de notre génome (OCDE, 1995).

2. La cartographie du génome : quelques points de méthode et résultats

Il n'y a pas de méthode directe permettant de caractériser, d'emblée, un gène sur un chromosome. Une succession d'étapes est nécessaire; la première consiste à étudier, dans des familles, la cotransmission d'une maladie héréditaire et d'une série de marqueurs. Dans ce

⁽¹⁾ Le génome contient la totalité de l'information génétique présentée par une espèce. Cette information est fournie par l'ADN, le constituant des chromosomes.

cas, la maladie est bien identifiée sur le plan clinique mais le gène qui en est responsable n'est pas connu; quant aux marqueurs, ce sont de très courtes séquences d'ADN – la plupart d'entre elles n'ont pas de fonctions codantes particulières – parfaitement repérables sur un chromosome. Disposant de ces éléments, les généticiens tirent profit du comportement des chromosomes lors des divisions cellulaires; en effet, la transmission simultanée du gène et d'un marqueur donné sera fonction de leur proximité : un marqueur très proche du gène aura une probabilité plus forte d'être hérité avec ce dernier qu'un marqueur très éloigné⁽²⁾. Au niveau familial, qui est le niveau de l'observation, ceci se traduira par des associations préférentielles entre les individus atteints ou non atteints et la présence ou l'absence de certains marqueurs. Une étude appropriée de ces associations – c'est le cas de l'analyse de liaison – permettra finalement de situer l'emplacement du gène responsable de la maladie par rapport à ces balises que représentent les courtes séquences d'ADN.

Pour répondre à cette approche et à cette stratégie de localisation des maladies héréditaires, un des buts fixés par le PGH a été de jalonner les chromosomes par un nombre élevé de marqueurs, situés aussi près que possible les uns des autres, établissant en cela une carte génétique du génome humain. La première carte de ce type a été publiée en 1987 mais restait encore assez peu informative. Le Centre d'étude du polymorphisme humain (CEPH), en étudiant plus de 500 personnes appartenant à 40 familles, ainsi que le Généthon ont permis, grâce à des techniques automatisées, de produire plusieurs cartes génétiques de haute résolution dont la dernière, publiée en 1996, comprenait 5264 marqueurs (Dib et al., 1996).

Quand l'ordre des gènes est établi, la seconde étape consiste à en mesurer la taille ainsi que les distances qui les séparent. Il ne s'agit plus ici d'études familiales mais d'études moléculaires où il est fait appel à différentes techniques, dont le clonage de l'ADN. Quel que soit le procédé technique employé, l'objectif est d'établir cette fois une carte physique du génome où sera dessinée, le long de chaque chromosome, la topographie des gènes.

L'établissement d'une carte physique donne lieu enfin à la troisième étape, le séquençage complet de l'ADN. Ceci fournit la description la plus fine du gène, c'est-à-dire la succession exacte des bases moléculaires qui le constituent. S'agissant de la totalité du génome humain, ces bases – il n'en existe que 4 différentes, que l'on désigne habituellement par leurs initiales : A, T, G et C – sont au nombre de 3 milliards. Les différentes étapes de la cartographie du génome sont résumées sur la figure 1.

Le séquençage complet de l'ADN humain requiert une haute technicité et représente un coût très élevé. Le nombre de gènes connus et décrits s'accroît régulièrement (figure 2) et malgré l'ampleur de la tâche – on estime qu'il y a chez l'homme entre 50 000 et 100 000 gènes – le PGH a fixé comme objectif, à la fin de l'an 2001, la localisation de tous les gènes et le séquençage d'une grande partie de leur ADN.

3. Médecine prédictive et thérapie génique

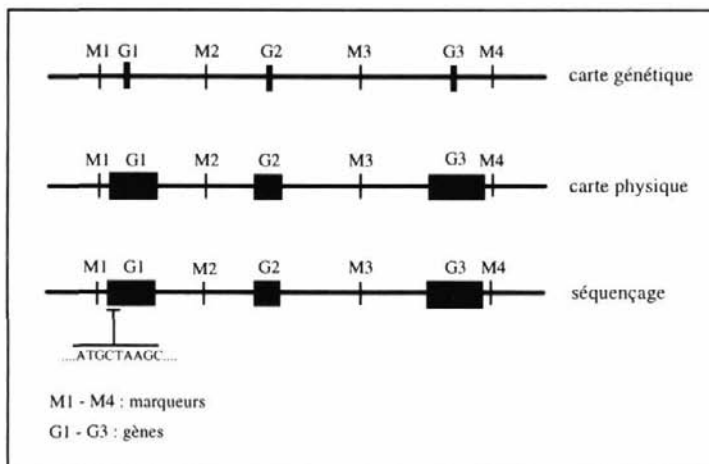
La cartographie des gènes a deux applications immédiates dans le domaine de la santé, la médecine prédictive et la thérapie génique.

La médecine prédictive concerne la possibilité de porter, dès le stade prénatal, un diagnostic de maladie héréditaire. En pratique, ce diagnostic n'est effectué que lorsqu'existe, pour un couple, un risque de donner naissance à un enfant malade; c'est le cas des couples

⁽²⁾ Ceci correspond au phénomène de la recombinaison génétique.

ayant déjà eu un premier enfant atteint ou de ceux dont le génotype hétérozygote⁽³⁾ est constaté à l'occasion d'un dépistage dans une population. L'analyse de l'ADN chez le fœtus s'effectuera sur des cellules prélevées par amniocentèse, ce qui n'est réalisable qu'entre les 14^e et 17^e semaines d'aménorrhée ou sur des villosités chorales⁽⁴⁾ dont le prélèvement est possible entre les 8^e et 10^e semaines d'aménorrhée. Selon la maladie à diagnostiquer, le gène concerné peut être ou non séquencé. Ainsi, pour analyser l'ADN fœtal, on emploiera soit une méthode directe : on sait où se situe la mutation, c'est-à-dire l'endroit du gène où les bases moléculaires sont modifiées, et on en recherche l'existence; soit une méthode indirecte : on vérifie si l'on retrouve chez le fœtus les marqueurs de l'ADN habituellement associés à la maladie. La recherche directe de la mutation est la procédure naturellement préférée en raison de sa précision diagnostique. Si le résultat de la détection de l'anomalie est positif, des informations sur la maladie que présentera l'enfant à naître sont données aux parents, en particulier la nature et la gravité des troubles, leur évolution ainsi que les solutions thérapeutiques disponibles. Ces informations permettront au couple de décider de mener la grossesse à son terme ou de recourir à un avortement.

FIGURE 1 - LES DIFFÉRENTES ÉTAPES DE LA CARTOGRAPHIE DES GÈNES SUR UN SEGMENT CHROMOSOMIQUE



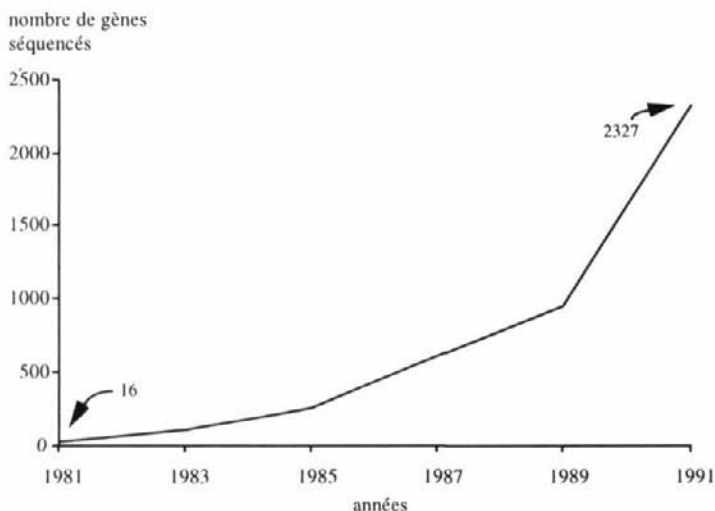
S'il permet de contrôler et de diminuer l'apparition des maladies génétiques, au moins au niveau familial, le diagnostic prénatal connaît cependant un certain nombre de limites :

— Il existe des maladies héréditaires dont la manifestation est tardive. Selon le cas, si l'histoire de la maladie dans une famille n'est pas suffisamment évocatrice, des porteurs de la mutation peuvent, bien avant que les symptômes n'apparaissent, transmettre l'anomalie à leurs descendants. Ignorer ce risque de transmission au cours de la période de reproduction rend impossible l'application du diagnostic prénatal alors que le gène impliqué peut être localisé ou séquencé;

⁽³⁾ Un génotype hétérozygote correspond à la situation où les deux gènes qui sont situés en un même endroit sur une paire de chromosomes sont différents.

⁽⁴⁾ Les villosités chorales sont les replis situés sur la surface externe du placenta. Le prélèvement des villosités chorales correspond à la technique de la choriocentèse.

FIGURE 2 - NOMBRE DE GÈNES SÉQUENCÉS AU COURS DE LA PÉRIODE 1981-1991
(Source : Human Gene Mapping Workshops)



– Une maladie héréditaire peut résulter de nombreuses mutations différentes situées à l'intérieur d'un même gène. De plus, le profil des mutations peut varier selon les groupes ethniques. Le diagnostic prénatal étant actuellement une pratique très spécialisée, quelques-unes de ces mutations seulement – généralement les plus fréquentes – sont explorées. Ainsi, la détection par analyse de l'ADN peut échouer si le sujet est porteur d'une mutation différente de celles qui sont habituellement recherchées;

– Le diagnostic prénatal permet, s'il est négatif, d'éliminer le risque de présenter un handicap particulier après la naissance mais n'élimine pas tous les risques de maladies génétiques. Hormis le fait que les tests ne sont possibles que pour les gènes qui ont été localisés ou séquencés, le polymorphisme présenté naturellement par les populations et l'apparition spontanée de nouvelles mutations peuvent être à l'origine de la survenue de troubles génétiques plus ou moins graves.

Les connaissances acquises à la suite de la cartographie du génome permettent d'isoler un gène particulier, d'en connaître l'expression et la fonction, normale ou pathologique. On est ainsi en mesure aujourd'hui de procéder à la thérapie génique en transférant, chez un sujet atteint d'une maladie héréditaire, un gène qui synthétisera une protéine normale et qui suppléera celle qui est défectueuse et pathogène⁽⁵⁾. Très schématiquement, le transfert du gène sain se fait par l'intermédiaire d'un vecteur, généralement un virus injecté *in vivo* ou *ex vivo*, capable de reconnaître et de s'introduire dans les cellules dont le fonctionnement doit être modifié. Le gène sain ayant été « installé » dans le génome viral, l'insertion dans les cellules cibles se traduira par la production d'une quantité suffisante de protéine pour corriger le défaut héréditaire. La thérapie génique a été appliquée la première fois en 1990, chez une patiente âgée de 4 ans et souffrant d'un déficit immunitaire grave (Anderson, 1992). Aujourd'hui, de nombreux protocoles de thérapie génique ont été approuvés et sont en cours de réalisation; ceux-ci portent principalement sur des cancers mais également sur des maladies monogéniques

⁽⁵⁾ Il convient de préciser que la thérapie génique, malgré des essais thérapeutiques concluants, en est encore au stade expérimental.

telles que l'hémophilie, la myopathie de Duchenne ou la mucoviscidose. Pour nombre de ces maladies, il est encore trop tôt pour parler réellement de guérison. Dans le cas de la mucoviscidose par exemple, le premier essai clinique réalisé en France a débuté en 1994 et l'innocuité du vecteur – un virus modifié administré dans les voies respiratoires – est à confirmer, tant pour le patient que pour son environnement (Bellon et al., 1994).

En corrigeant, non plus les symptômes, mais l'origine des maladies héréditaires, la thérapie génique procure aux patients traités une amélioration durable de leur état de santé. Il faut cependant préciser que ce type de traitement fait l'objet d'une réglementation et qu'il n'est effectué que sur les cellules somatiques, à l'exclusion des cellules germinales. Cela signifie que les caractéristiques organiques et fonctionnelles d'un individu peuvent être modifiées mais ceci ne doit pas affecter son patrimoine héréditaire; en conséquence, la correction du gène défectueux n'empêchera pas l'apparition de la maladie chez ses descendants.

Conclusion

Accéder aux gènes et parvenir à des actes diagnostiques et thérapeutiques relèvent certes de la biologie et de la médecine, mais également de l'éthique.

La localisation de gènes et de mutations qui sont à l'origine de maladies, de dysfonctions ou qui peuvent, compte tenu du mode de vie, prédisposer à certaines pathologies, ne conduit pas toujours à une définition univoque et évidente du handicap. S'agissant du diagnostic prénatal et d'une de ses conséquences, l'interruption volontaire de grossesse, se pose ainsi la question d'une régulation qualitative des naissances.

Concernant la thérapie génique, domaine où de nombreuses dispositions éthiques et juridiques ont été adoptées, une limite est établie entre réparation d'un défaut et amélioration de l'individu. De ce point de vue, les affections qui sont justiciables de ce type de traitement sont des maladies graves pour lesquelles il n'existe pas d'autre possibilité thérapeutique.

L'éthique concerne également l'information obtenue sur les individus et ce qui relève du consentement et de la confidentialité. Au plan familial, les conséquences psychologiques du diagnostic prédictif sont telles, qu'il est nécessaire de respecter chez ceux qui le souhaitent le droit de ne pas savoir.

BIBLIOGRAPHIE

- ANDERSON W.F., 1992 - « Human gene therapy », *Science*, 256, pp. 808-813.
- BAIRD P.A., 1988 - « Genetic disorders in children and young adults : a population study », *Am. J. Hum. Genet.*, 42, pp. 677-693.
- BELLON G., PAVIRANI A., LAMY D., GILLY R., 1994 - « Peut-on guérir la mucoviscidose ? », *La Recherche*, 270, pp. 1119-1121.
- DIB C., FAURÉ S., FIZAMES C., SAMSON D., DROUOT N., VIGNAL A., MILLASSEAU P., MARC S., HAZAN J., SEBOUN E., LATHROP M., GYAPAY G., MORISSETTE J., WEISSENBACH J., 1996 - « A comprehensive genetic map of the human genome based on 5264 microsatellites », *Nature*, 380, pp. 152-154.
- ORGANISATION DE COOPÉRATION ET DE DÉVELOPPEMENT ÉCONOMIQUES (OCDE), 1995 - *Le grand programme sur le génome humain*, Paris, Éditions de l'OCDE, 81 p.