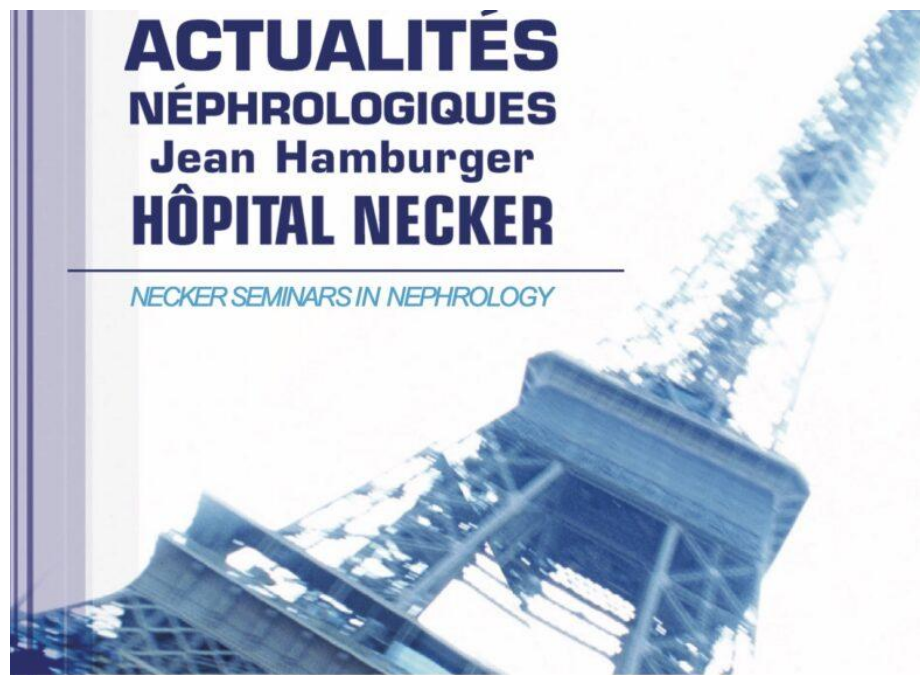




Thérapie génique pour les maladies rénales : rêve ou espoir ?

13 mai 2025

Guillaume DORVAL
Service de Médecine Génomique des Maladies Rares
Laboratoire des maladies rénales héréditaires
Hôpital Necker, Institut Imagine

Thérapie génique: Plan

- Éléments techniques et challenges de la thérapie génique pour les maladies rénales
- Applications cliniques et précliniques

3 March 1972, Volume

SCIENCE



Gene Therapy for Human Genetic Disease?

Proposals for genetic manipulation in humans raise
difficult scientific and ethical problems.

Theodore Friedmann and Richard Roblin

Thérapie génique: définitions

La thérapie génique est une **stratégie thérapeutique** qui consiste à **faire pénétrer des gènes dans les cellules ou les tissus** d'un individu **pour traiter une maladie**.

Méthode thérapeutique **utilisant les gènes** et l'information dont ils sont porteurs **pour traiter une maladie** génétique ou pour **modifier un comportement cellulaire**.

La thérapie génique est aussi envisagée comme une technique thérapeutique applicable à des **maladies non héréditaires** telles que le cancer ou le sida. Dans ces cas, la stratégie consiste à faire entrer dans les cellules malades (et dans aucune autre) un gène capable de les tuer

Thérapie génique: la loi

Convention pour la protection des droits de l'homme et de la dignité de l'être humain à l'égard
des applications de la biologie et de la médecine :
Convention sur les droits de l'homme et la biomédecine

« une intervention ayant pour objet de modifier le génome humain ne peut être entreprise que pour des raisons
préventives, diagnostiques ou thérapeutiques, et seulement si elle n'a pas pour but d'introduire une modification
dans le génome de la descendance »

Thérapeutiques modifiant l'utilisation du génome



ADN



Ajout d'un gène exogène

Modification d'un gène endogène

Thérapie génique

Thérapeutiques modifiant l'utilisation du génome



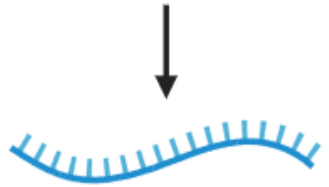
ADN



Ajout d'un gène exogène

Modification d'un gène endogène

Thérapie génique



ARN



Modifier l'ARN

- Ajout d'ARNm
- Dégradation
- Maturation
- ...

Thérapies à ARN
(Vaccins, ASO ..)

Thérapeutiques modifiant l'utilisation du génome



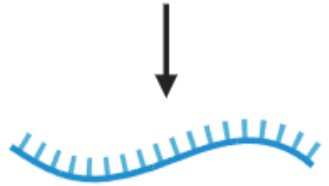
ADN



Ajout d'un gène exogène

Modification d'un gène endogène

Thérapie génique



ARN



Modifier l'ARN

- Ajout d'ARNm

- Dégradation

- Maturation

- ...

Thérapies à ARN
(Vaccins, ASO ..)



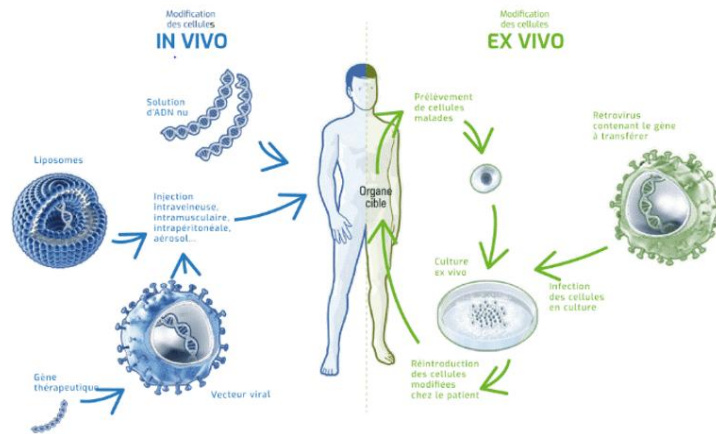
Protéine : structure primaire



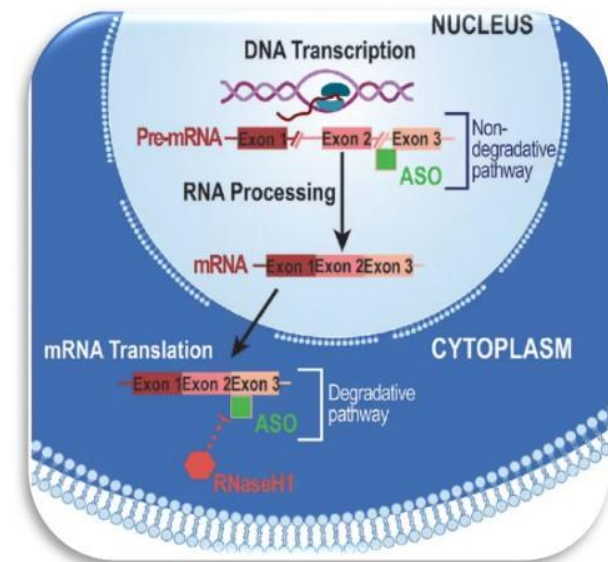
Protéine : structure tertiaire

Thérapeutiques modifiant l'utilisation du génome

Thérapie génique

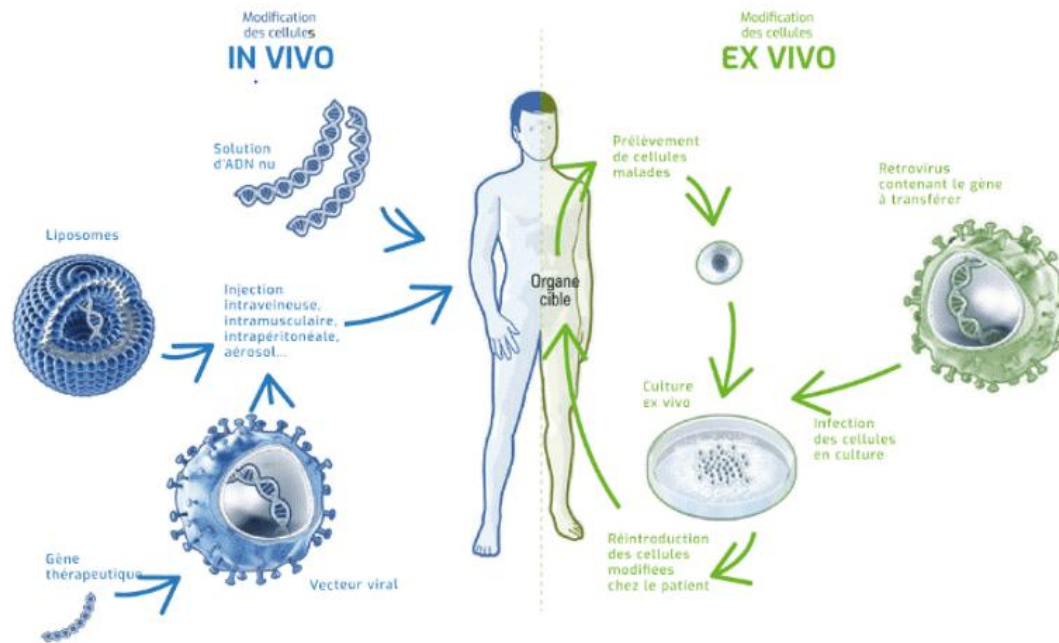


Thérapie à ARN (ASO)

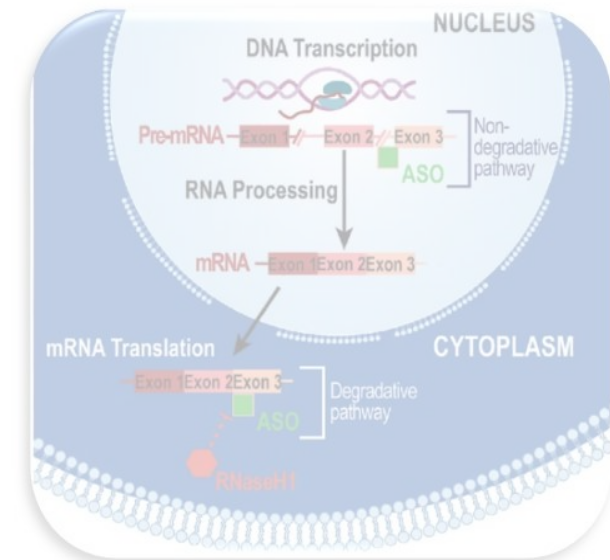


Thérapeutiques modifiant l'utilisation du génome

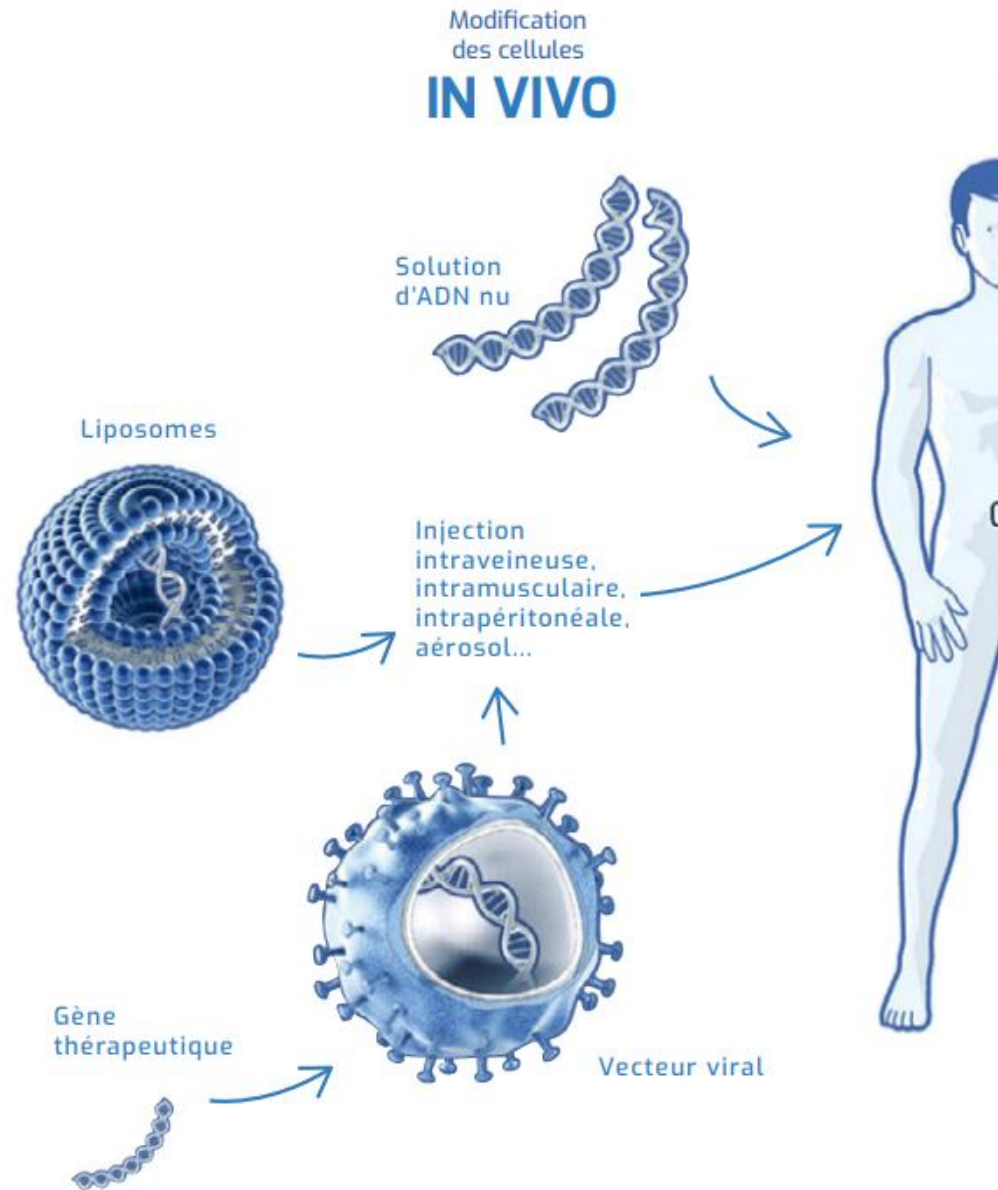
Thérapie génique



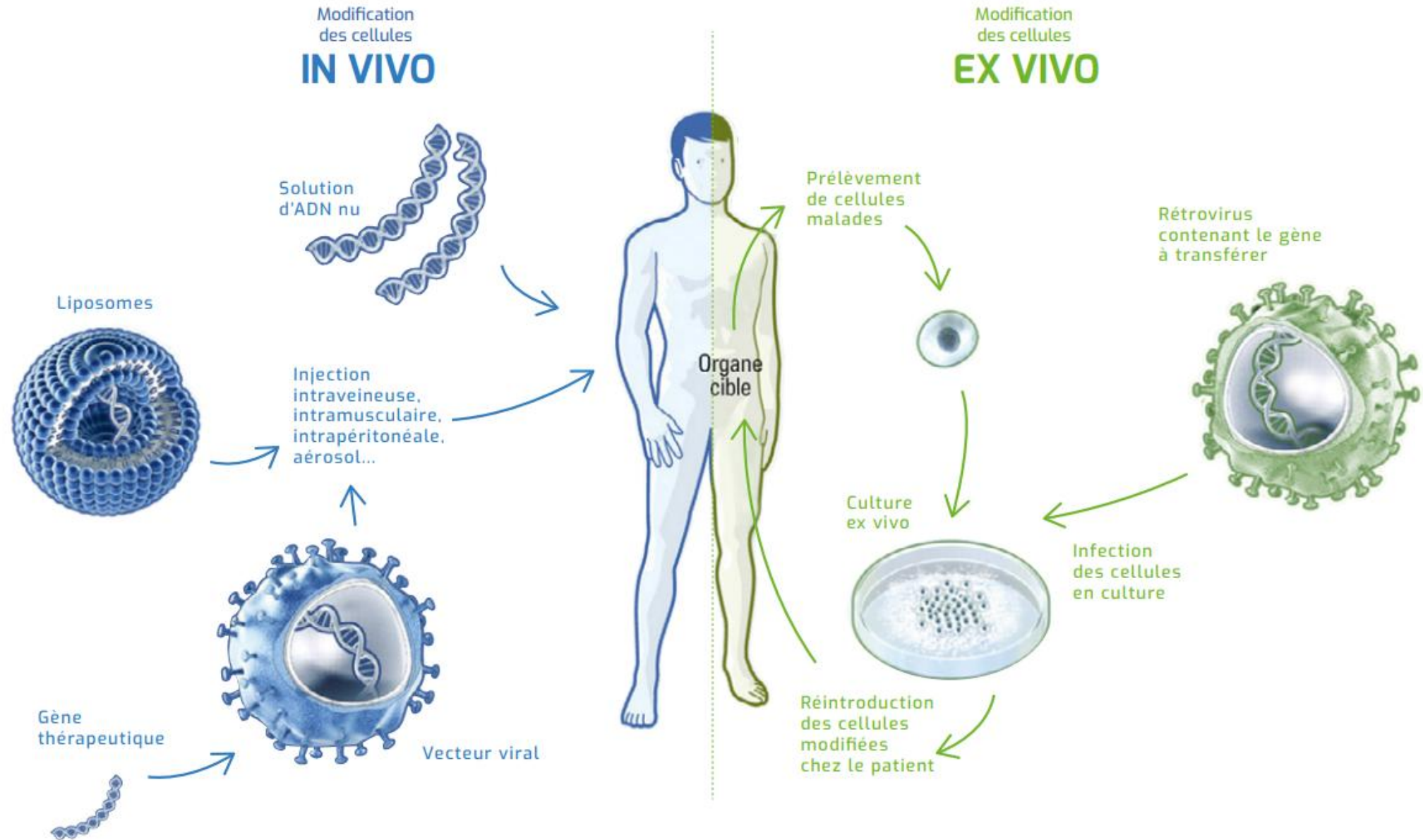
Thérapie à ARN (ASO)



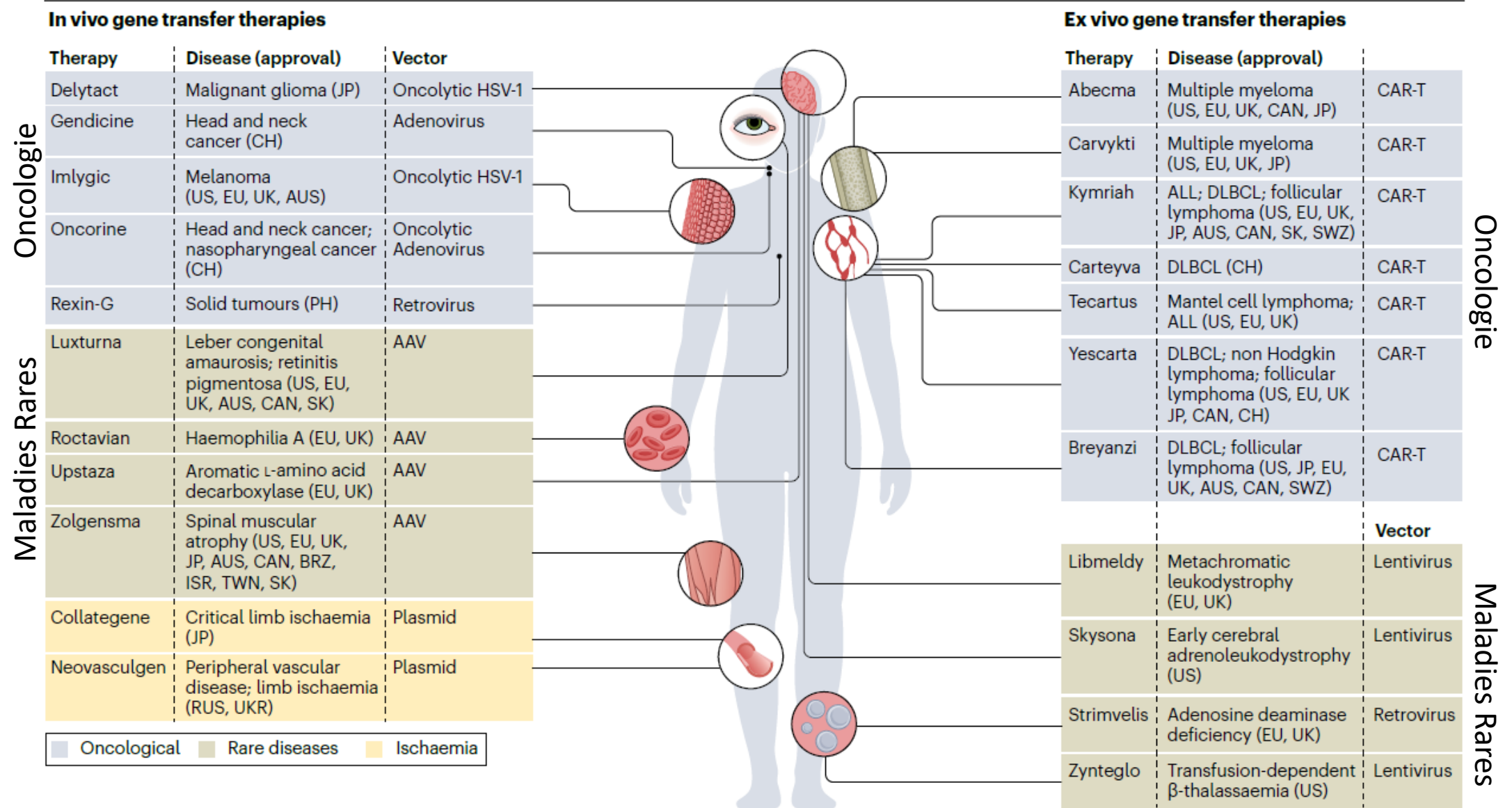
Thérapie génique: la technique



Thérapie génique: la technique



Approbation FDA ?



Challenges face aux maladies rénales



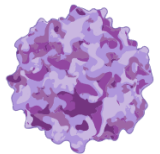
La cellule cible (>20 types cellulaires dans le rein)

- Cellule quiescente → pas de division (podocytes)
- Cellule en division → intégration ?



Le gène (600 gènes de néphropathies)

- taille pour le plasmide
- promoteur

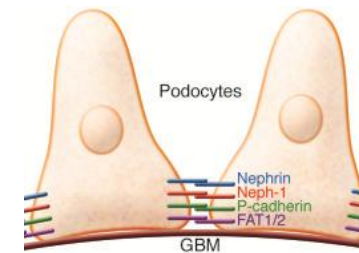


Identifier un vecteur / capsid (virus ou non)

- qui atteint la cellule cible
- qui y sera internalisé
- qui permettra l'expression du gène



Architecture rénale



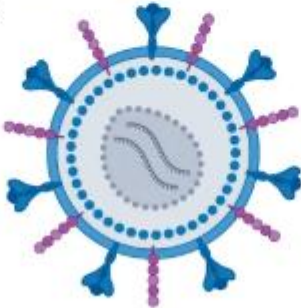
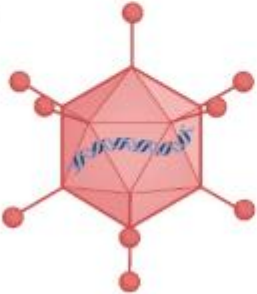
Diaphragme de fente
30 à 40nm

Quelle voie
d'administration ?

Quel vecteur ?

Thérapie génique : le vecteur

	AAV	Adenovirus	Lentivirus	Plasmid DNA	Nucleotides	Nanoparticle
Size	26 nm	80–100 nm	80–130 nm	>50 nm	~0.15 kb	30 to >~400 nm
Genome	DNA (ss)	DNA (ds)	RNA	DNA	RNA or DNA	RNA or DNA
Genome size	4.6 kb	36 kb	9 kb	Varies	Varies	Varies
Targeting	✓	✓	✓	–	–	✓
Immune response	Low-moderate	✓	Low	Low	Low	Low
Integration	Rare	–	✓	Possible	Possible	Possible

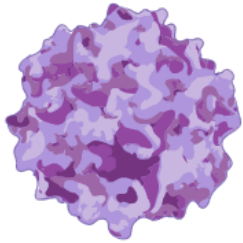


Promoteur 1,5kb + gène

- COL4A3-5 : 6,5-10kb
- NPHS1-2 : 1,1-3,2kb
- PKD1-2 : 5-14kb

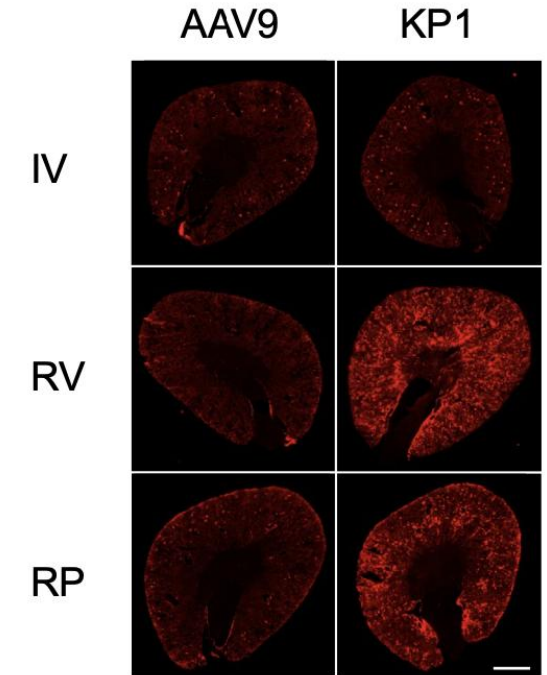
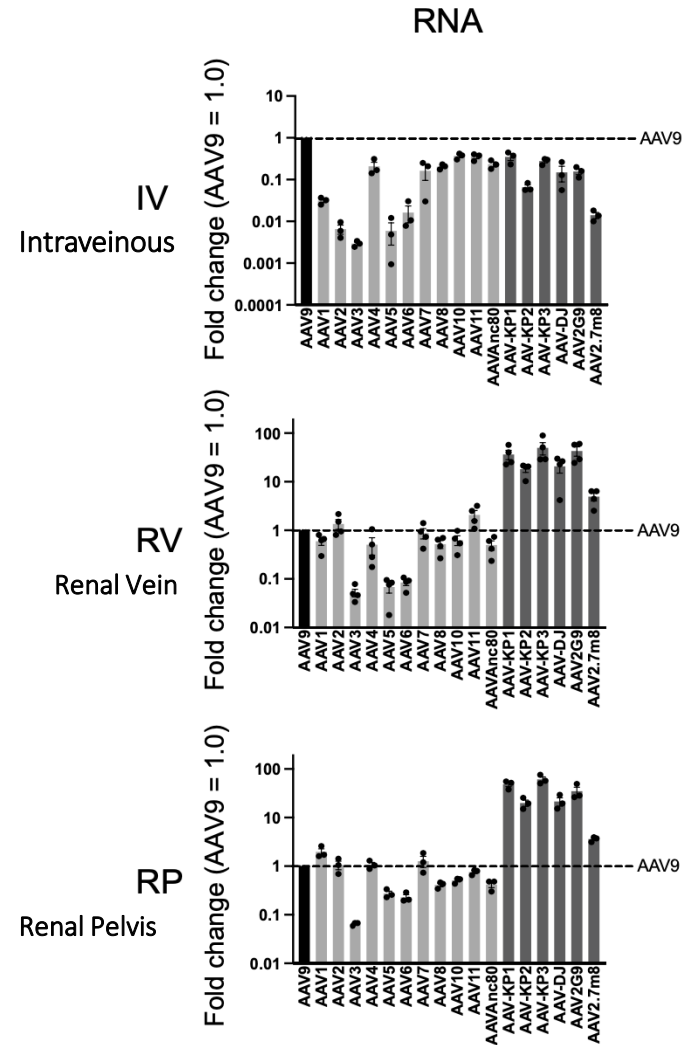
Le vecteur

Vecteur AAV : quel sérotype ?



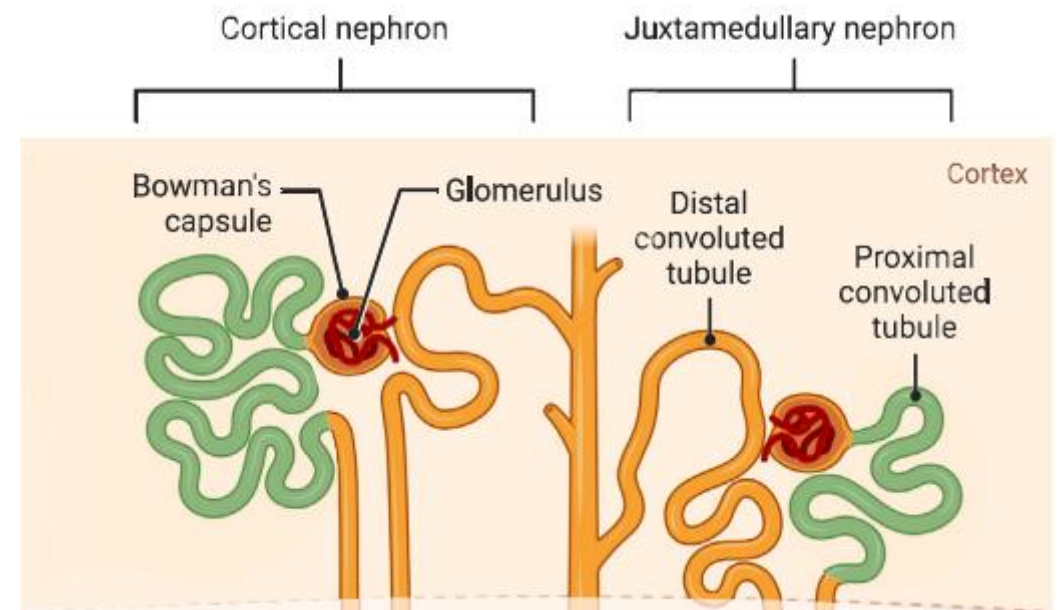
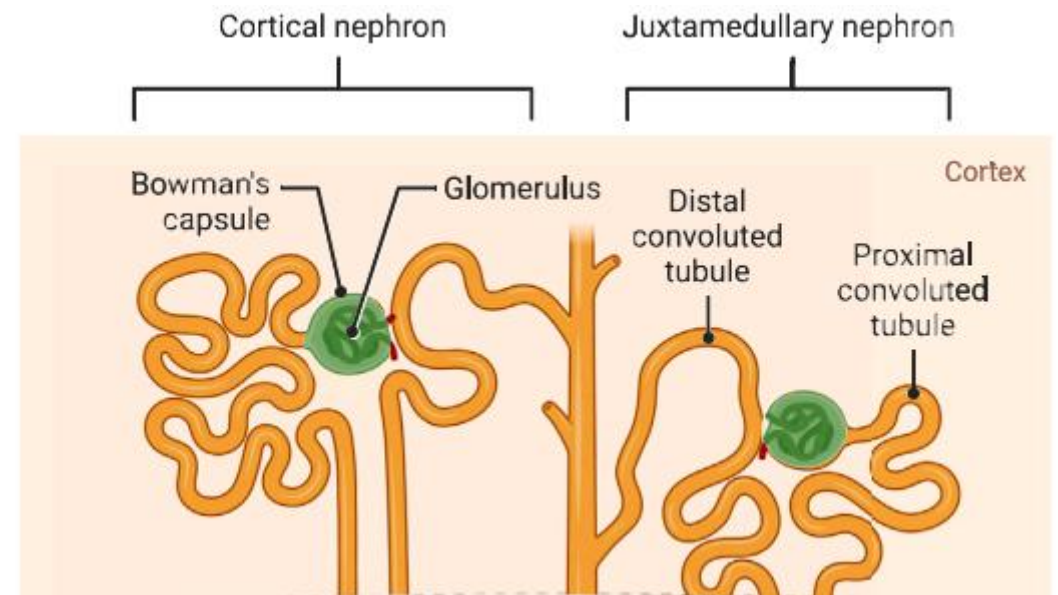
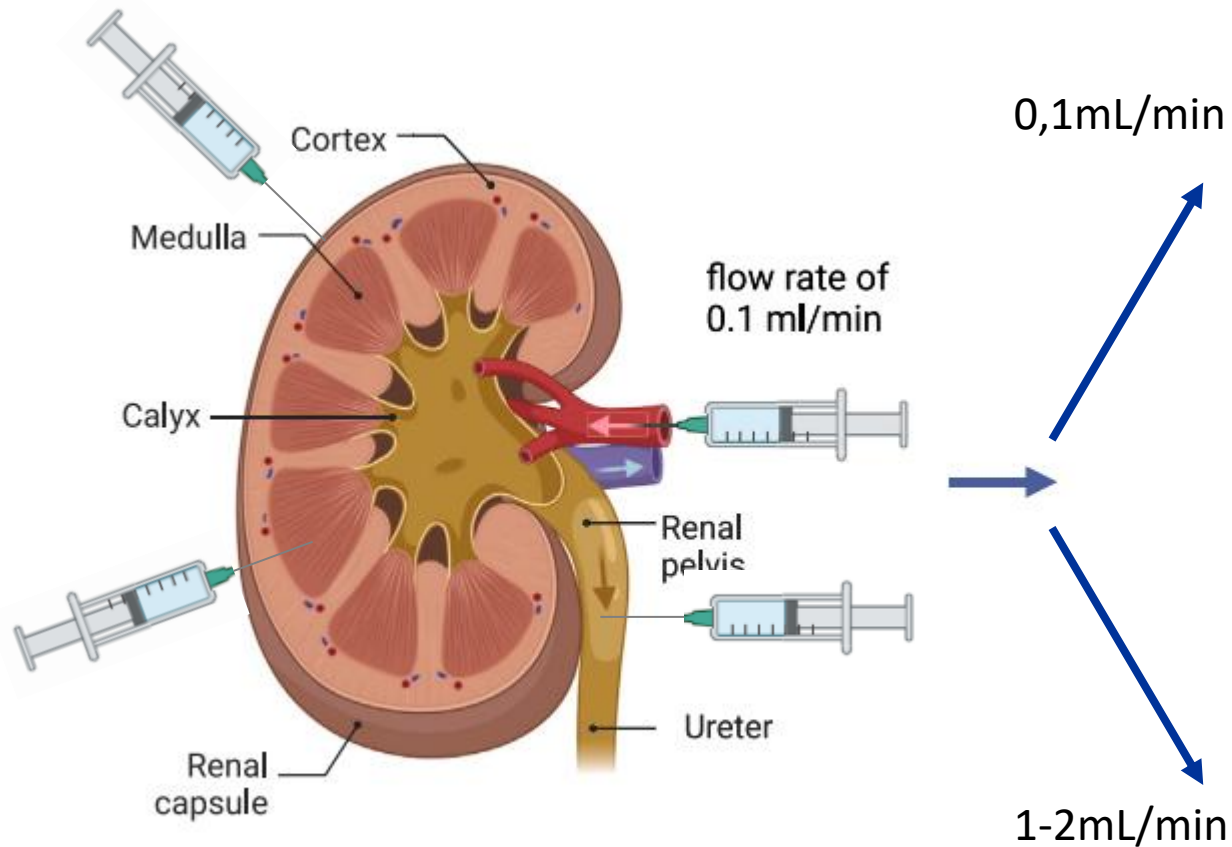
Grande hétérogénéité (de x0.1 à x100 / AAV9)

- Type de capside
- Type de voie d'injection
- Type de cellules cibles



Ciblage des cellules mésangiales et du tube proximales mais pas des podocytes ...

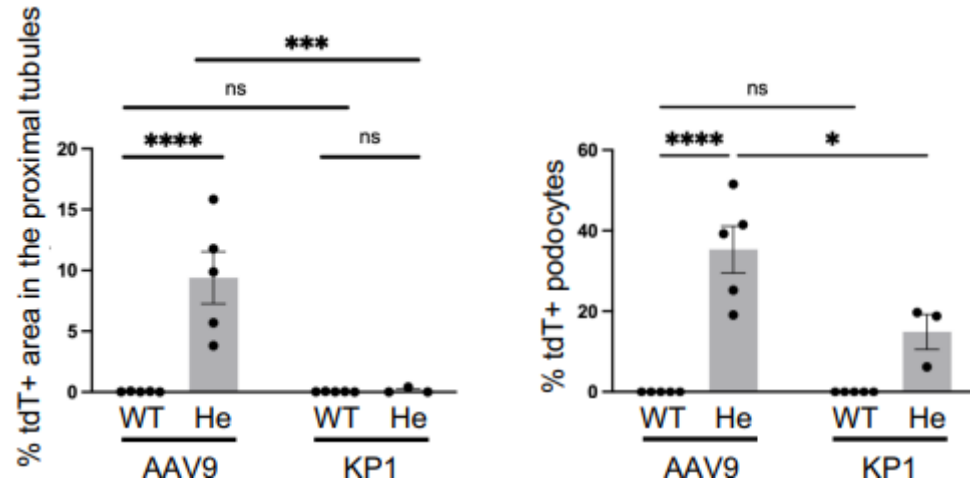
Voie d'administration



Région ciblée dépend

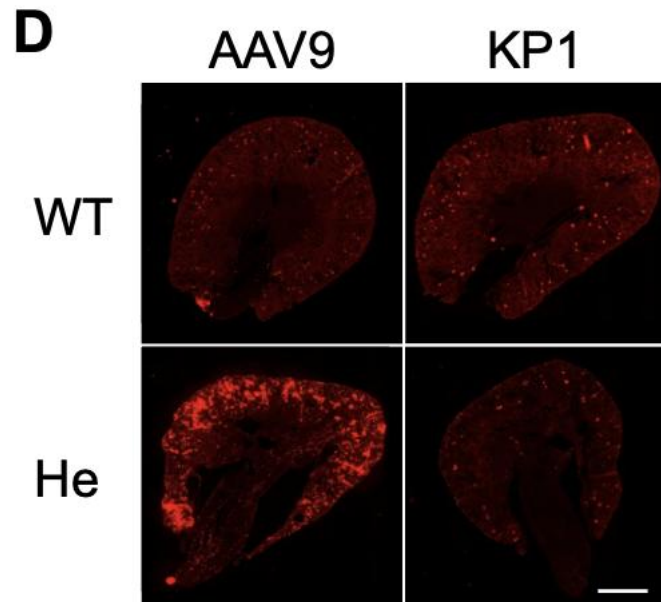
- de la voie d'administration
- du mode d'administration : AR 2mL/min → TCP mais AR 0,1mL/min glomérules

Impact de la maladie

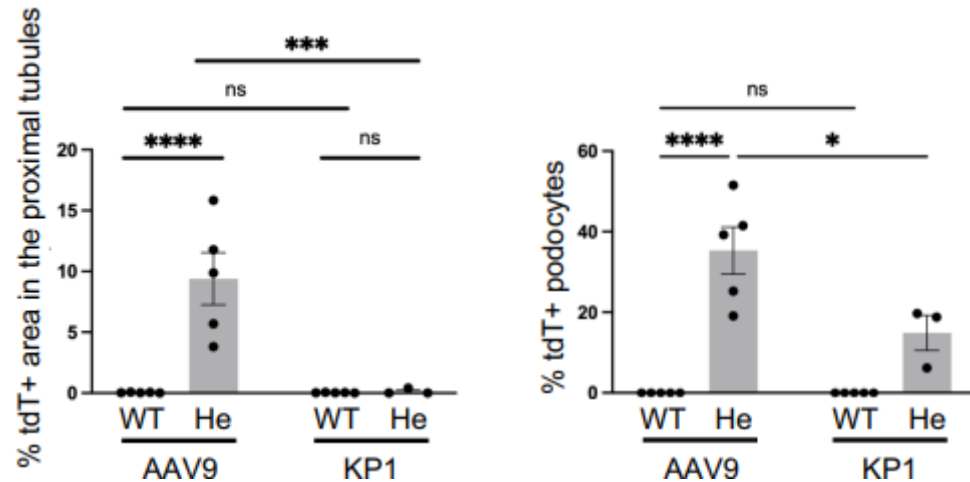


Des espoirs dans le rein lésé +++

Meilleur ciblage des podocytes en condition pathologique que saine dans un modèle d'Alport avec AAV

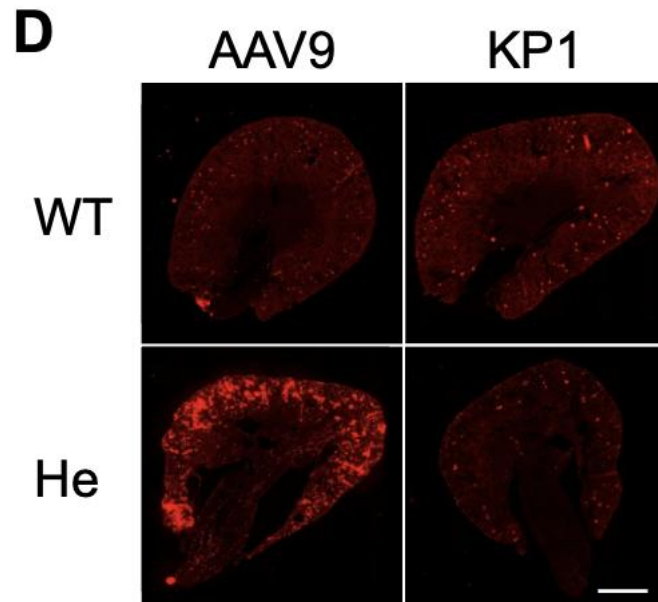


Impact de la maladie



Des espoirs dans le rein lésé +++

Meilleur ciblage des podocytes en condition pathologique que saine dans un modèle d'Alport avec AAV



- ✓ Quand traiter ? à quel stade de la maladie ?
- ✓ Si stade avancé avec trop de lésions, peut-on reverser le phénotype (cellules terminales) ?
- ✓ Combien de cellules doivent être transduites pour que la thérapie soit efficace?

Peut on reverser le phénotype ?

Modèles animaux de réversion de phénotype

Nephrotic syndrome (AR condition)

NPHS1 - Nephrin

Induction of *nphs1* at birth prevent perinatal death in *nphs1*^{-/-} mice

Juhila et al. Am J Pathol 2011

Alport Syndrome (AR condition)

Extinction and reexpression of *COL4A3* restores the heterotrimer expression in the GBM

Lin et al. JASN 2014

ADPKD (AD condition)

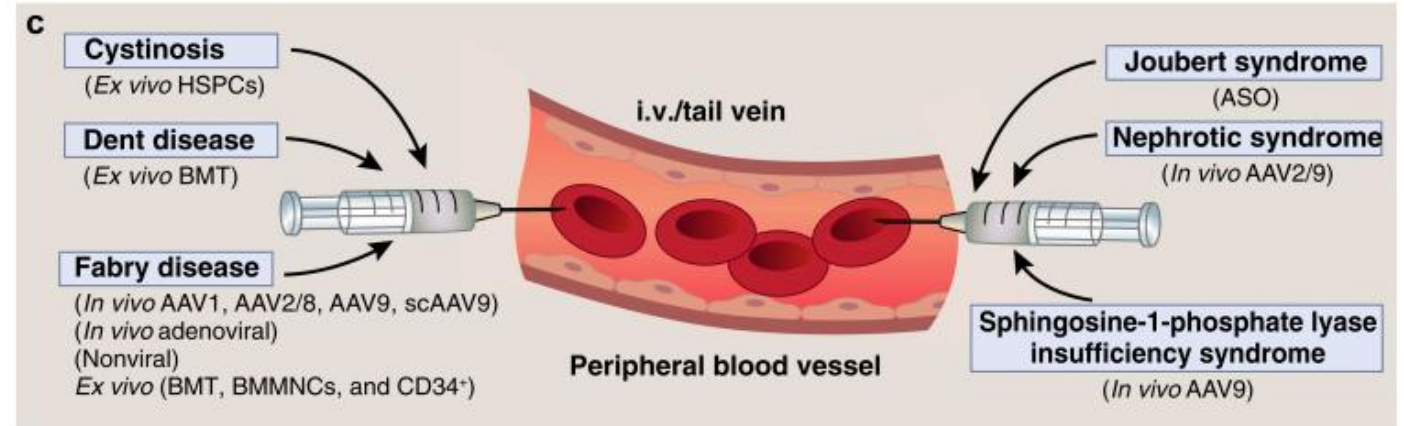
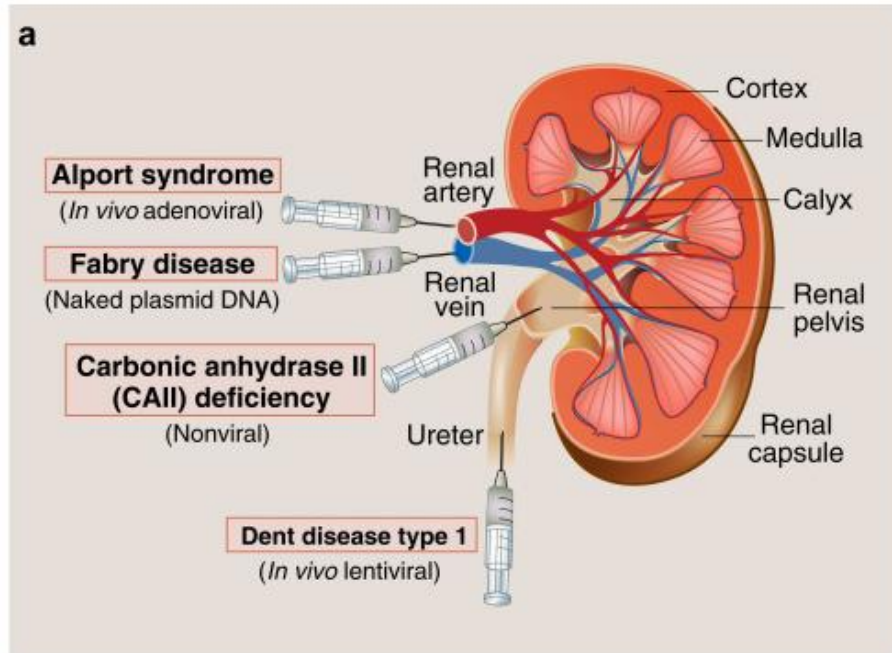
Conditionally inactivation of *Pkd1* or *Pkd2* in a mice model
Subsequently reexpression of the inactivated gene

- Reversal proliferation / inflammation, extracellular matrix deposition
- Reversal of cysts formation

Dong et al. Nat Genet 2021

Could be possible to reverse the phenotype with some limits

Thérapie génique : applications dans les néphropathies monogéniques



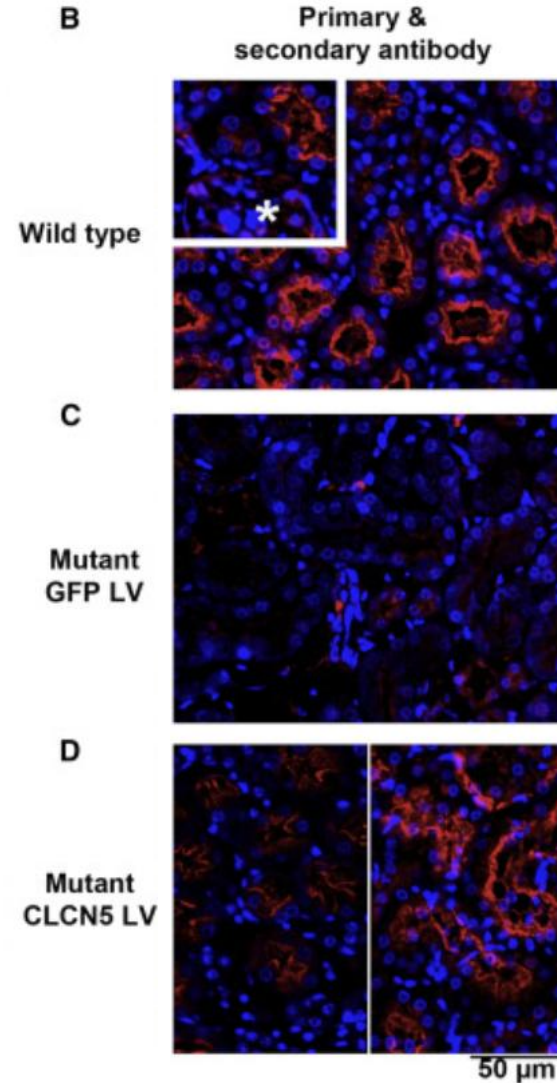
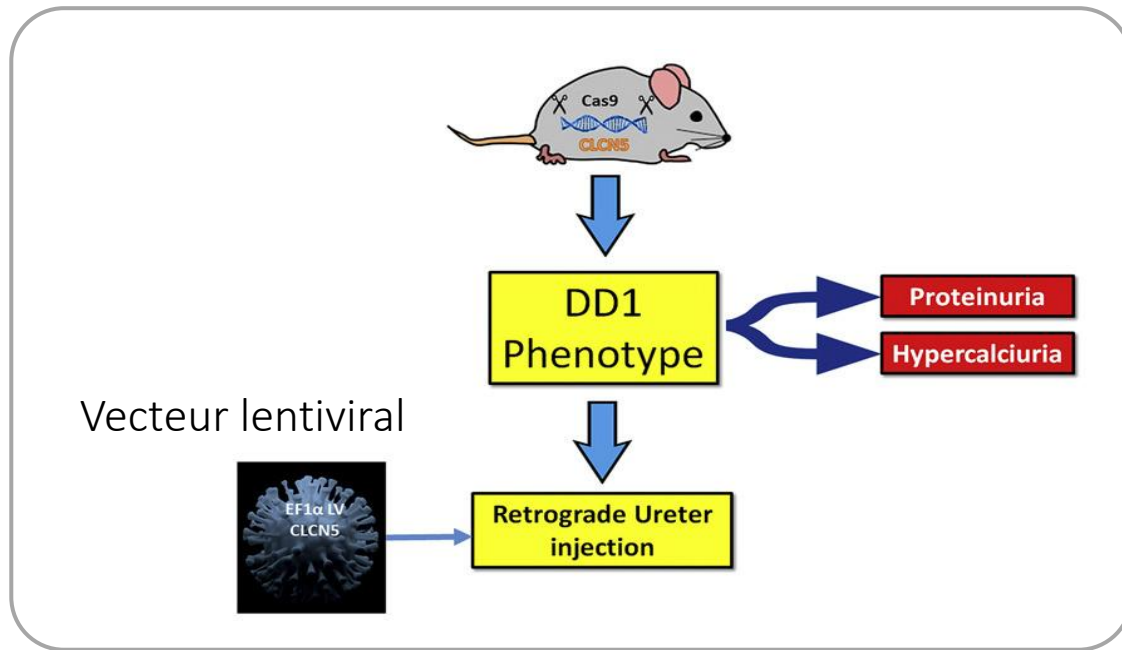
Thérapie génique *In Vivo* : tubulopathies

Lentiviral vector mediated gene therapy for type I Dent disease ameliorates Dent disease-like phenotypes for three months in CLCN5 null mice

Manish Kumar Yadav • Kyung Whan Yoo • Anthony Atala • Baisong Lu

2022

Syndrome de Dent *CLCN5*
Modèle murin KO



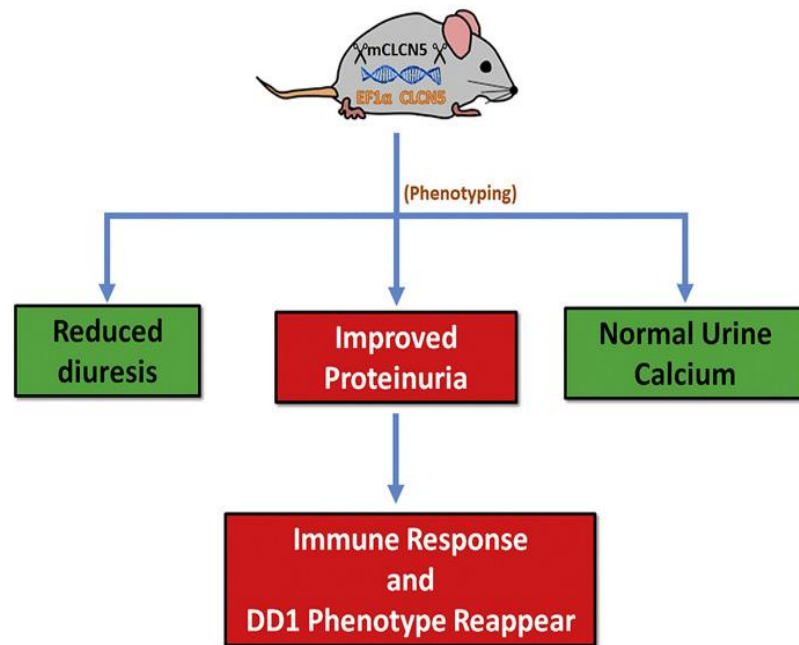
15 jours après injection

- Expression dans les cellules tubulaires
- Expression dans certains glomérulaires

Thérapie génique *In Vivo* : tubulopathies

Lentiviral vector mediated gene therapy for type I Dent disease ameliorates Dent disease-like phenotypes for three months in CLC-5 null mice

Manish Kumar Yadav • Kyung Whan Yoo • Anthony Atala • Baisong Lu



Effet bénéfique à 3 mois mais perdu à 4 mois

Immunogénicité anti-CLCN5 +++

Thérapie génique *In Vivo* : podocytopathies

SCIENCE TRANSLATIONAL MEDICINE | RESEARCH ARTICLE

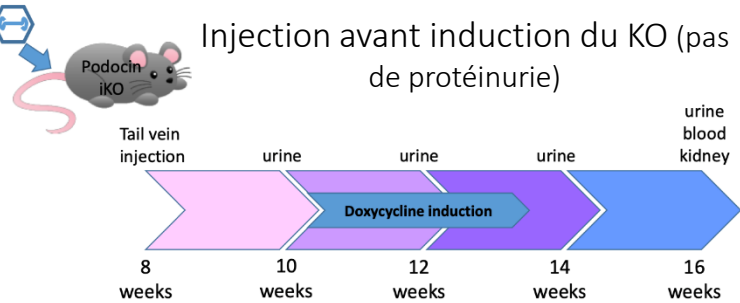
KIDNEY DISEASE

Adeno-associated virus gene therapy prevents progression of kidney disease in genetic models of nephrotic syndrome

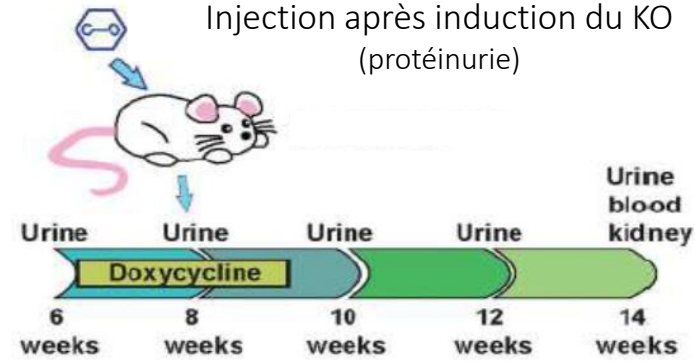
Wen Y. Ding¹, Valeria Kuzmuk^{1,2}, Sarah Hunter¹, Abigail Lay^{1,†}, Bryony Hayes^{1,†}, Matthew Beesley³, Ruth Rollason¹, Jennifer A. Hurcombe¹, Fern Barrington¹, Catrin Masson¹, William Cathery¹, Carl May¹, Jack Tuffin², Timothy Roberts¹, Geraldine Mollet⁴, Colin J. Chu⁵, Jenny McIntosh⁶, Richard J. Coward¹, Corinne Antignac⁴, Amit Nathwani⁶, Gavin I. Welsh¹, Moin A. Saleem^{1*}



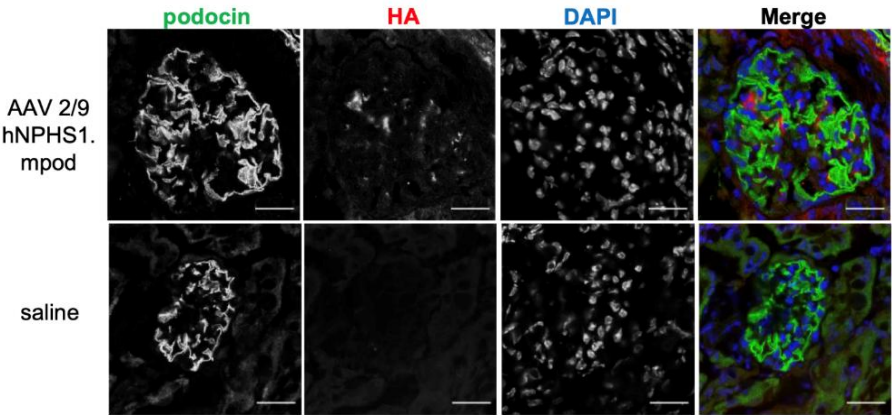
Nphs2^{Flox/Flox}



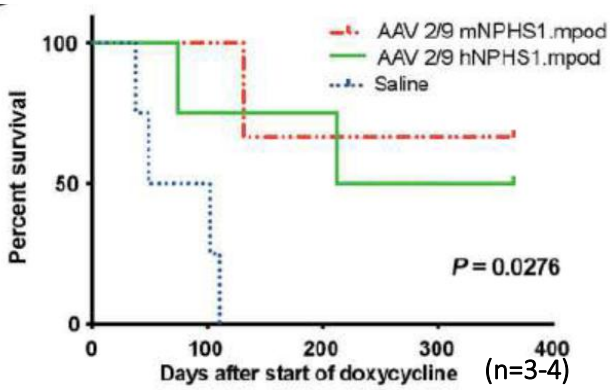
Nphs2^{Flox/R140Q}



Ré-expression partielle de la podocine-HA

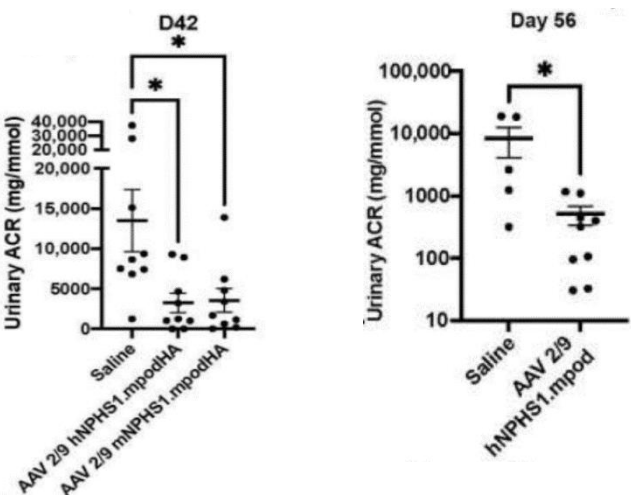


Effet bénéfique sur la survie d'un petit groupe de souris



Nphs2^{Flox/Flox}

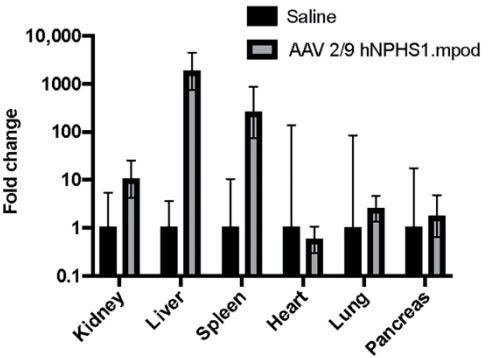
Amélioration de la protéinurie



Nphs2^{Flox/Flox}

Nphs2^{Flox/R140Q}

Expression dans les autres tissus



Injection AAV améliore le phénotype des souris KO/KI

- ✓ Protéinurie et SN
- ✓ Lésions rénales (FPE, FSGS)

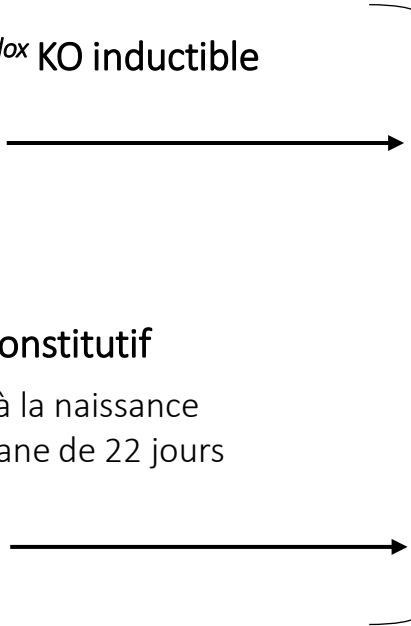
Thérapie génique *In Vivo* : podocytopathies

Résultats encourageants mais :

- Expression ectopique de la podocine-HA (foie et rate) avec le promoteur *NPHS1*
- Peu d'animaux/groupe & grande variabilité protéinurie
- Peu de podocytes transduits et faible expression de la podocine-HA

Au laboratoire:

- ✓ Souris *Nphs2^{Flox/Flox}* KO inducible

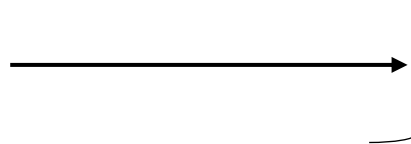


AAV modifié ?



- ✓ Souris *Nphs2* KO constitutif

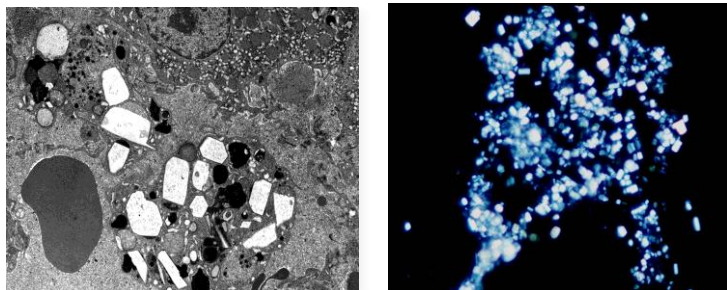
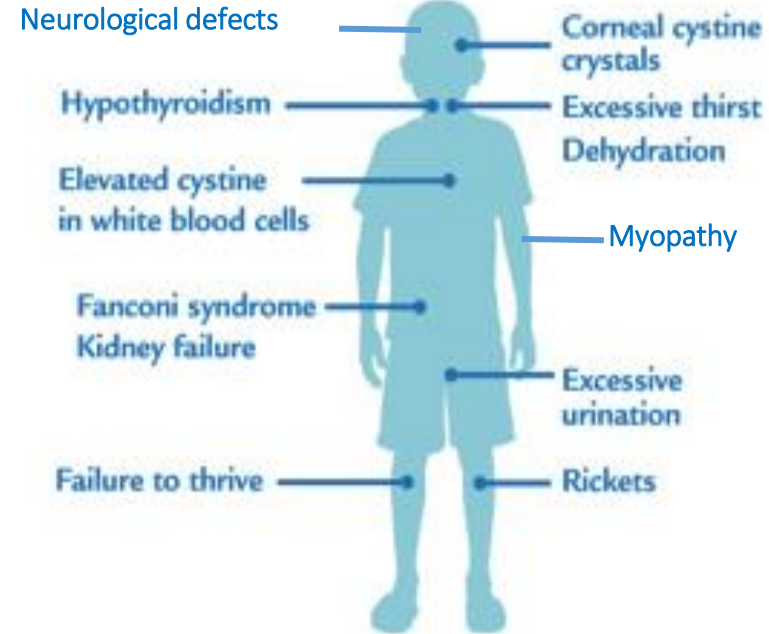
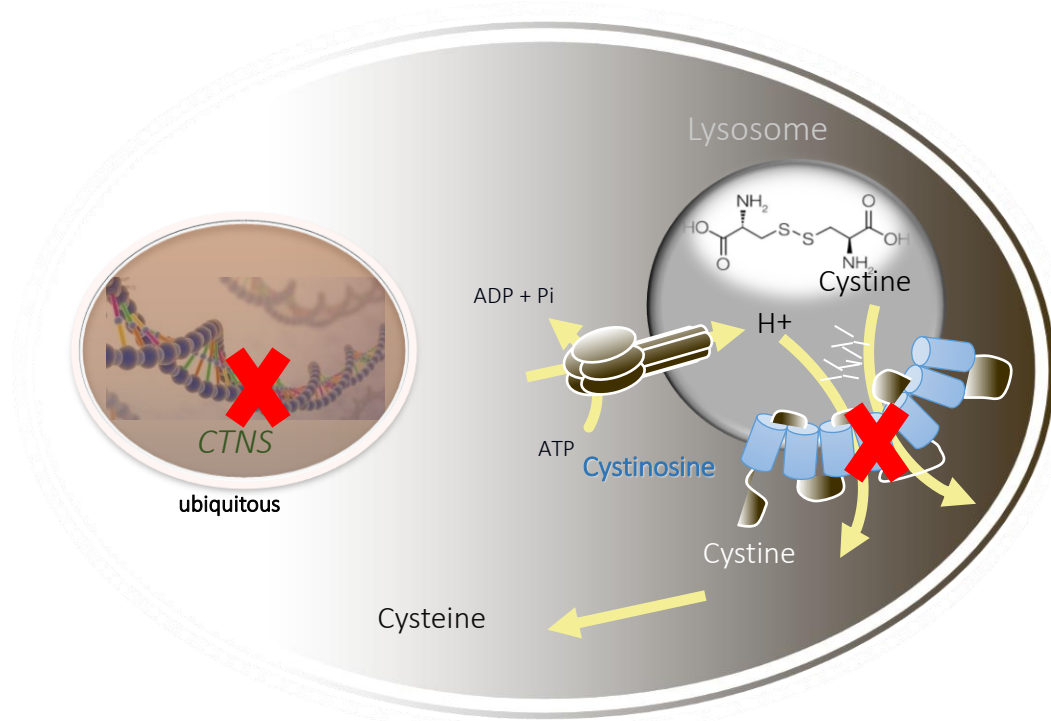
- ✓ Protéinurie à la naissance
- ✓ Survie médiane de 22 jours



- ✓ Identification de capsides spécifiques +++
- ✓ Promoteur *hNPHS2*
- ✓ GFP ou mPodocine-HA
- ✓ Nombre plus important d'animaux
- ✓ Améliorer
 - efficacité de transduction des podocytes (injection à différents degrés de protéinurie)
 - Effet sur le développement de la maladie

Thérapie génique *Ex vivo* : la cystinose

Stéphanie
Cherqui



Maladie dégénérative touchant de nombreux organes

Mutations ou des délétions dans le gène *CTNS*
Protéine lysosomale transmembranaires
Co-transporteur de cystine et de protons

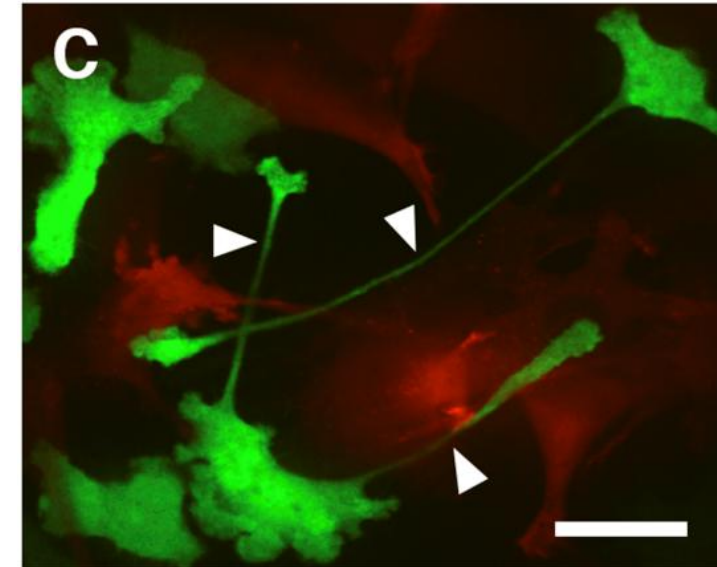
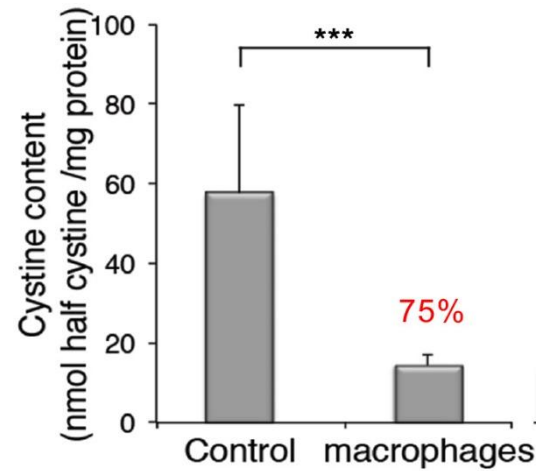
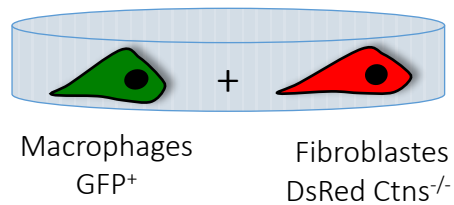
→ Accumulation de cystine dans tous les tissus
→ Maladie multi-systémique

Thérapie génique *Ex vivo* : la cystinose

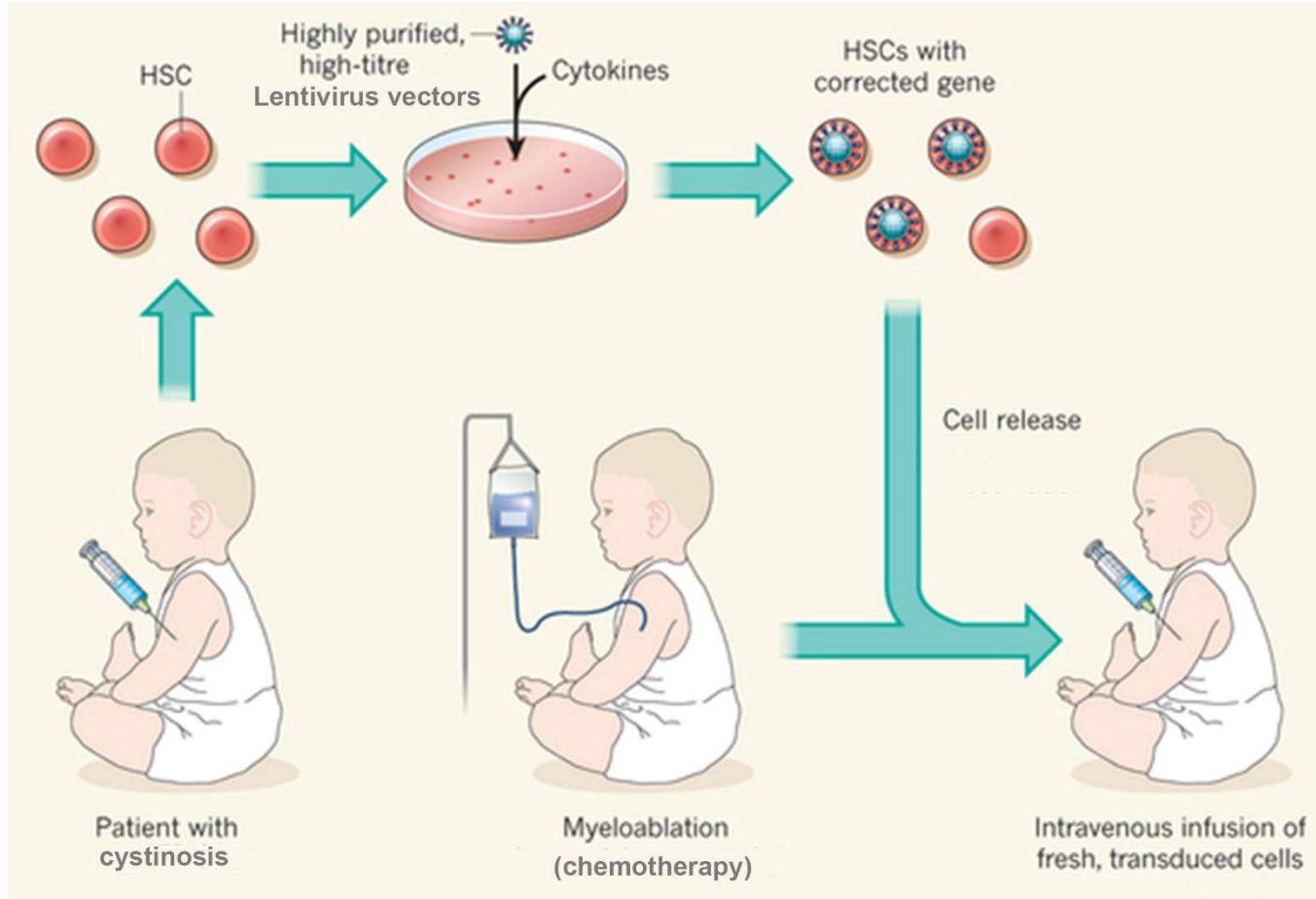
Stéphanie
Cherqui



Transfert de cystinosine par
contact entre cellules



Thérapie génique *Ex vivo* : la cystinose



Adapted from Leboulch, Nature 2013



The First Cystinosis Patient was Transplanted on October 7, 2019!

Essai de phase 1/2 en cours a San Diego

Thérapie génique : Perspectives et Limites

Pas de méthode de référence

Prix +++

Thérapie génique *ex vivo*

→ adapté pour certaines maladies seulement

Thérapie génique *in vivo*

Taille du transgène à exprimer

Quantité de vecteur +++ Prix et immunogénicité

Difficulté à atteindre la cellule cible

- Choix du vecteur : viral / non viral
- Identification de vecteur / récepteurs spécifiques
- Choix de l'administration

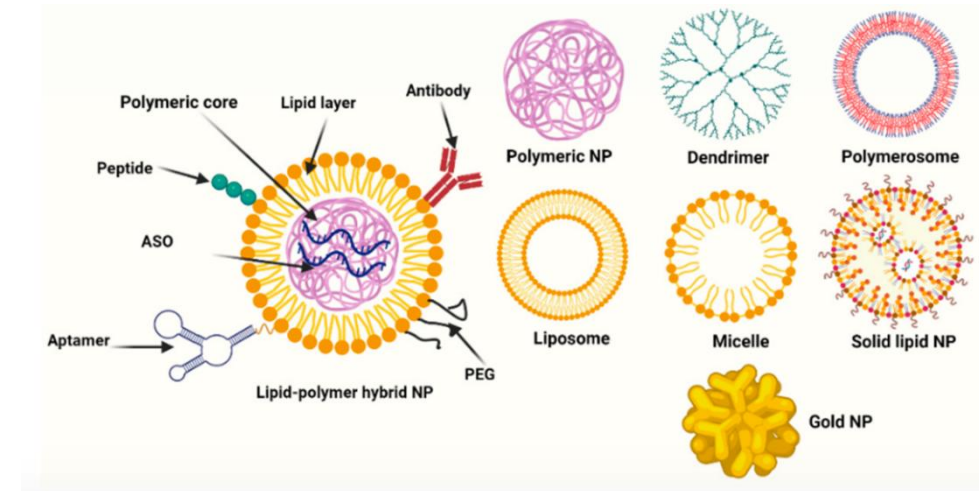
Risque de réaction immunitaire

→ Vecteur dépendant +++

Récepteurs spécifiques d'espèce

Autres méthodes moins étudiées

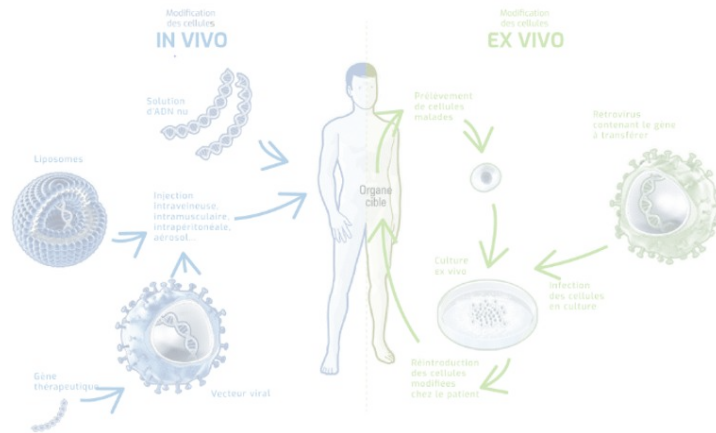
Utilisation de vecteurs différents



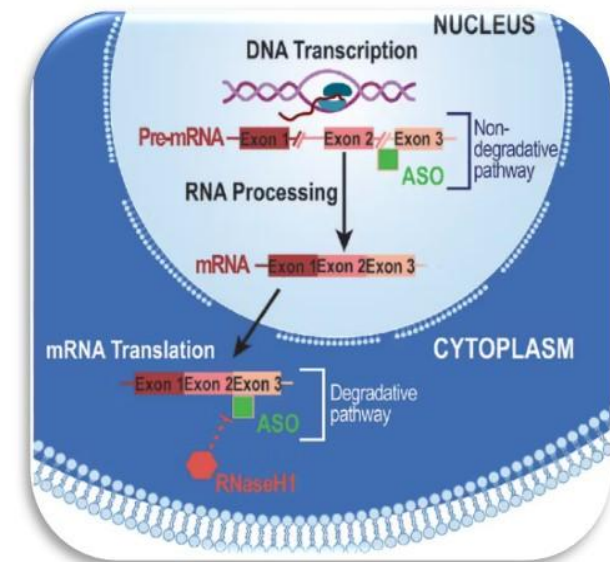
Edition du génome
CRISPR-Cas

Thérapeutiques modifiant l'utilisation du génome

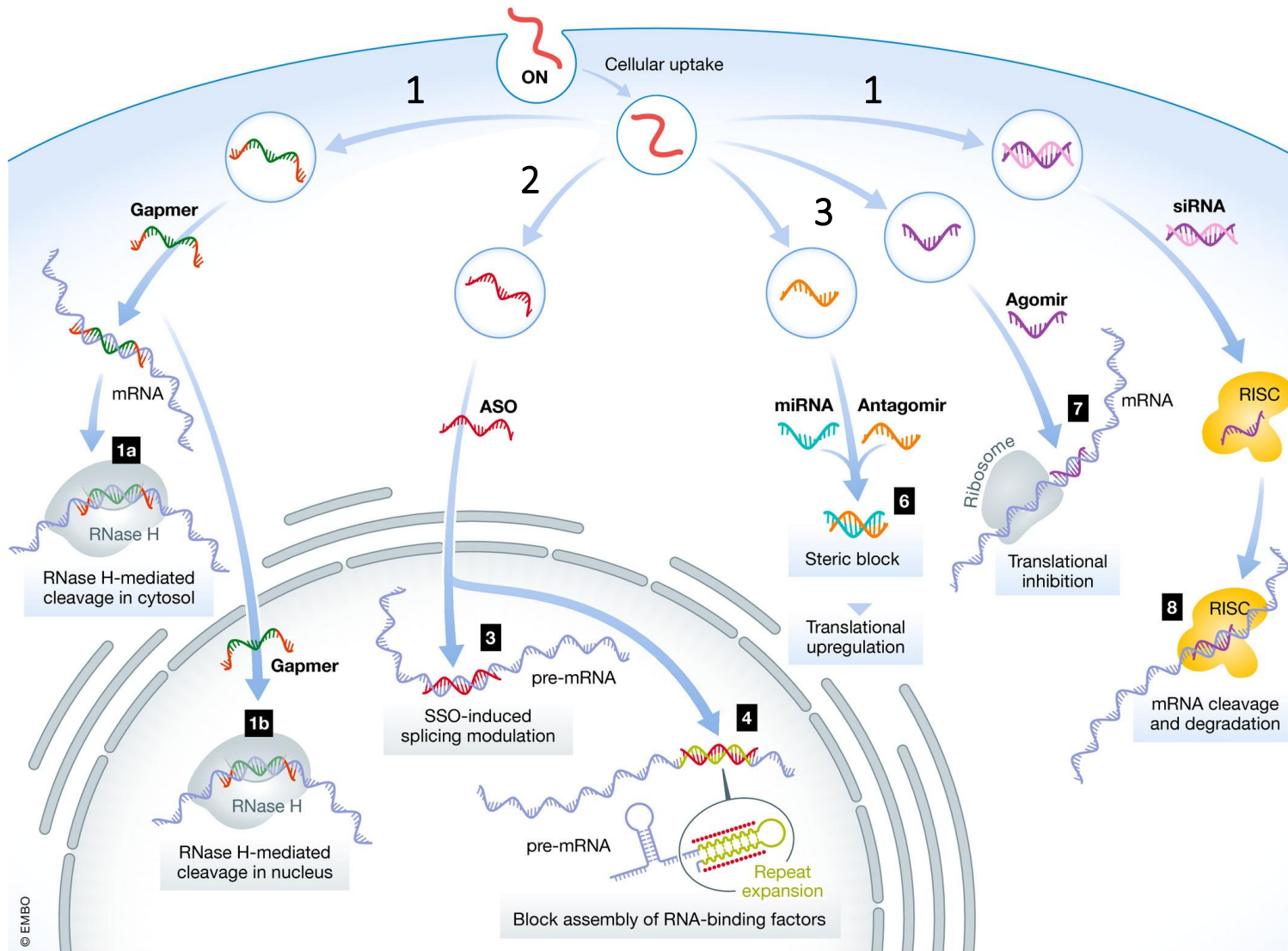
Thérapie génique (AAV)



Thérapie à ARN (ASO)



Thérapie à ARN



Plusieurs types de thérapie à ARN

Pas de modification du génome

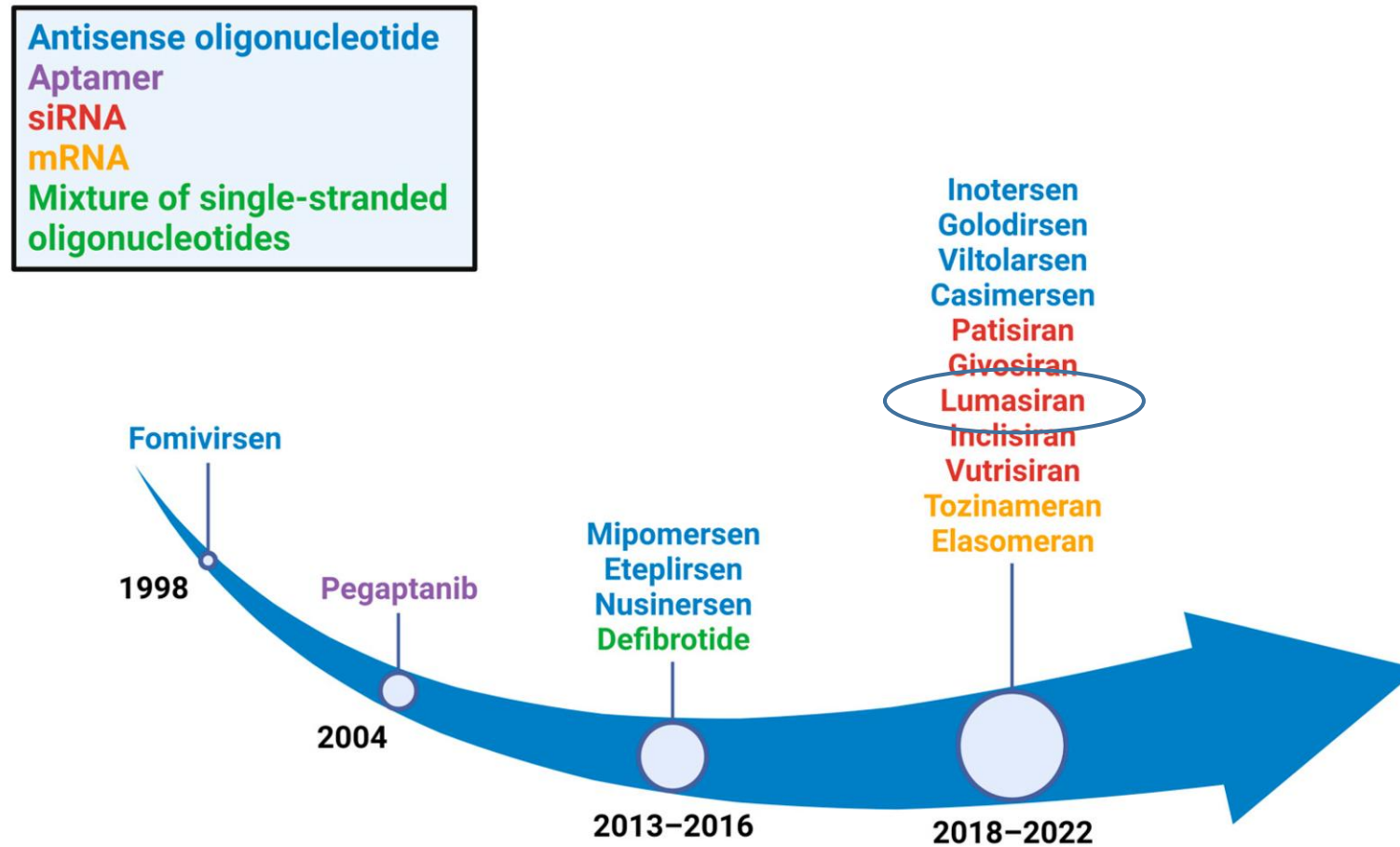
Modification de l'utilisation du génome

Dégradation des ARN

Modification de la maturation des ARN

Régulation de l'expression des ARN

Thérapie à ARN



ORIGINAL ARTICLE

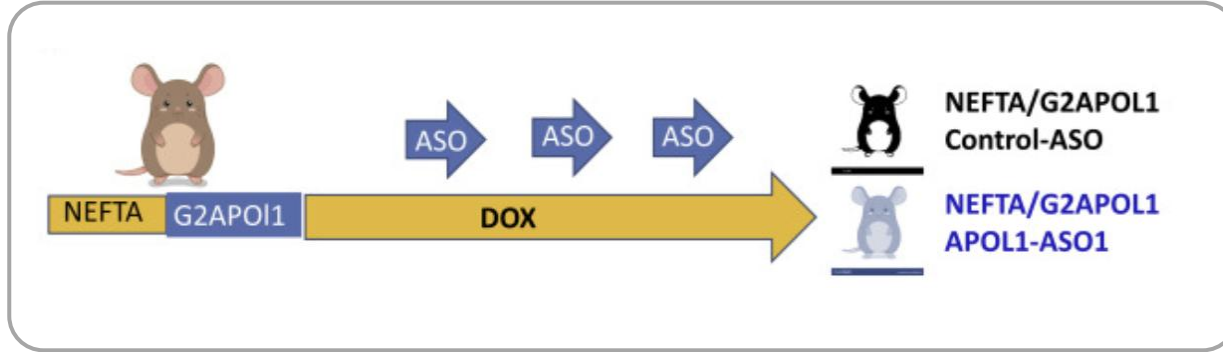
Lumasiran, an RNAi Therapeutic for Primary Hyperoxaluria Type 1

Sander F. Garrelfs, M.D., Yaacov Frishberg, M.D., Sally A. Hulton, M.D., Michael J. Koren, M.D., William D. O'Riordan, M.D., Pierre Cochat, M.D., Ph.D., Georges Deschênes, M.D., Ph.D., Hadas Shasha-Lavsky, M.D., Jeffrey M. Saland, M.D., William G. van't Hoff, M.D., Daniel G. Fuster, M.D., Daniella Magen, M.D., et al., for the ILLUMINATE-A Collaborators*

Thérapie à ARN : dégradation de l'ARN

Antisense oligonucleotides ameliorate kidney dysfunction in podocyte-specific APOL1 risk variant mice

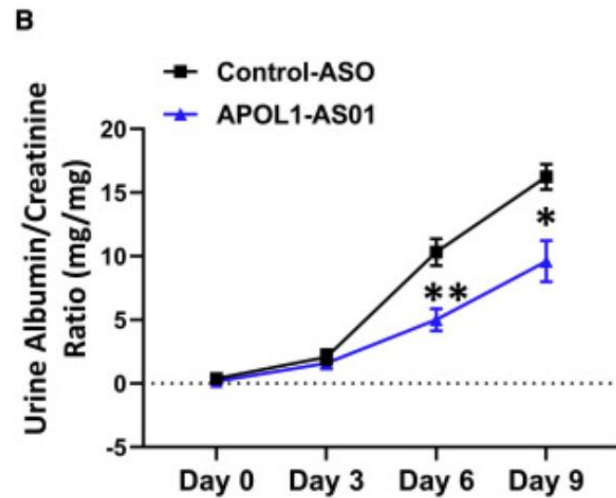
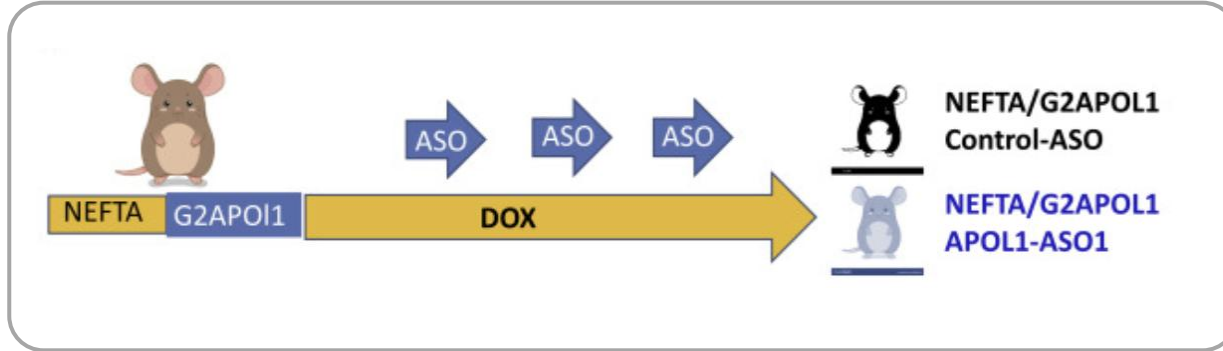
Ya-Wen Yang ⁶ • Bibek Poudel ⁶ • Julia Frederick • ... Matthew Palmer • Mariam Aghajan •



Thérapie à ARN : dégradation de l'ARN

Antisense oligonucleotides ameliorate kidney dysfunction in podocyte-specific APOL1 risk variant mice

Ya-Wen Yang ⁶ • Bibek Poudel ⁶ • Julia Frederick • ... Matthew Palmer • Mariam Aghajan •

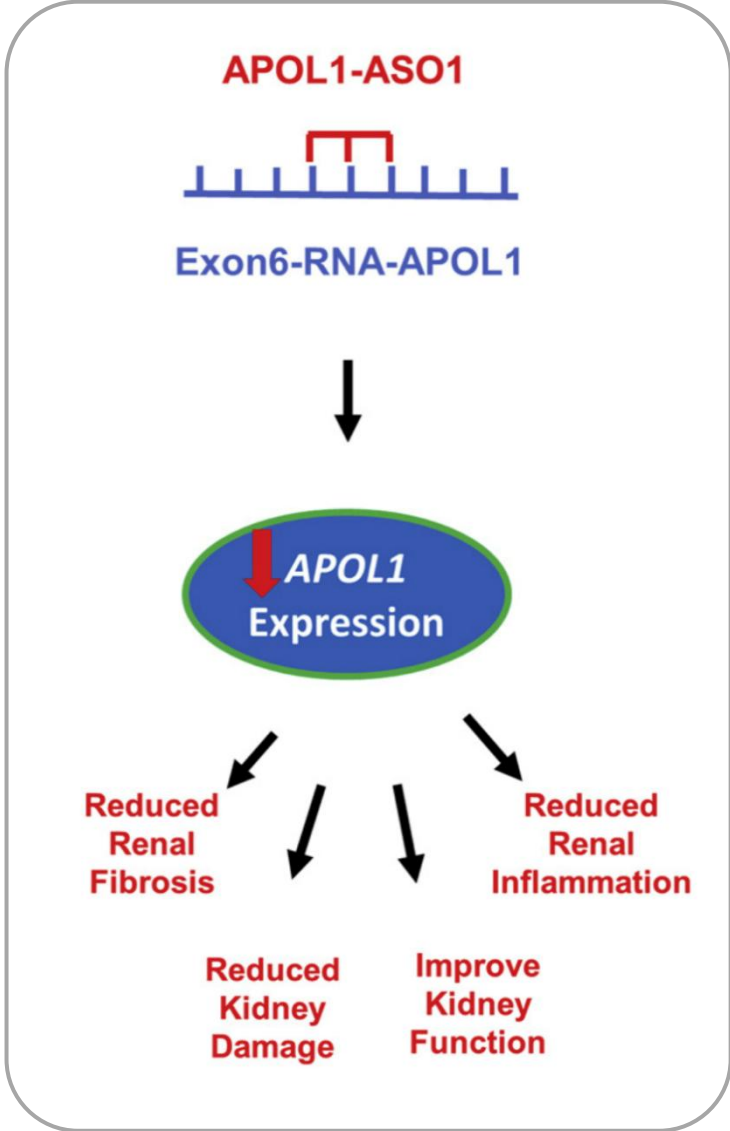
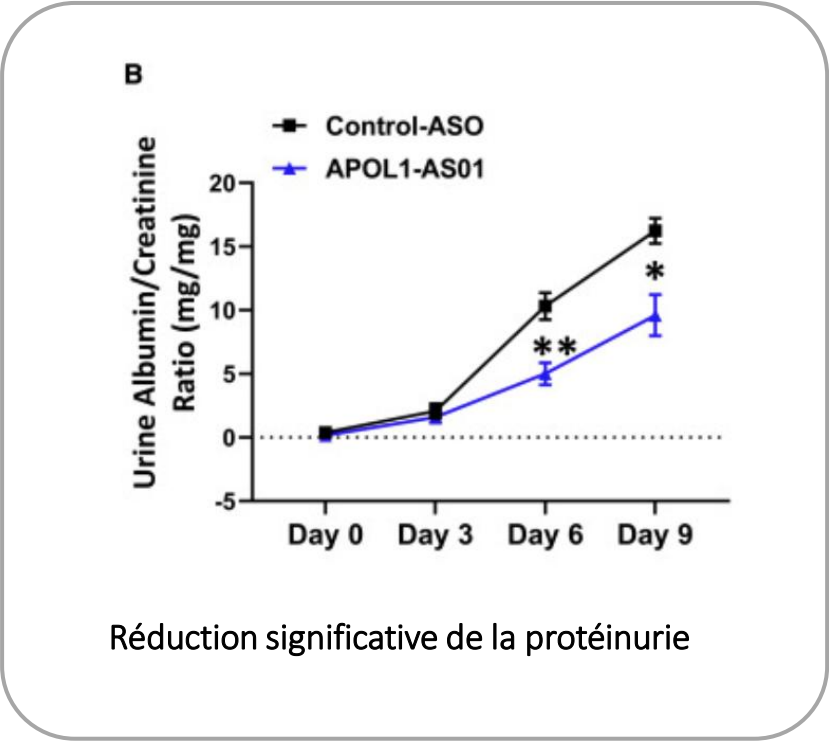
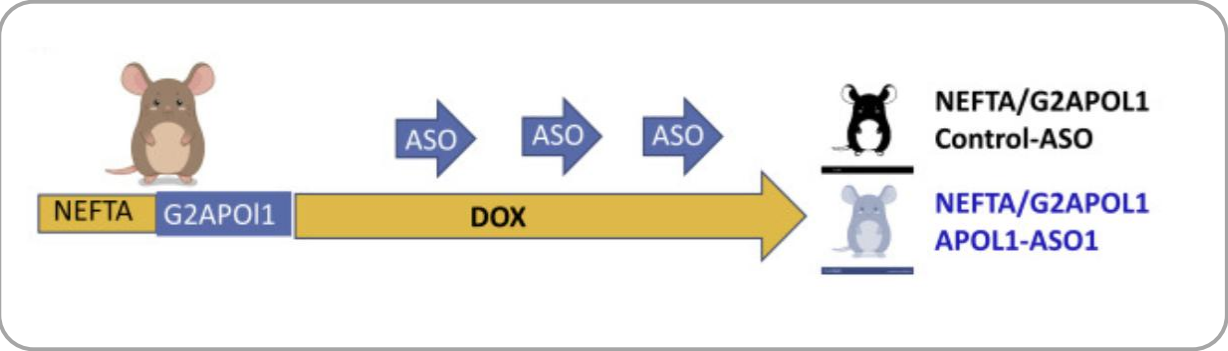


Réduction significative de la protéinurie

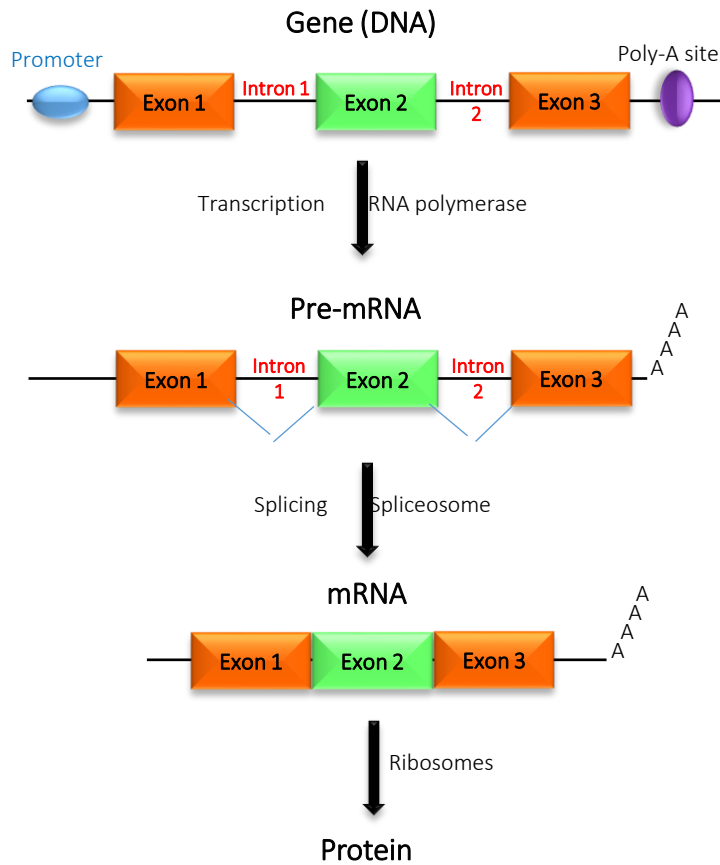
Thérapie à ARN : dégradation de l'ARN

Antisense oligonucleotides ameliorate kidney dysfunction in podocyte-specific APOL1 risk variant mice

Ya-Wen Yang ⁶ • Bibek Poudel ⁶ • Julia Frederick • ... Matthew Palmer • Mariam Aghajan •



Thérapie à ARN : maturation de l'ARN



→ Exons en phase avec codon stop prématuré

- Stratégie « saut de l'exon en phase »
- Protéine avec quelques acides aminés délétés
- Sauvetage partiel du phénotype
- Myopathie de Duchenne

→ Mutations introniques responsables d'un épissage aberrant

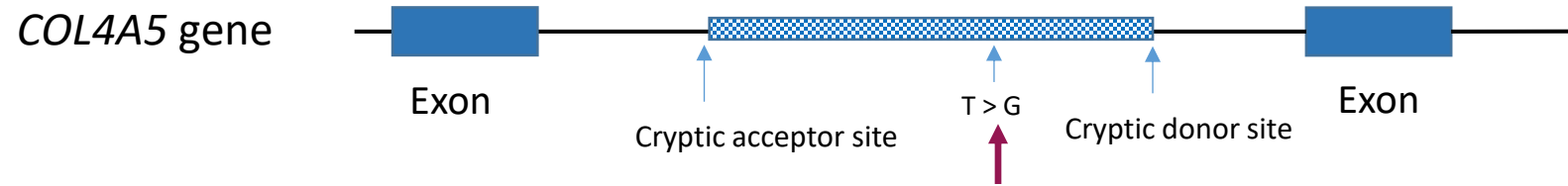
- Rectification d'un épissage normal
- Protéine normale
- Sauvetage complet du phénotype

Saei *et al.* Soumis

ASOs et Syndrome d'Alport – Rétention d'intron



Hassan
Saei



Identification de mutations introniques profondes

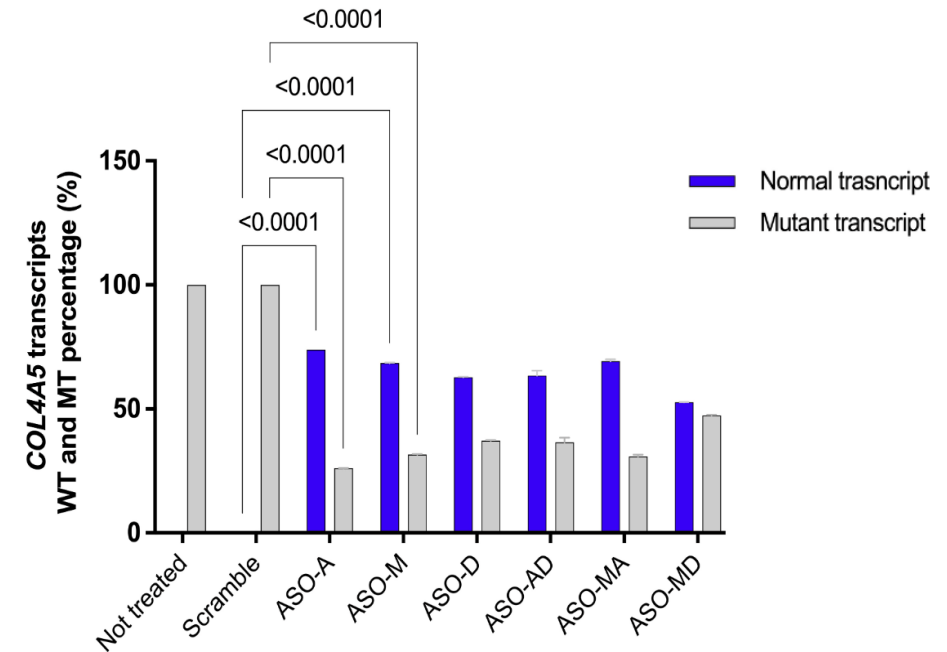
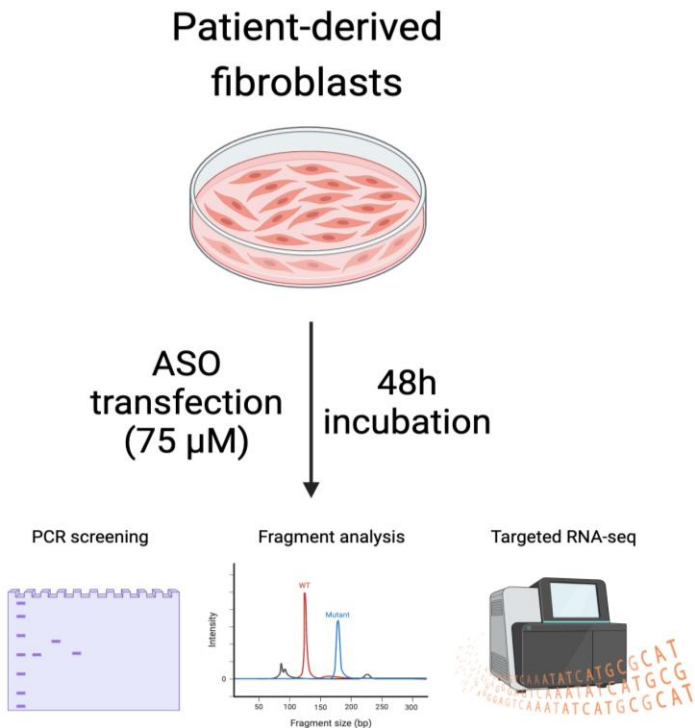
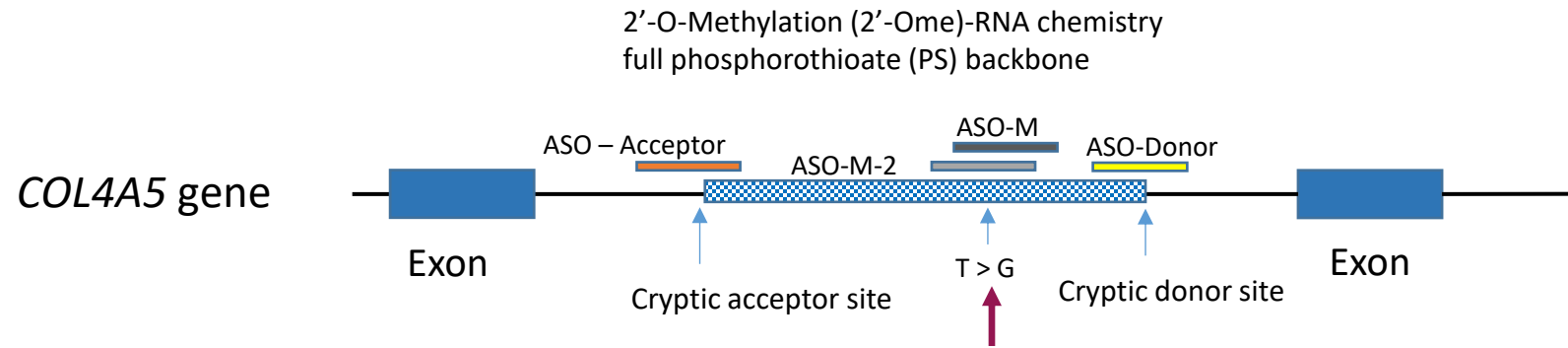
- Rétention de pseudo-exon
- Saut d'exon

→ Thérapie à ARN

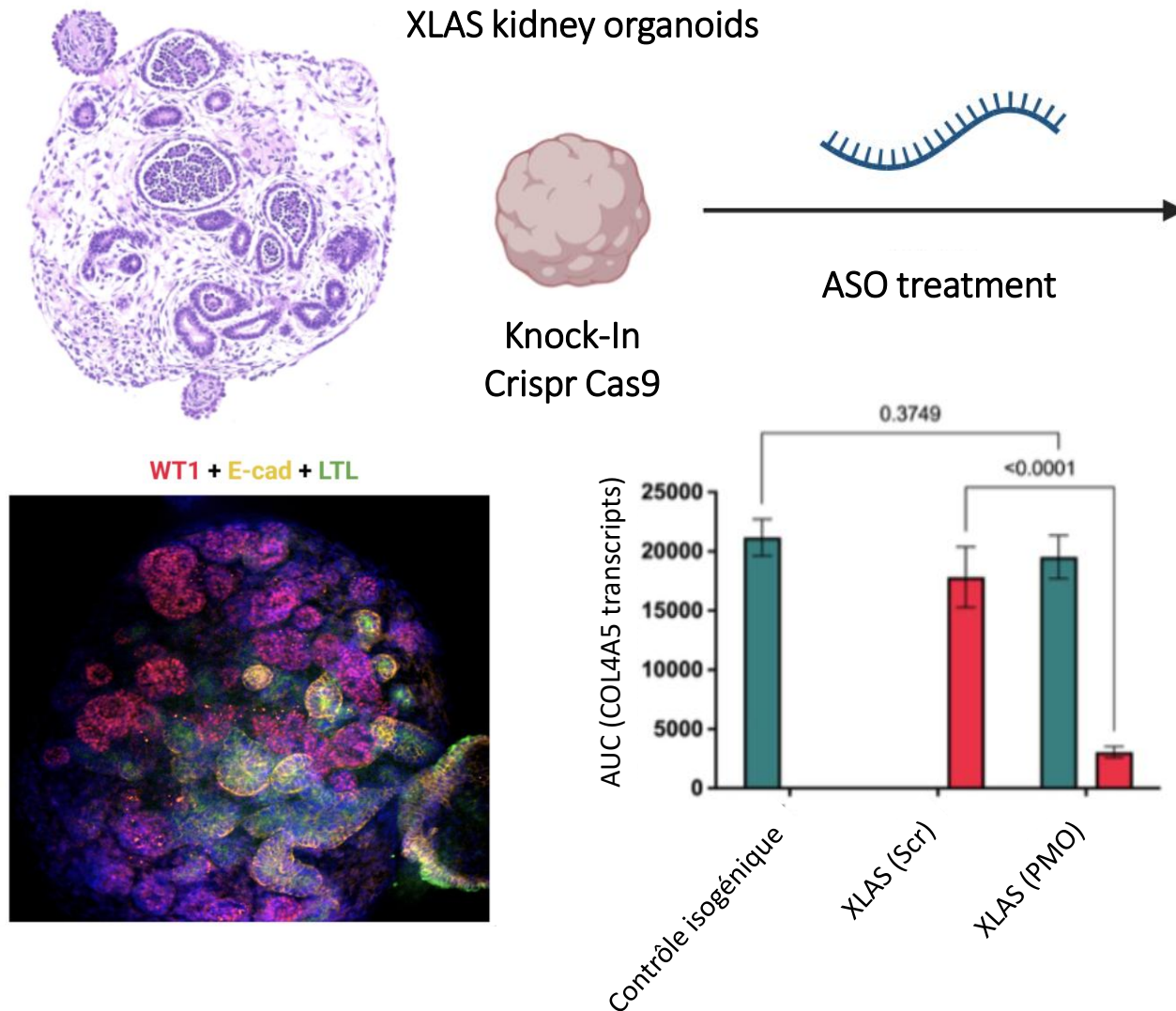
ASOs et Syndrome d'Alport – Rétention d'intron



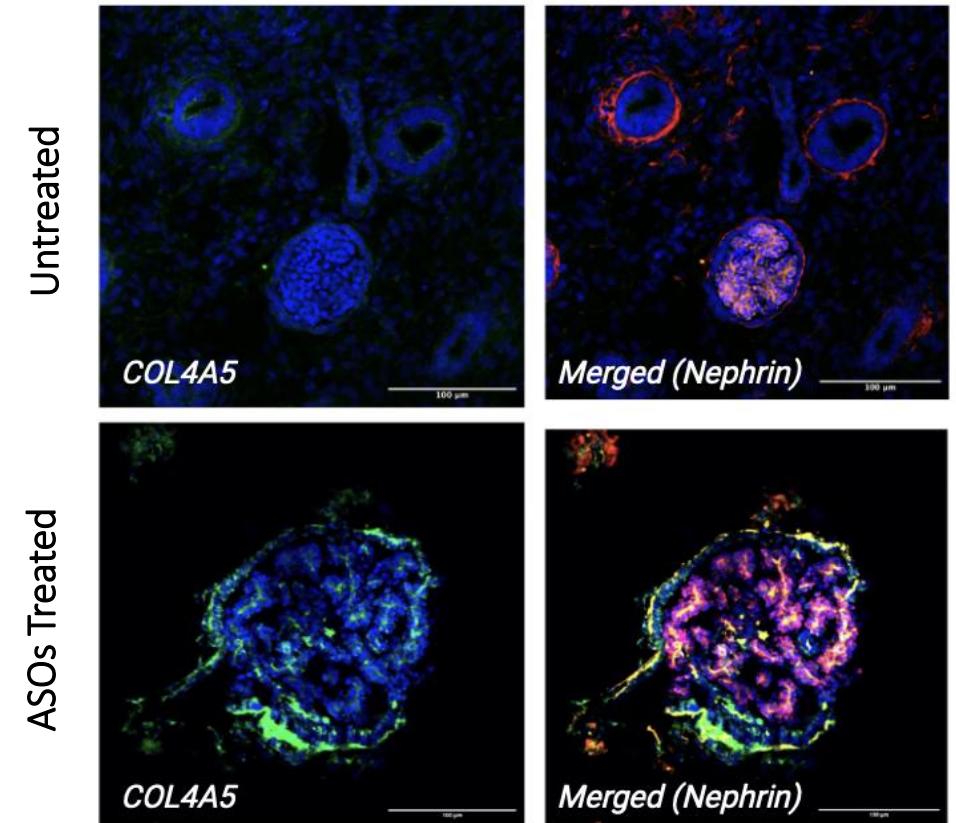
Hassan
Saei



ASOs et Syndrome d'Alport – Rétention d'intron



Phosphorodiamidate morpholinos (PMOs) and Endo-Porter peptides with polyethylene glycol conjugates



Restauration de la protéine $\alpha 5$ Col-IV par ASO

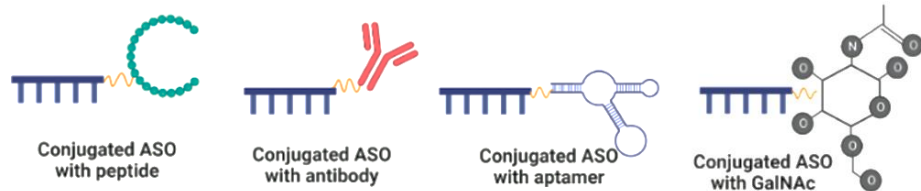
→ Modèle murin en développement

Thérapie à ARN : Conclusion et perspectives

→ Biodisponibilité

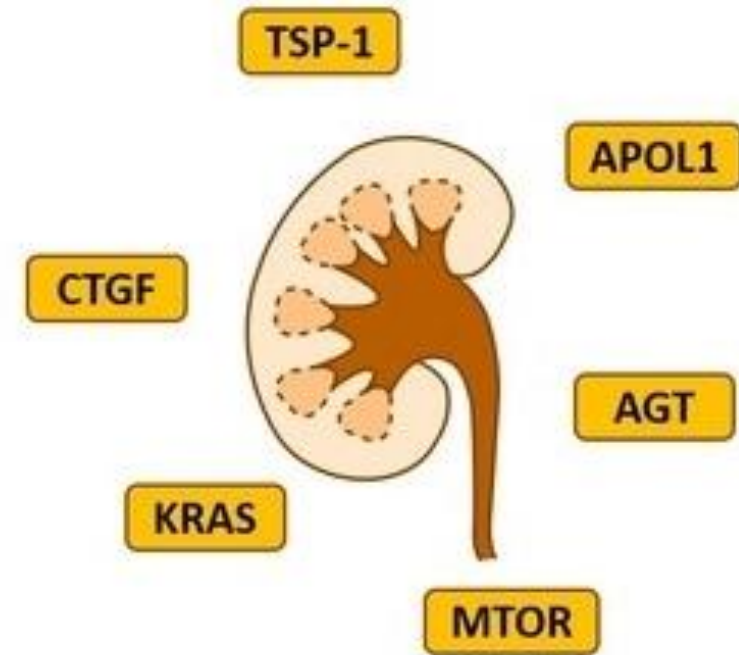
→ Dose nécessaire pour atteindre l'organe cible
Rein : 25% du débit cardiaque
Atteinte tube proximale >> podocyte

→ Ciblage d'une cellule cible
Couplage avec Ac / Utilisation de cargo



→ Thérapies personnalisées +++ (Milasen)

→ Risque de toxicité / off-target

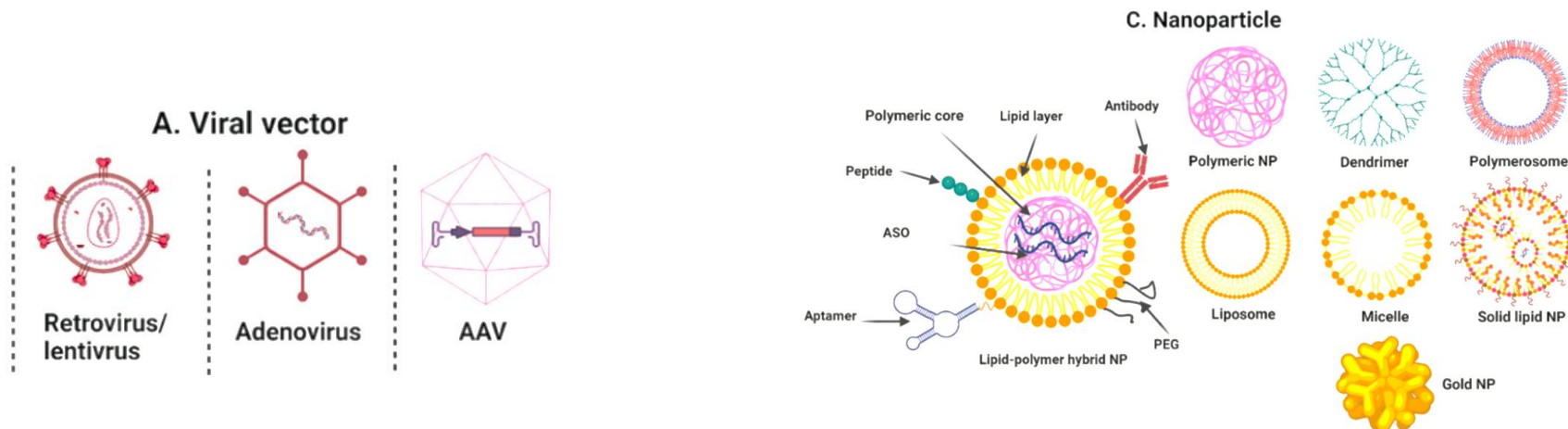


Therapeutic targets of CKD

Modulation des voies impliquées dans la maladie rénale chronique

Thérapies visant à modifier l'utilisation du génome : conclusions et perspectives

- Plusieurs outils disponibles *in vivo* ou *ex vivo*
- Technologies d'analyses cellulaires → identification de cibles cellulaires
- Progrès liés à la vectorisation : AAV spécifiques – LNP de 3eme génération – ASOs couplés ...
- Problèmes liés aux maladies rares +++ Financement des études précliniques et des essais cliniques
- Applications en dehors des maladies monogéniques : transplantation rénale +++





Merci pour votre attention

guillaume.dorval@aphp.fr

Thérapie à ARN : maturation de l'ARN

ON-mediated toxicities	Hybridisation dependent Watson-Crick hybridisation	ON-target Sequence dependent	- Exaggerated pharmacodynamic effect - Target and species-specific
		OFF-target Sequence dependent	<i>In silico</i> evaluation/<i>in vitro</i> validation - Guidelines published by the OSWG in 2012
PREDICTIVE ASSAYS			
Hybridisation independent - Tissue accumulation - Proinflammatory mechanisms - Protein binding effects		Inhibition of coagulation Sequence independent	Measurement of PT and aPTT <i>in vitro</i> in human plasma and/or in NHP studies
		Complement activation Sequence independent	Quantification of split products of APC (C3a, Bb and CSa) <i>in vitro</i> in human plasma (or whole blood) and <i>in vivo</i> NHP studies
		Immunostimulation Can be influenced by the sequence	Cytokine/chemokine levels in human PBMC or whole blood
		Thrombocytopenia Sequence dependent	- Chronic dosing studies in NHP - Evaluation of platelet activation in human platelet-rich plasma or whole blood
		High exposure organs Can be influenced by the sequence	- A growing number of predictive <i>in silico</i> and <i>in vitro</i> models have been established to filter out liver-toxic candidates - Evaluation of liver enzymes in mice/NHP preclinical studies <i>In vitro</i> EGF-based assays - Evaluation of urinary biomarkers such as proteinuria, β2-microglobulin and KIM-1 in preclinical mouse and/or NHP studies

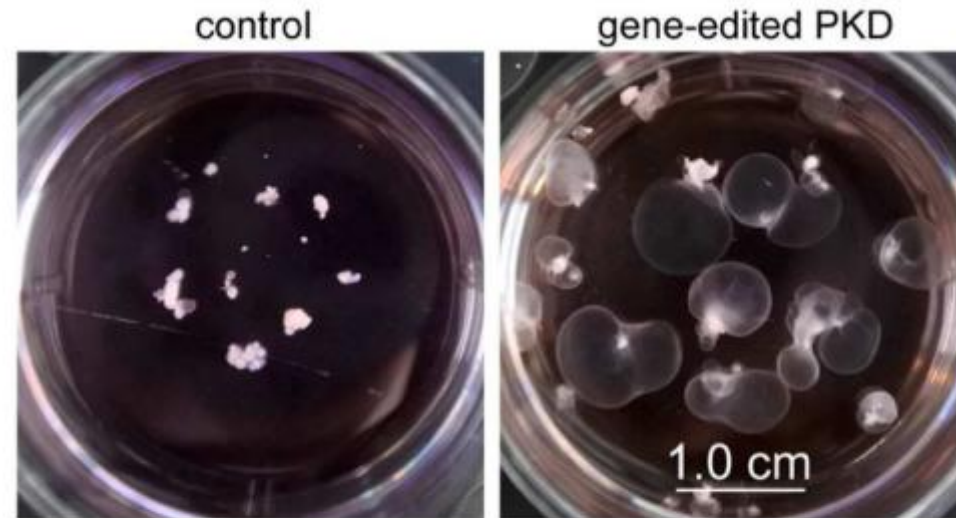


Figure 2. CRISPR establishes a human organoid model of PKD. Photographs of *PKD2*^{-/-} human kidney organoids (right) and isogenic control organoids (left). Adapted from Cruz et al³²; original images are © 2017, Springer Nature.

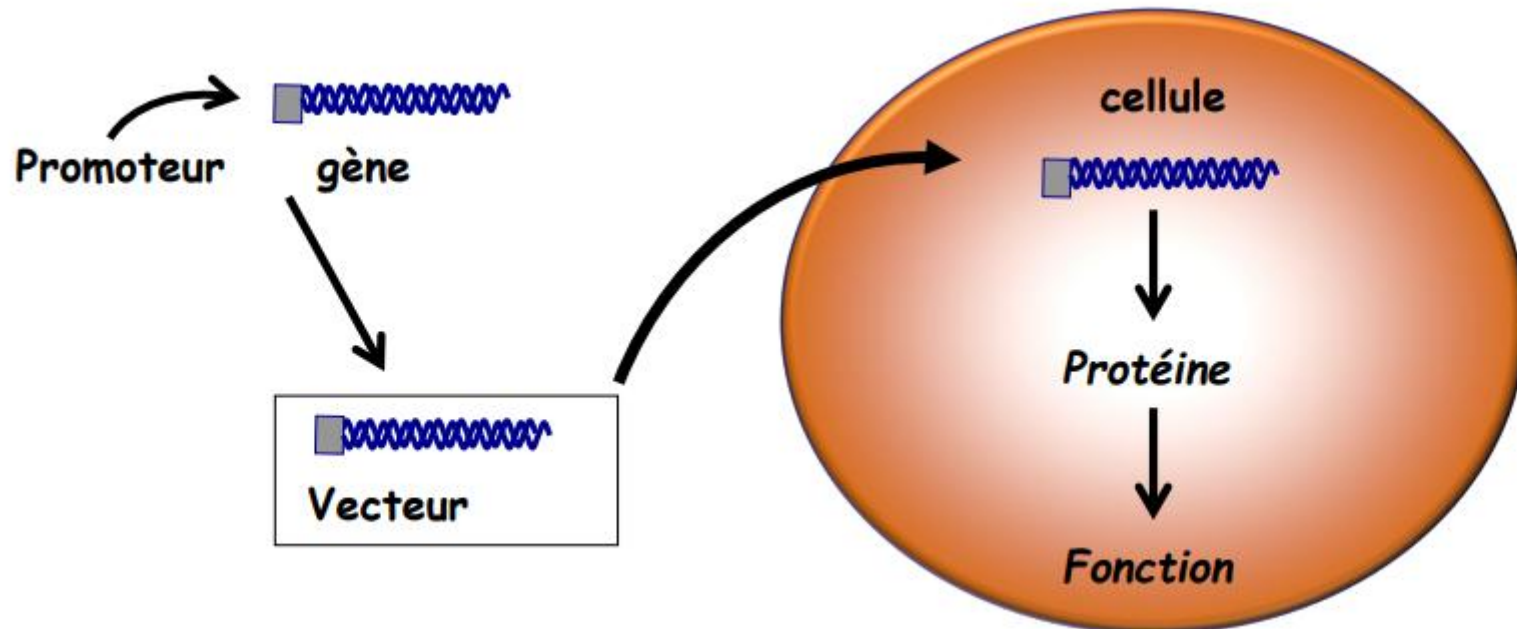
Study title	Condition	Study Phase	Intervention	Sponsors / Collaborators	Status
Safety of transplantation of CRISPR CCR5 Modified CD34+ cells in HIV-infected subjects with hematological malignances	HIV-1 infection	I	CCR5 gene modification	Affiliated Hospital to Academy of Military Medical Sciences, Peking University & Capital Medical University	Recruiting
A safety and efficacy study of TALEN and CRISPR/Cas9 in the treatment of HPV-related cervical intraepithelial neoplasia	HPV-related malignant neoplasm	I	Disruption of HPV16 and HPV18 E6/E7 DNA	First Affiliated Hospital, Sun Yat-Sen University & Jingchu University of Technology	Not yet recruiting
A study evaluating UCART019 in patients with relapsed or refractory CD19+ leukemia and lymphoma	B cell leukemia & B cell lymphoma	I/II	Universal CRISPR Cas9 gene-editing CAR-T Cells targeting CD19 (UCART019)	Chinese PLA General Hospital	Recruiting
PD-1 knockout engineered T cells for advanced esophageal cancer	Esophageal cancer	II	PD-1 knockout T cells	Hangzhou Cancer Hospital & Anhui Kedgene Biotech. Co., Ltd	Recruiting
PD-1 knockout engineered T cells for muscle-invasive bladder cancer	Invasive bladder cancer stage IV	I	PD-1 knockout T cells	Peking University & Cell Biotech Co., Ltd.	Not yet recruiting
PD-1 knockout engineered T cells for castration resistant prostate cancer	Hormone refractory prostate cancer	I	PD-1 knockout T cells	Peking University & Cell Biotech Co., Ltd.	Not yet recruiting
PD-1 knockout engineered T cells for metastatic renal cell carcinoma	Metastatic renal cell carcinoma	I	PD-1 knockout T cells	Peking University & Cell Biotech Co., Ltd.	Not yet recruiting
PD-1 knockout engineered T cells for metastatic non-small cell lung cancer	Metastatic non-small cell lung cancer	I	PD-1 knockout T cells	Sichuan University & Chengdu MedGenCell, Co., Ltd.	Recruiting
PD-1 knockout EBV-CTLs for advanced stage Epstein-Barr virus-associated malignancies	Stage IV gastric carcinoma, nasopharyngeal carcinoma, T-cell lymphoma, adult Hodgkin lymphoma, diffuse large B-cell lymphoma	I/II	PD-1 knockout EBV-CTL cells	Yang Yang & The Affiliated Nanjing Drum Tower Hospital of Nanjing University Medical School	Recruiting
NY-ESO-1- redirected CRISPR (T cell receptor endogenous and PD-1) edited T cells (NYCE T Cells)	Multiple myeloma, melanoma, synovial sarcoma, myxoid/round, cell liposarcoma	I	T cells engineered to express NY-ESO-1 *T cell receptor and gene edited to eliminate endogenous T cell receptor and PD-1	University of Pennsylvania	Not yet recruiting
A feasibility and safety study of universal dual specificity CD19 and CD20 or CD22 CAR-T cell immunotherapy for relapsed or refractory leukemia and lymphoma	B cell leukemia, B cell lymphoma	I/II	Universal CRISPR-Cas9 gene editing of CAR-T cells targeting CD19 and CD20 or CD22	Chinese PLA General Hospital	Recruiting

Source: clinicaltrials.gov.

* NY-ESO-1 is a human tumor antigen.

Stratégies de thérapie génique

- Apporter une copie normale d'un gène
- Inhiber l'expression d'un gène (muté)
- Corriger une mutation
- Ajouter un "nouveau gène" pour créer une nouvelle fonction



Succès de la thérapie génique à ce jour

2000 SCID-X1 (déficit immunitaire)

2002 SCID-ADA

2008 Amaurose

2009 Adrenoleukodystrophie

2010 Bêta thalassémie

2013 Wiskott-Aldrich syndrome

2013 leukodystrophie métachromatique

2014 Hémophilie B

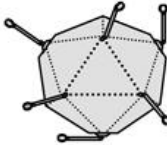
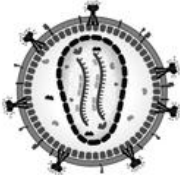
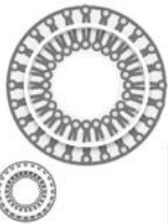
2017 Drépanocytose

2017 Amyotrophie spinale

2017 Epidermolyse bulleuse

2017 Hémophilie A In vitro (RV) In vivo (AAV)

2014 leucémies B

	 AAVs 26 nm	 Ads 90-100 nm	 retroviruses 80-130 nm	 LNPs 30-120 nm	 150 nt DNA/ RNA varies*
Genome size	4.7 kb	~36 kbp	~9 kb	NA	0.15 kb
Mass	~5 Mega Daltons	~160 Mega Daltons	~250 Mega Daltons	Variable	~0.05 Mega Daltons
Immunogenicity	Low	High	Low	Low	Low
Retargetability	Medium	High	Medium	Low	Low

By Thomas Splettstoesser ([www.scistyle.com](https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=38751722)) - Own work, CC BY-SA 4.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=38751722>
 Vossman [CC BY-SA 3.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/>)]

Table 1. Characteristics of the viral vectors

Vector system	Composition	Integration	Maximal Packaging Size, kb	Temporal Expression Pattern	Particle Size, nm
Lentivirus	RNA	yes	~10	long term	100
Adeno-associated virus	ssDNA	minimal	~4.5	long term	20–24
Adenovirus	dsDNA	no	~36	transient	80–120

[Gene therapy research for kidney diseases | Physiological Genomics \(physiology.org\)](https://physiology.org)

Table 2. List of adenoviral vector studies



Promoter	Transgene	Strain/Species (age/wt)	Dose	Route of Administration	Marker Gene Expression	Therapeutic Effect	Reference
SYSTEMIC ROUTE							
CAG	LacZ	B6/129 mice (newborn and 6 mo old)	2×10^9 pfu/g BW	retro-orbital	Glm transduction (~45%) at 48 h, and detectable for 21 days in neonates; no LacZ staining in adults	N/A	(43)
CAG	LacZ	B6/129 F1 mice (adult)	2.0×10^{11} vp	PV clamping following by RO injection	Glm (up to 75%); detectable up to 42 days (strongest β -gal at day 3)	N/A	(100, 101)
	RAGE shRNA	<i>Pkd2</i> ^{+/-} mice (6 day old)	3×10^8 (3 $\times$ at P6, P8, and P10)	IV	N/D	reduced cystic disease	(66)
CMV	LacZ and DDAH-1	rat	1.5×10^{10}	TV	N/D	inhibited loss of peritubular capillaries and fibrosis after 5/6 Npx	(53)
ANTEROGRADE RENAL ARTERY ADMINISTRATION							
RSV	LacZ	rats (adult)	1×10^{10}	RA (with 10 min occlusion)	cortex (6/7 out of 7 rats); detected at 7–30 days, but very low intensity at <i>day 30</i>	N/A	(56)
CMV	LacZ and Alpha5-FLAG	pig	1.5×10^{10} to 1.6×10^{13}	clamped renal hilus and rapid or slow (2 h) perfusion into RA	up to 85% Glm transduced using slow infusion; not detected in other cell types	N/A	(32, 33)
CAG	LacZ	rat (Sprague Dawley; 100–150 g)	1.5 and 7.5×10^{11} vp	slow RA infusion for 15 min	moderate staining of Glm for at least 21 days	N/A	(100, 101)
CMV	GFP and TGF- β 1	rats	5×10^9	slow RA infusion (1.5 mL)	selective LacZ staining in Glm (~75%) at 7 days	TGF- β 1 overexpression led to increased fibrosis and proteinuria after 28 days	(27)

Table 3. List of lentiviral vector studies

Promoter	Transgene	Animal Species	Dose	Route	Marker Gene Expression	Therapeutic Gene	Reference
cDNA EXPRESSION							
PGK	EGFP	FVB/N mice (1 mo old)	5–10 × 10 ⁸	pelvic injection (bolus)	moderately expressed in corticomedullary junction and renal cortex	N/A	(30)
					rare transduction in PCT and CD using all routes; direct injection was most effective; ~0.5–1 × 10 ⁸ VP was needed to achieve detectable signal		
CMV	EGFP or LacZ	Balb/c (20–25 g)	5 × 10 ⁷ –1 × 10 ⁸	RA, RV, ureter, direct injection (bolus)		N/A	(29)
CMV	EGFP-A1AR; EGFP-human SK1	C57BL/6 males (20–30 g)	~5 × 10 ⁶	renal pelvis (bolus)	highest transduction in the outer medulla (S3 segment of PCT)	increased human A1AR or SK1 expression provided partial protection to the kidney from renal or hepatic IRI	(45, 70, 71)
H1	B7-1 shRNA	C57Bl/6J mice (20–25 g)	4 × 10 ⁷ TU (at day 1 and 60)	TV (bolus)	N/D		reduced cell signaling, tissue lesions, and immune cell infiltration led to decreased progression of LN (35)
	Fcy-RI	MRL/lpr mice (15 wk old)	2 × 10 ⁸ TU weekly × 3	TV (bolus)	N/D		reduced FcyRI protein and suppressed renal macrophage activation in LN (102)
U6	floxed GFP-shAQP3	C57BL6/J mice	4 × 10 ⁸ TU	hydrodynamic TV (3–4× every 3 days)	detection of GFP throughout the kidney (cortex to medulla)		Hoxb7-Cre activation of AQP3 shRNA reduced AQP3 mRNA and protein in CD (61)
	Tctp shRNA	DBA2J mice	4 × 10 ⁸ TU	hydrodynamic TV (2× at days 0 and 7)	detection in glomerular and tubulointerstitial cells		reduced Tctp mRNA and protein in isolated glomeruli; improved glomerular dysfunction (44)
U6	TIMP2 shRNA	male C57Bl/6 mice (10–15 wk old)	1–3 × 10 ⁷ TU	direct injection (3–4 sites)	N/D		renal TIMP2 protein was moderately reduced; lessened AKI damage (48)
	TSC shRNA	C57Bl/6 mice (5 wk old)	1–5 × 10 ⁶ TU	direct bolus injection with ultrasound	N/D		moderate reduction in TSC1 protein from renal cortex (23)

EX VIVO APPLICATIONS

Cell Type	Transgene Cassette	Animal species	Route of Administration	Cell, <i>n</i>	Marker Gene Expression	Therapeutic Gene Effects	Reference
CD8 ⁺ cells from PBMCs	CMV-human anti-PD-L1	NSG male mice (6–8 wk old)	TV (bolus)	<i>day 0</i> (1×10^7 cells) and 17 (2.5×10^6 cells)	N/D	reduced tumor growth and weight in ccRCC transplanted under the kidney capsule	(87)
MSC	TGF- β 1	SD rats (50–100 g and 225–250 g)	RA (over 5 min)	10^5 cells	N/D	local immunosuppression was enhanced leading to improved protection from renal IRI	(11)
HSC	EF1 α -Ctns	Ctns ^{-/-} mice (6–8 wk old)	TV (bolus)	1×10^6 HSC (<i>day 1</i> after irradiation)	N/D	reduced cystine levels in the kidney and other organs, and improved the renal tissue damage	(31)

RNA based therapy

Definitions of Key Terms

- adeno-associated virus (AAV) – a small virus that infects human cells and can be used as a vector for gene therapy
- chimeric antigen receptors (CAR) T cells (CAR-T) – T-lymphocytes with receptors that have been engineered to recognize specific antigens
- CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeats) – a gene editing system combining a programmable nuclease with a customizable input RNA; can also refer to the bacterial DNA sequences that led to the discovery of this system
- CRISPR-associated system (Cas) – a family of nucleases used for CRISPR gene editing
- gene editing – introduction of targeted mutations into a specific sequence of DNA within the genome
- guide RNA (gRNA) – a short RNA sequence that directs Cas to complementary sites within the genome
- indel – mutations featuring the insertion or deletion of base pairs, commonly introduced during DNA repair processes
- interspecies blastocyst complementation (IBC) – establishment of a genetic niche within a host embryo to grow a tissue from another species
- kidney organoids - multicellular units in vitro containing podocytes, proximal tubules, and distal tubules in nephron-like patterns
- pluripotent stem cells (PSCs) – cells at an early embryonic stage that can give rise to the entire body

Général

Spécifiques aux maladies rénales

L'acheminement efficace des OLS thérapeutiques vers leurs tissus cibles reste un défi majeur. Bien que tous les médicaments ASO approuvés par la FDA soient administrés directement par injection, d'intenses efforts de recherche ont abouti à différentes stratégies visant à améliorer l'administration in vivo des ASO, telles que les nanocarriers, l'administration virale, les nanoparticules, les anticorps et les aptamères.

Les progrès des méthodes d'administration des oligonucléotides thérapeutiques ont été examinés dans un certain nombre de revues récentes [198,199,200,201,202].

L'inhibition de l'expression des gènes pertinents pour la MRC par les OLS peut entraîner des effets indésirables graves en raison de la multifonctionnalité des gènes cibles. Par exemple, bien que l'inhibition du TGF- β puisse supprimer la progression de la glomérulosclérose [123], le knock-out du TGF- β pourrait être mortel en raison de ses rôles essentiels dans de multiples processus de développement [124,125,126]. Les solutions possibles sont les suivantes :

(1)

Exploration des gènes cibles situés en amont ou en aval de la voie du TGF- β , tels que TSP1 (en amont) [113] et CTGF (en aval) [114].

(2)

Exploration des gènes cibles nouvellement évolués ou moins conservés, tels que APOL1 [118], de sorte que l'inhibition de ces gènes est probablement moins risquée que celle des gènes fonctionnellement conservés.

(3)

Identification des gènes responsables du diabète et de l'hypertension, car ces maladies sont les principales causes de l'IRC ; les thérapies ciblées basées sur les OLS peuvent prévenir l'induction de l'IRC [8,26,28,203].

(4)

L'étude des biomarqueurs liés à l'IRA, tels que la lipocaline associée à la gélatinase des neutrophiles (NGAL) et la molécule de lésion rénale-1 (KIM-1) [204,205], car ces biomarqueurs pourraient constituer des cibles thérapeutiques potentielles susceptibles de jouer un rôle dans la transition de l'IRA à l'IRC.

Les effets hors cible de l'ASO qui sont dépendants ou indépendants de la séquence peuvent entraîner une toxicité in vivo. Les solutions possibles sont les suivantes (1) l'allongement de la longueur de l'ASO de 15 mer à ~25-30 mer, ce qui augmente sa spécificité et réduit l'hybridation potentielle entre l'ASO et les ARN non ciblés ; (2) l'utilisation d'analogues nucléotidiques ayant un meilleur profil de sécurité, tels que la PMO, pour réduire la toxicité de l'ASO indépendante de la séquence. Un exemple de cette solution est le rejet du drisapersen (ASO modifié par 2'-OMe-PS, BioMarin Pharmaceutical) en raison d'une toxicité potentiellement mortelle et l'approbation de l'eteplirsén (ASO modifié par PMO, Sarepta Therapeutics) par la FDA en 2016 (le drisapersen et l'eteplirsén sont tous deux des médicaments ciblant l'exon-51 de l'ARNm de la DMD) [56].

• **Anticorps anti-médicaments (ADA)**

- L'immunogénicité médiée par les anticorps a été obtenue *in vivo* pour un médicament donné. Les anticorps spécifiques au médicament peuvent réduire l'efficacité du traitement et même inactiver complètement le médicament, et/ou ils peuvent induire des effets indésirables.

• **Oligonucléotides antisens (ASO)**

• **Aptamères**

- Oligonucléotides simple brin (20-100 nucléotides) qui adoptent des structures tridimensionnelles qui leur permettent de se lier très spécifiquement aux sites cibles des protéines.

Gapmer

Oligonucléotides antisens chimériques (ASO) qui contiennent un bloc central de nucléotides d'ADN, flanqué de séquences modifiées, contenant généralement des chimies d'acides nucléiques (LNA) 2'-O modifiés ou verrouillés. Les gapmers sont utilisés pour le silençage génique en stimulant le clivage de l'ARN par le recrutement de la RNase H.

Nanoparticules lipidiques (LNP)

Les systèmes d'administration basés sur les LNP sont composés d'un ou plusieurs composants lipidiques, souvent un lipide cationique ionisable utilisé pour la complexation de l'ADN / ARN polyanionique et des lipides auxiliaires stabilisateurs tels que la distéaroylphosphatidylcholine (DSPC) et le cholestérol. En outre, les LNP peuvent être stabilisés stériquement par revêtement de surface avec du polyéthylène glycol (PEG). Les LNP ont une architecture lipidique interne complexe qui est bien adaptée à l'encapsulation stable et efficace des cargaisons d'ADN / ARN.

MicroARN (miARN)

Petits ARN non codants (~22 nt), qui régulent l'expression des gènes au niveau post-transcriptionnel en dégradant les ARNm cibles, lorsqu'ils sont complémentaires à la séquence, ou en inhibant leur traduction lorsqu'ils ne sont pas entièrement complémentaires. Chaque miARN peut influencer l'expression de centaines d'ARNm.

Oligonucléotides morpholino phosphorodiamidate (PMO)

Oligonucléotides contenant une chimie non chargée. Le squelette des acides nucléiques a été remplacé par des cycles morpholino à 6 chaînons et des liaisons phosphorodiamidate, tout en conservant les nucléobases standard.

Acide nucléique peptidique (PNA)

Chimie oligonucléotidique non chargée avec liaisons amides entre les nucléobases. Les PNA sont fabriqués par synthèse peptidique.

Clivage de l'ARNase H

L'ARNase H hydrolyse les liaisons phosphodiester de l'ARN lorsqu'elle est hybridée à l'ADN.

Petit ARN interférent (siRNA)

ARN double brin (~21 nt) composé d'un brin guide complémentaire à l'ARNm cible et d'un brin passager. Les siRNA agissent dans le complexe de silençage induit par l'ARN endogène (RISC) pour dégrader l'ARNm.

Une vaste gamme de systèmes de livraison pourrait être utilisée pour livrer les ON; Cependant, la majorité cible le foie ou délivre dans tout le corps sans spécificité. D'autres progrès sont nécessaires pour améliorer l'administration spécifique aux tissus.

Notre compréhension des toxicités induites par l'ON s'est améliorée, et de nombreux tests prédictifs in vitro ont été développés pour exclure les candidats toxiques au début du développement. Étant donné que certaines toxicités dépendent de la séquence, il sera important de mettre en œuvre le dépistage de la toxicité dès le début du développement préclinique des ON.

Suivant l'exemple du milasen, il est prévu que des thérapies ON sur mesure seront développées pour d'autres maladies du cerveau. Un processus pour guider ce développement est nécessaire.

Des données cliniques très limitées sont disponibles pour de nombreux ON thérapeutiques, car la plupart ciblent des maladies rares et ont été testées chez des dizaines ou, au mieux, quelques centaines de patients. Cependant, cela pourrait être sur le point de changer grâce à de nouveaux médicaments ON ciblant des troubles courants, tels que l'hyperlipidémie, qui pourraient produire des données cliniques sur des milliers de patients et accélérer davantage le développement de futurs ONs thérapeutiques.

Thérapie à ARN : dégradation de l'ARN

Antisense oligonucleotide treatment ameliorates IFN- γ -induced proteinuria in *APOL1*-transgenic mice

Modèle de néphropathie « aiguë » liée à *Apo-L1*

Mariam Aghajan,¹ Sheri L. Booten,¹ Magnus Althage,² Christopher E. Hart,¹ Anette Ericsson,²

Souris
transgéniques



Fosmid ABC12-49114000M18



Thérapie à ARN : dégradation de l'ARN

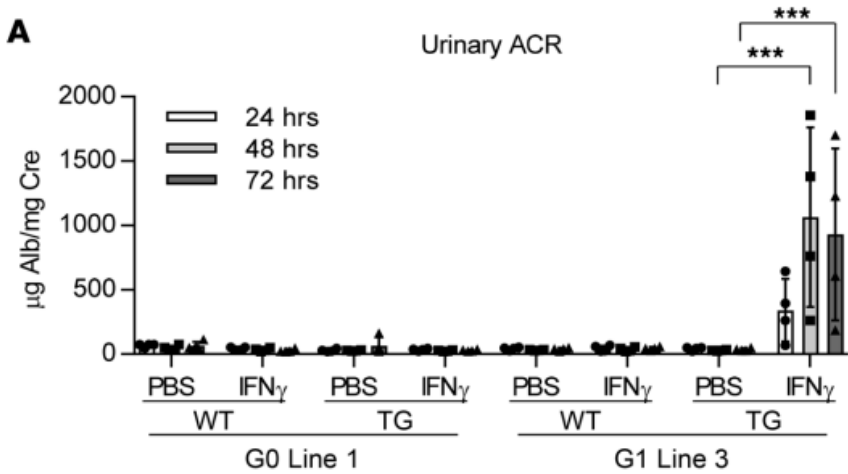
Antisense oligonucleotide treatment ameliorates IFN- γ -induced proteinuria in *APOL1*-transgenic mice

Mariam Aghajan,¹ Sheri L. Booten,¹ Magnus Althage,² Christopher E. Hart,¹ Anette Ericsson,²

Modèle de néphropathie « aigue » liée à *Apo-L1*

Souris transgéniques
Second hit
→ IFN- γ

Fosmid ABC12-49114000M18



Protéinurie

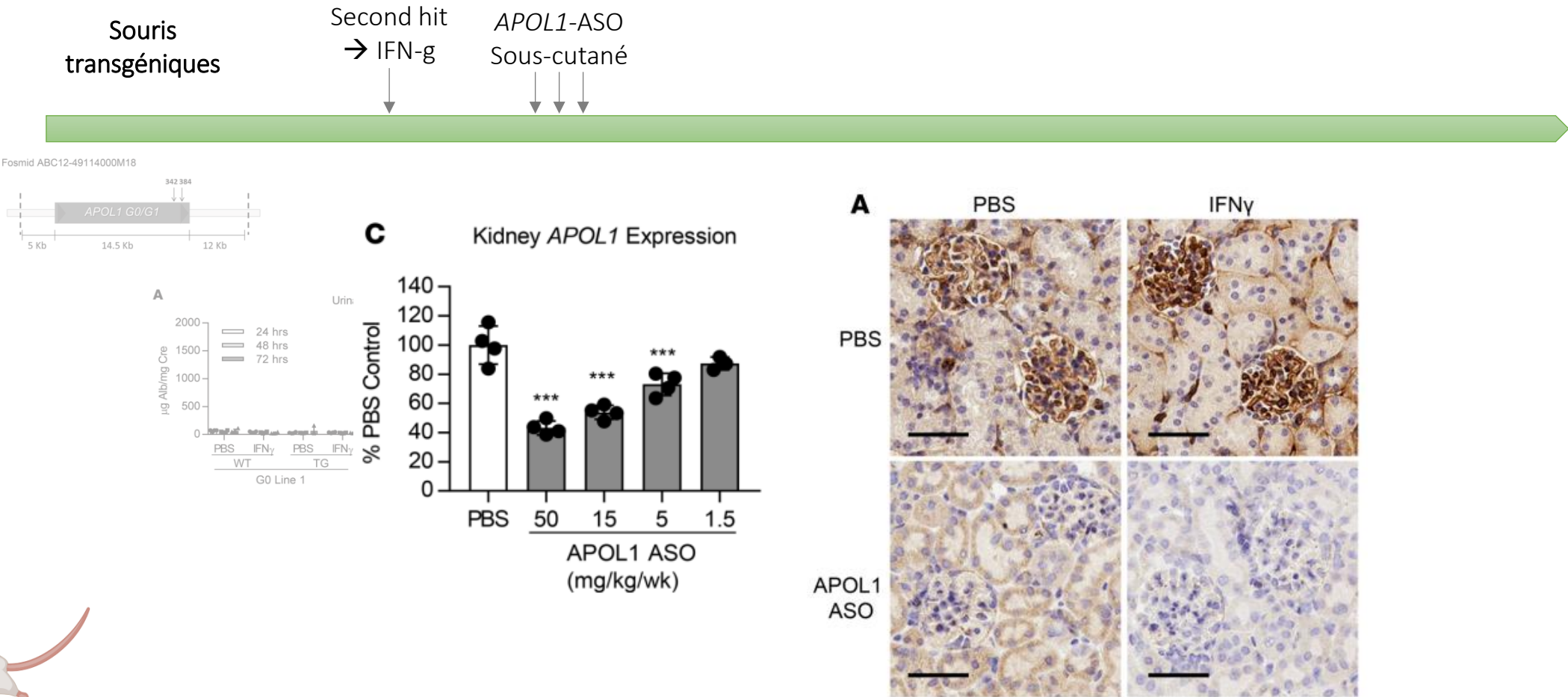


Thérapie à ARN : dégradation de l'ARN

Antisense oligonucleotide treatment ameliorates IFN- γ -induced proteinuria in *APOL1*-transgenic mice

Mariam Aghajan,¹ Sheri L. Booten,¹ Magnus Althage,² Christopher E. Hart,¹ Anette Ericsson,²

Modèle de néphropathie « aiguë » liée à *Apo-L1*

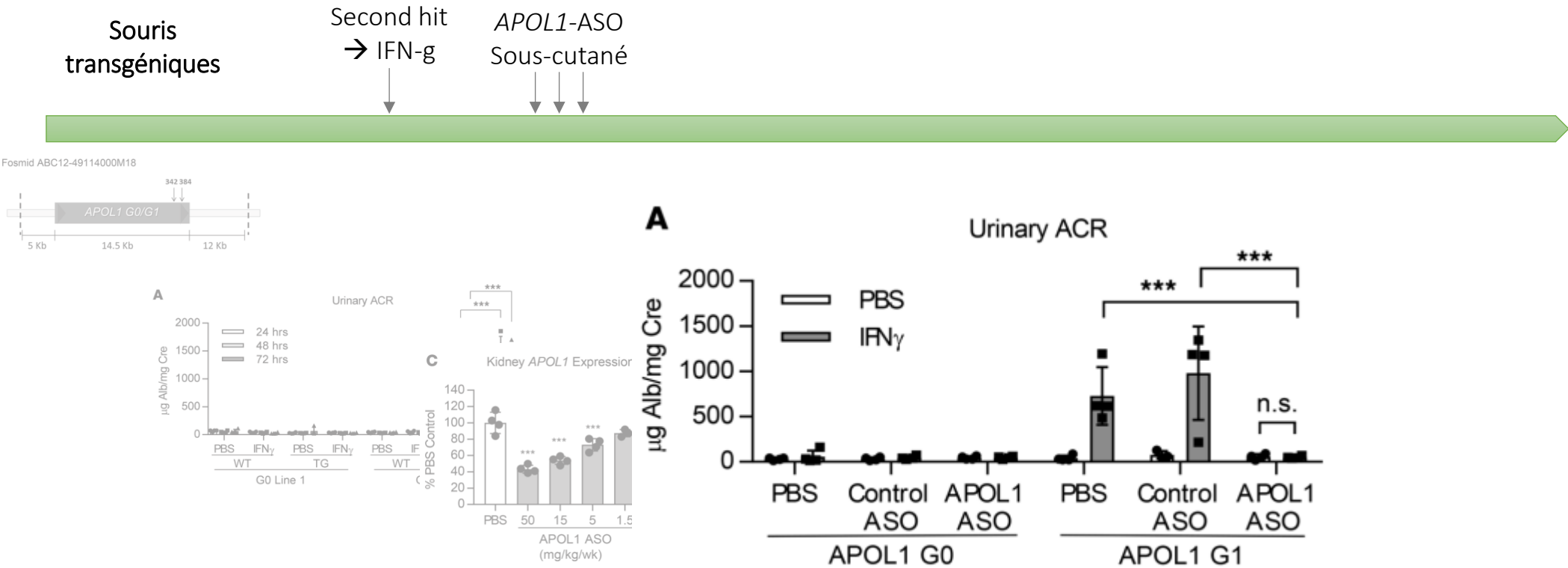


Thérapie à ARN : dégradation de l'ARN

Antisense oligonucleotide treatment ameliorates IFN- γ -induced proteinuria in *APOL1*-transgenic mice

Mariam Aghajan,¹ Sheri L. Booten,¹ Magnus Althage,² Christopher E. Hart,¹ Anette Ericsson,²

Modèle de néphropathie « aiguë » liée à *Apo-L1*



Diminution significative de la protéinurie après ASO
Limite : modèle « préventif »