

# La production de médicaments par les OGM

L.M. HOUDEBINE

Unité de biologie du Développement et Biotechnologies

INRA

78352 Jouy-en-Josas Cedex

Depuis les temps les plus reculés, les communautés humaines ont recherché dans leur environnement des substances capables de soulager leurs douleurs voire de les guérir de certaines maladies. Un exemple est celui des extraits de saule qui contiennent de l'acide salicylique. La situation a profondément changé lorsque la synthèse chimique de diverses molécules est devenue possible. Ainsi est née l'aspirine dont le succès ne se dément pas. C'est maintenant une industrie puissante qui synthétise des milliers de molécules et les soumet à des tests systématiques pour en évaluer les éventuelles propriétés pharmaceutiques. La connaissance prochaine de l'ensemble de gènes humains va fournir de nombreuses cibles nouvelles pour identifier des molécules ayant des propriétés thérapeutiques.

Une catégorie de molécules, les protéines, est restée pendant longtemps presque totalement en dehors de l'arsenal thérapeutique. Ce fait peut paraître paradoxal lorsque l'on connaît le rôle essentiel des protéines chez tous les organismes vivants. Les protéines sont des polymères de longueur variable contenant les mêmes 20 acides aminés placés dans un ordre qui définit chaque protéine. Les protéines sont un des constituants essentiels des cellules. Elles assurent une part essentielle des réactions biochimiques des cellules (comme la digestion des aliments par exemple ou la synthèse d'autres molécules biologiques). Certaines protéines sont des hormones (insuline, hormone de croissance) des anticorps, des facteurs sanguins etc..... La synthèse et la structure des protéines sont directement définies par les gènes. Chaque gène contient une information codée qui détermine l'ordre des acides aminés et donc les propriétés biologiques d'une protéine. Les systèmes de régulation induisent la synthèse de telle ou telle protéine à chaque fois qu'une cellule ou un organisme en a besoin (Figure 1). Le code de correspondance qui permet le passage du message contenu dans un gène à la protéine correspondante est connu depuis 40 ans. C'est le code génétique (Figure 2). Les gènes ont pour support moléculaire l'ADN (acide désoxyribonucléique) qui est composé d'un squelette de désoxyribose et de phosphate sur lesquels sont accrochés les 4 bases ATGC. La succession des bases, associées 3 par 3, définit quel acide aminé doit être utilisé pour synthétiser une protéine.

Le génie génétique inventé il y a 25 ans découle très logiquement de ces découvertes. Les messages génétiques sont linéaires comme ceux d'une bande magnétique. Les biologistes se sont dotés de moyens nécessaires pour isoler l'ADN et les gènes, les découper en fragments, associer des fragments divers pour créer de nouveaux gènes et les réintégrer dans des cellules ou des organismes (Figure 3). Il est donc ainsi possible de modifier le patrimoine génétique d'un organisme génétiquement modifié (OGM) ayant des propriétés plus ou moins nouvelles. On a ainsi pu ajouter des gènes dans des bactéries et des levures, il y a 25 ans, dans des animaux il y a 20 ans et dans des plantes il y a 17 ans.

Il est immédiatement apparu logique de tenter d'utiliser ces méthodes pour préparer des protéines ayant des activités thérapeutiques. Le concept était validé puisque l'insuline, l'hormone de

croissance et quelques autres protéines étaient déjà utilisées couramment comme médicaments. Ce nombre est resté très faible en comparaison des possibilités théoriques. Ceci tient au fait que la synthèse chimique des protéines est trop complexe et trop coûteuse pour être pratiquée à l'échelle industrielle. On devait donc se contenter de protéines extraites du corps humain (hormone de croissance) ou de celui des animaux (insuline de porc). Le génie génétique offrait donc de nouvelles possibilités qui ont été rapidement explorées.

L'insuline, l'hormone de croissance puis quelques dizaines de protéines donc le vaccin de l'hépatite B ont été préparées à partir de bactéries ou de cellules animales génétiquement modifiées.

Certaines protéines ont une composition trop complexe pour être synthétisées sous une forme active par les bactéries. C'est le cas de l'erythropoïétine qui doit être synthétisée par des cellules animales génétiquement modifiées. Les cellules en culture quelles qu'elles soient ne peuvent par ailleurs synthétiser des quantités de protéines très importantes à un coût acceptable. L'idée d'exploiter les animaux ou les plantes transgéniques s'est donc rapidement imposée.

L'opération consiste à isoler le gène codant pour la protéine d'intérêt, à l'associer à des éléments régulateurs capables de diriger la synthèse et la sécrétion de la protéine et d'introduire le gène dans un embryon au stade une cellule. Les animaux transgéniques ainsi obtenus sécréteront la protéine, par exemple dans leur lait (Figure 4). Le gène étranger peut également être introduit dans des cellules dont les noyaux sont ensuite utilisés pour donner naissance à des animaux clonés transgéniques (Figure 5).

Diverses sources de protéines ont été ou sont envisagées. Le lait apparaît actuellement la meilleure. Le sang, le plasma germinal du sperme de porc, le blanc d'œuf sont d'autres possibilités actuellement explorées. Les plantes génétiquement modifiées sont également mises en œuvre dans ce but, les protéines d'intérêt pharmaceutique se retrouvant dans les feuilles ou les graines selon les cas.

Cette aventure a commencé en 1986 avec la naissance des premières souris transgéniques qui avaient dans leur lait du tPA humain (une substance anticoagulante). Plusieurs entreprises sont nées à partir de cette idée. Les plus anciennes ont maintenant un peu plus de 10 ans.

Aucune molécule n'est actuellement mise sur le marché. Ceci n'est en rien surprenant quand on songe qu'il s'agissait de mettre en œuvre un tout nouveau procédé et que, de toutes façons, l'autorisation de mise sur le marché (AMM) n'est possible qu'après des examens très nombreux et approfondis de tous les effets des molécules thérapeutiques.

Cette jeune industrie qui a parfois quelque difficulté à vivre en attendant des retours financiers a de beaux succès expérimentaux à afficher. Une centaine de protéines ont été obtenues à partir du lait de souris, de lapins, de porcs, de moutons, de chiens et de vaches. Ces protéines sont très diverses. Certaines sont des facteurs sanguins (facteur VIII, facteur IX,  $\alpha_1$ -erythropoïétine, insuline.). Plusieurs antigènes susceptibles de servir de vaccins ont également été obtenus dans le lait. Des molécules complexes comme certaines enzymes (EC superoxyde dismutases), des molécules structurales (collagène), du fibrinogène, et des anticorps monoclonaux et même de la soie d'araignée ont ainsi pu être synthétisés à titre expérimental. Ceci indique que la glande mammaire a des capacités très intéressantes pour synthétiser et de sécréter des protéines qui lui sont totalement étrangères.

Certaines de ces protéines sont soumises à des études pré cliniques et cliniques. L' $\alpha_1$ -antitrypsine qui a des activités anti-emphysème est en phase 3 d'essais cliniques pour traiter la mucoviscidose. Plusieurs protéines anticoagulantes, l'antithrombine III, la protéine C et le tPA sont également en cours d'étude. Le collagène et le fibrinogène pourraient devenir des éléments utilisés en chirurgie réparatrice. La soie d'araignée qui a des propriétés mécaniques exceptionnelles (résistance et souplesse) pourrait servir comme matériau pour la chirurgie mais également pour fabriquer divers objets industriels. De nombreux anticorps monoclonaux seront très probablement préparés à partir du lait d'animaux transgéniques. Plusieurs d'entre eux sont actuellement produits dans de gros animaux et soumis à des essais cliniques. Les anticorps monoclonaux peuvent servir à diverses choses : assurer une immunisation passive contre des maladies pour lesquelles d'autres thérapies ne sont pas disponibles (ou

ne le sont plus comme dans le cas de bactéries devenues résistantes à des antibiotiques), diriger des molécules toxiques contre des cellules tumorales et plus généralement pour bloquer certains mécanismes biologiques comme des réactions inflammatoires. La variété des anticorps possibles est considérable puisque la nature crée elle-même cette diversité et que les expérimentateurs ont les moyens de l'augmenter encore. Un des résultats les plus spectaculaires est sans doute l'administration d' $\alpha$ -glucosidase humaine extraite de lait de lapins transgéniques à des enfants nouveaux-nés. Ces enfants atteints d'une maladie héréditaire, la maladie de Pompe, qui étaient voués à une mort inéluctable sont, grâce à ce nouveau traitement, encore en vie.

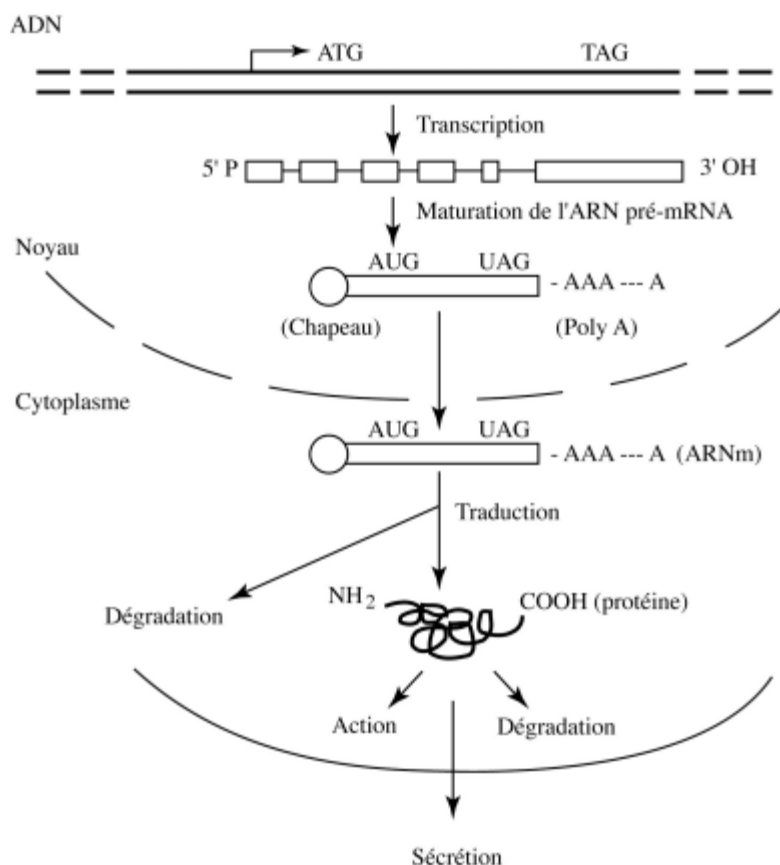
Il est admis que le nombre de protéines recombinantes d'intérêt pharmaceutique à produire va devenir si élevé que l'ensemble des systèmes de production ne sera pas de trop. Aux animaux s'ajoutent les plantes transgéniques. Un des projets les plus avancés est la production de lipase de chien destinée à traiter les patients atteints de mucoviscidose. Plusieurs anticorps parfaitement actifs ont également été obtenus par les plantes. L'un de deux ajoutés à la nourriture a été capable de protéger des souris contre des bactéries qui sont responsables des caries dentaires.

Tous ces systèmes de production de protéines recombinantes d'intérêt pharmaceutique ont leurs avantages et leurs limites. Comme il a été mentionné plus haut, la puissance de ce que l'on appelle communément les biofermenteurs est seule capable de répondre quantitativement aux problèmes posés. À terme, ces techniques permettront de ne plus utiliser de protéines extraites du sang ou des organes humains que l'on sait être la source potentielle d'infections mortelles. Les cellules animales mais aussi végétales se sont montrées capables de synthétiser des protéines complexes et pourtant parfaitement actives.

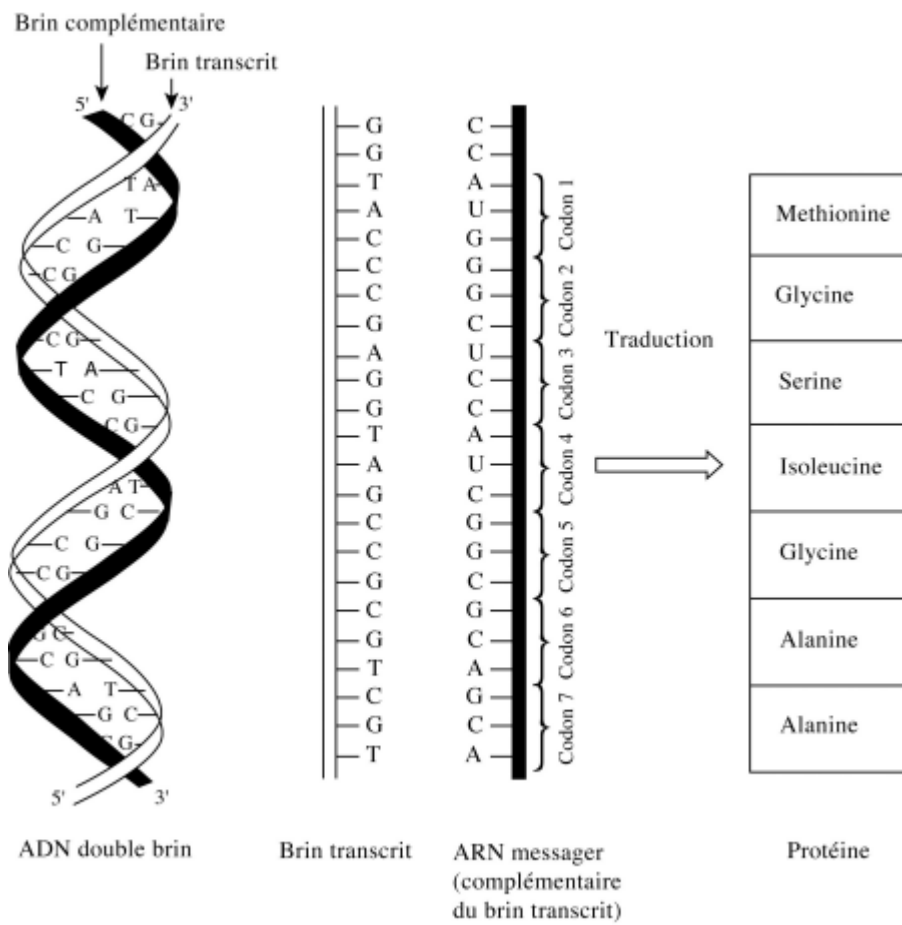
Ces techniques, comme les autres, ont leur limite. Pour des raisons encore difficilement explicables parfois, certains gènes s'avèrent peu capables de diriger la synthèse des protéines recombinantes. Ce problème tend à être résolu au fur et à mesure que le fonctionnement des gènes est mieux connu. Certaines protéines sont sécrétées sous une forme différente de leurs homologues natifs. Ceci peut dans certains cas interdire leur utilisation. Certaines protéines altèrent à des degrés divers la santé des animaux producteurs. Ceci peut poser des problèmes éthiques qui doivent recevoir une solution au cas par cas. Les problèmes environnementaux ne se posent pas pour les animaux tous maintenus dans des lieux confinés et parfaitement contrôlés. Le problème peut être plus délicat pour les plantes dans certains cas au moins. Elles peuvent toutefois être stérilisées si la production se fait dans les feuilles et non dans la graine. L'utilisation d'un système contrôlant la reproduction (comme celui dénommé par certains Terminator) doit permettre également d'éliminer la dissémination des plantes transgéniques. Les plantes peuvent de toutes façons être maintenues dans des serres ou dans des lieux isolés.

Une question qui préoccupe à juste titre les instances réglementaires concerne la transmission éventuelle d'agents pathogènes, notamment des prions, des animaux producteurs aux patients. Des procédures rigoureuses qui ne sont pas pour rien dans la relative lenteur avec laquelle les molécules déjà prêtes arrivent sur le marché, doivent pouvoir contenir les risques dans des limites acceptables.

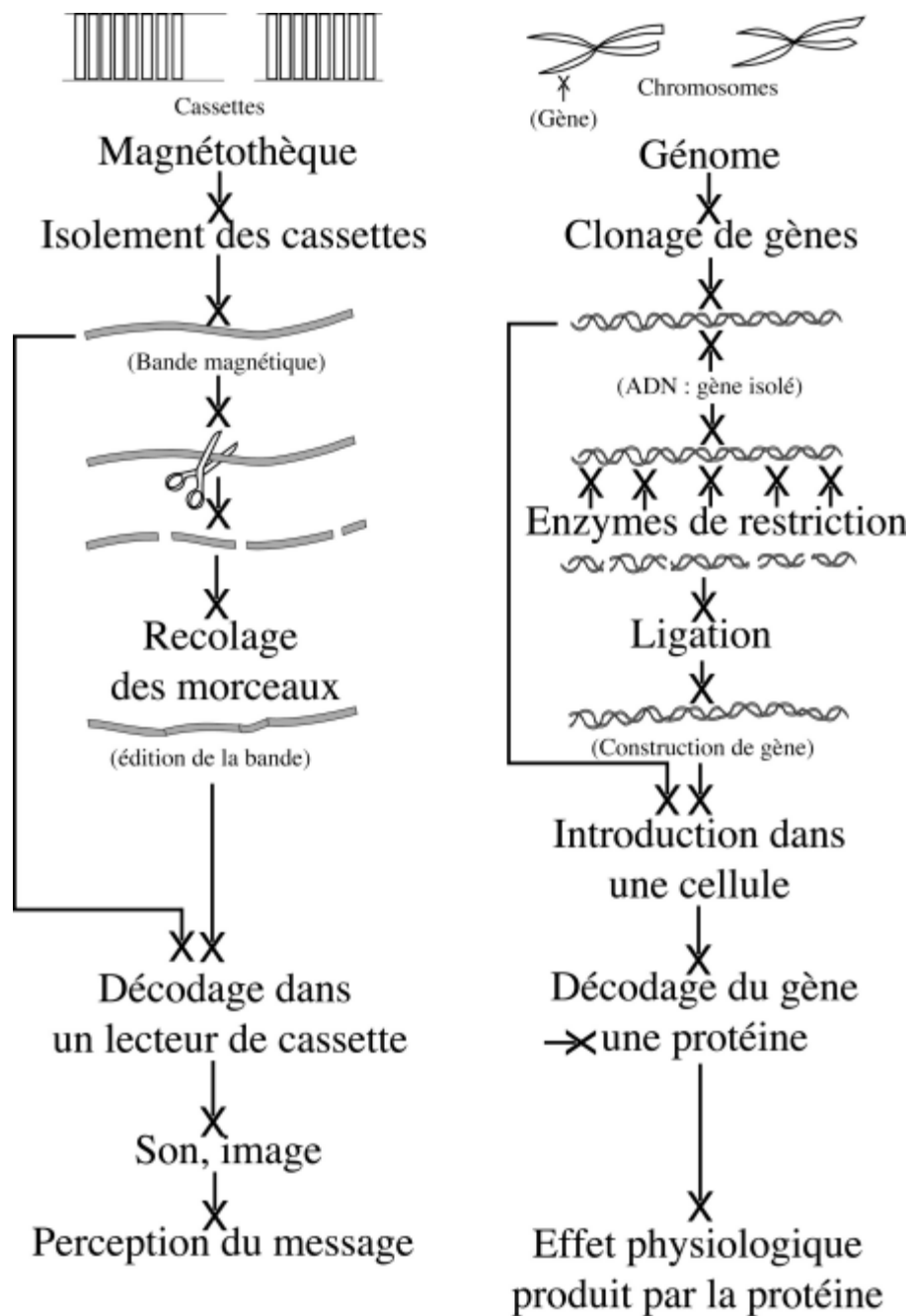
La synthèse d'insuline par les bactéries génétiquement modifiées, il y a 15 ans a été, à juste titre, considérée comme une des applications majeures et effectives du génie génétique. L'extension de ce concept à d'autres organismes vivants va désormais avoir un impact très significatif et sans précédent pour la santé humaine.



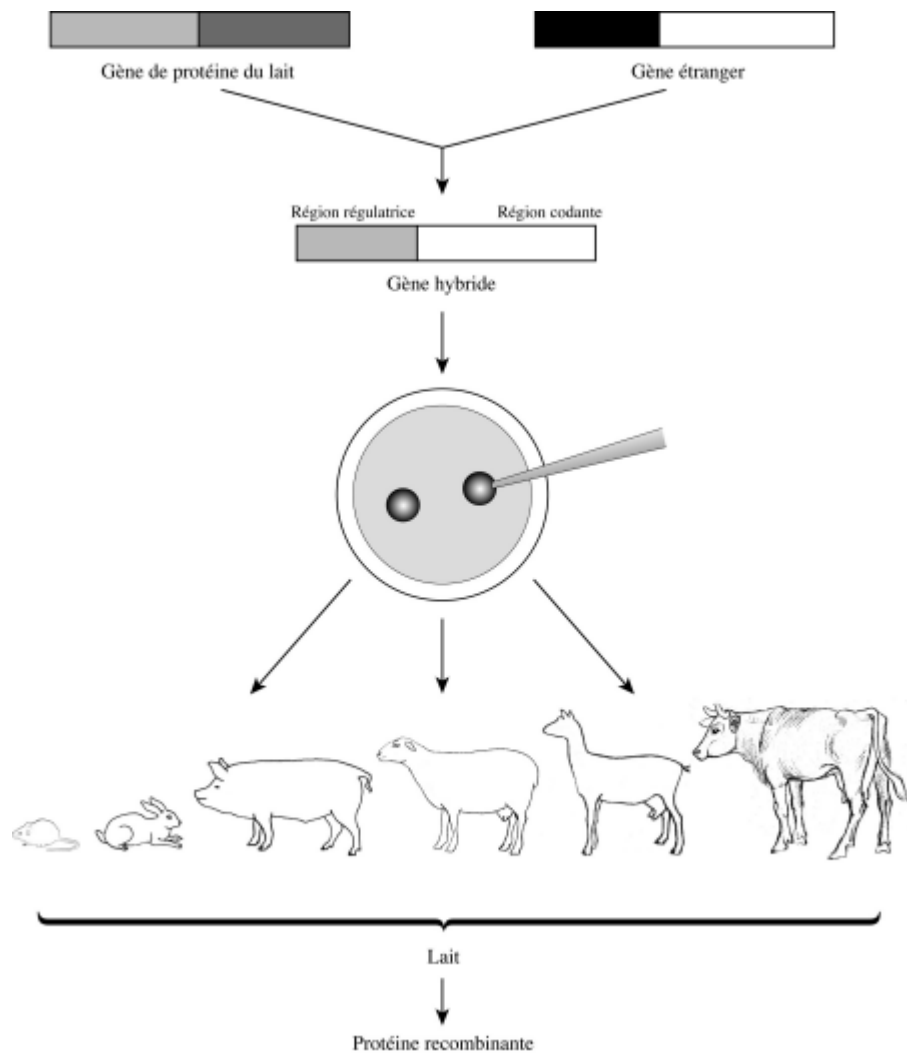
**Figure 1. Les mécanismes de l'expression génétique.** Une région de l'ADN contenant un gène est transcrit en ARNm qui est une copie exacte de l'ADN. L'ARNm doit perdre ses parties non codantes (les introns) pour ne conserver que les régions qui se retrouvent dans l'ARN dans l'ARNm mature (les exons). L'ARNm reçoit du côté 5'P une structure appelée chapeau et du côté 3'OH une séquence poly A. Dans le cytoplasme l'ARNm est traduit en protéine. Le message génétique commence par un codon AUG et se termine par un codon UAG. L'ARNm et la protéine sont finalement détruits pour permettre un arrêt de l'expression du gène.



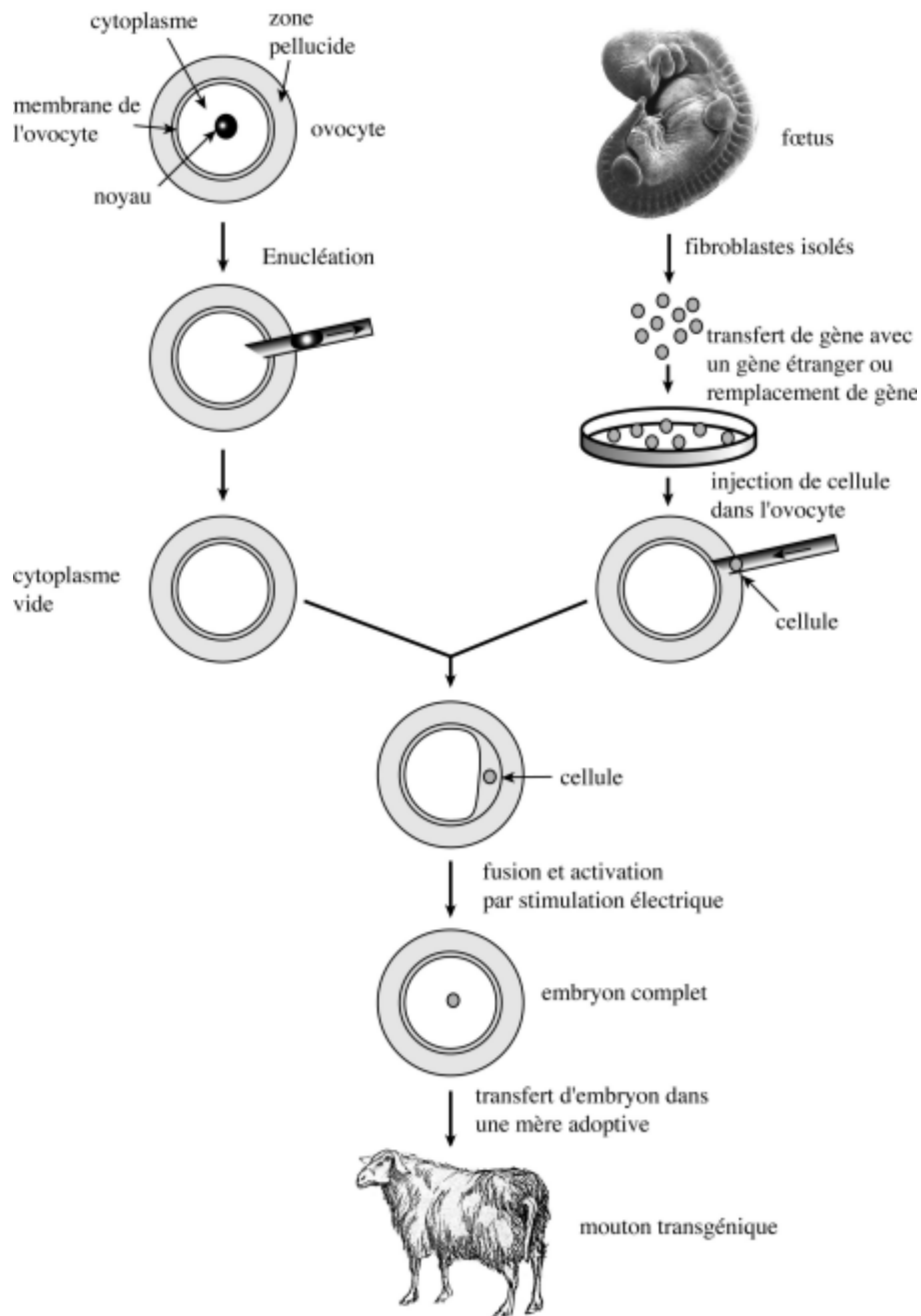
**Figure 2. Code génétique.** La succession des bases 3 à 3 de l'ADN et de l'ARNm définit directement la succession des acides aminés de la protéine correspondante.



**Figure 3. Le principe du génie génétique.** De la même manière qu'une bande magnétique contient des messages linéaires codés, l'ADN contient des messages codés par l'ordre des bases. Comme une bande magnétique l'ADN peut être découpé en fragments qui peuvent être associés de diverses manières. L'ensemble doit être décodé en protéine par une cellule.



**Figure 4. La sécrétion de protéines recombinantes dans le lait d'animaux transgéniques.** Le message contenu dans le gène codant pour la protéine est associé aux éléments régulateurs d'un gène de protéine du lait. Le gène hybride s'exprime dans la glande mammaire des animaux transgéniques et la protéine correspondante est sécrétée dans leur lait.



**Figure 5. Le transfert de gène via le clonage des animaux.** Le gène à transférer est introduit dans des cellules en culture. Les noyaux de ces cellules sont transférés dans le cytoplasme d'ovocytes énucléés. Les animaux qui naissent sont clonés et transgéniques.