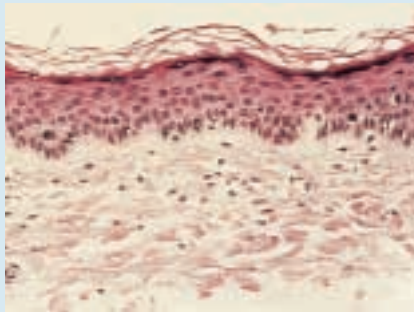


Un équivalent de peau, prêt à l'emploi

Les différentes équipes qui tentent de mettre au point des modèles de peau de remplacement ont toutes pour objectif de préparer des substituts toujours plus proches de la peau naturelle, notamment avec les deux couches qui constituent la peau humaine, le derme (la couche interne) et l'épiderme (la couche externe). Ainsi est né le modèle de peau *Apligraf* des laboratoires *Organogenesis*.

Il y a une vingtaine d'années, à l'Institut de technologie du Massachusetts, Eugene Bell constata que des fibroblastes, les cellules qui forment le derme, peuvent s'infiltrer dans un gel de collagène et le transformer en une matrice fibreuse. Le collagène est un élément essentiel de la matrice extracellulaire, le «ciment» biologique qui maintient les cellules en place. En 1981, E. Bell montra que les kératinocytes, les principales cellules de l'épiderme, peuvent se développer sur ce substrat dermique, formant une peau équivalente grossière que l'on peut greffer à des rats.

Pour préparer cette peau, nous avons isolé du collagène de tendons de bovins, puis nous l'avons stérilisé chimiquement à froid pour détruire tous les micro-organismes pathogènes potentiels, sans endommager le collagène. Après avoir établi les conditions optimales de culture des kératinocytes humains, il nous fallait trouver une source de fibroblastes et de kératinocytes, et nous avons eu l'idée de collecter des prépuces de nouveau-nés, obtenus à la suite de circoncisions. Nous avons obtenu une couche dermique et à l'avons ensemencée avec des cellules épidermiques. Il nous restait à trouver comment contrôler la prolifération des kératinocytes, pour éviter que des kystes ne se forment.



Le modèle de peau *Apligraf* est constitué de deux couches, un épiderme supérieur et un derme sous-jacent.

Nous avons observé, par hasard, que, dans certaines boîtes de culture, l'épiderme se développait en adoptant une forme convexe au lieu de la forme concave habituelle. On constata rapidement que cette forme favorisait la croissance contrôlée d'une couche d'épiderme sur une couche dermique enrichie en collagène.

Entre 1990 et 1992, nous avons commercialisé une version de ce substitut de peau, qui fut utilisé pour remplacer l'expérimentation animale dans des études toxicologiques et pharmacologiques. Après avoir obtenu les autorisations requises, nous avons testé notre substitut de peau sur des ulcères variqueux, c'est-à-dire des lésions cutanées dues à une insuffisance de la circulation veineuse des membres inférieurs. Nous avons constaté que la peau de remplacement se comporte comme une greffe et qu'elle stimule directement la cicatrisation, grâce à ses propres facteurs de croissance. Les ulcères les plus graves, qui persistaient depuis plus d'un an, cicatrisèrent rapidement. Après 24 semaines, 47 pour cent des plaies les plus rebelles à la cicatrisation étaient refermées, contre 19 pour cent avec les traitements classiques, qui consistent à appuyer sur la plaie tout en la maintenant humide.

Aujourd'hui, *Apligraf* est commercialisé aux États-Unis et au Canada par les Laboratoires *Novartis Pharmaceuticals*. La peau est livrée «prête à l'emploi», et se conserve pendant cinq jours à température ambiante. Elle est en cours d'évaluation chez des personnes ayant subi des brûlures, souffrant d'ulcères diabétiques ou ayant subi une ablation chirurgicale de peau.

Nancy PARENTEAU, *Organogenesis*

L'efficacité des substituts de derme

Quand on prépare des peaux de remplacement, elles doivent conserver leurs propriétés jusqu'à leur utilisation. Pour préparer des équivalents de derme, les Laboratoires *Advanced Tissue Science* utilisent des fibroblastes isolés du derme de prépuces de nouveau-nés qui, en culture, ont une considérable capacité de multiplication (à partir d'un prépuce, on pourrait obtenir une surface de peau équivalant à plusieurs terrains de football). Des polymères servent de trame où ces cellules se répliquent. Pendant une période de croissance de deux semaines, les cellules se divisent et produisent des facteurs de croissance, du collagène et diverses protéines qui forment un derme humain fonctionnel. Même après avoir été congelé pour être transporté sur le lieu de son utilisation, le tissu, nommé *Dermagraft*, reste vivant, c'est-à-dire qu'il a la capacité de déclencher la croissance de la peau, par exemple chez les diabétiques qui ont un ulcère du pied ou chez des personnes qui ont des escarres. Pour cicatriser, ces plaies nécessitent des facteurs de croissance et diverses protéines que produit la peau naturelle.

Pour être transporté ou stocké, *Dermagraft* est conservé à -70 °C, mais le froid détruit souvent les cellules. Nous avons étudié diverses méthodes de cryopréservation



Dermagraft, constitué d'une seule couche de derme, semble efficace dans le traitement des ulcères du pied des diabétiques.

et cherché celles qui assurent la meilleure conservation de nos équivalents de derme. Nous avons constaté que, pour le traitement des ulcères du pied des diabétiques, où la cicatrisation est difficile, la moitié des cellules du derme greffé doivent être vivantes pour que la lésion cicatrise. Ces ulcères sont fréquents chez les diabétiques (15 pour cent d'entre eux en souffrent), car leurs cellules vieillissent prématurément et ne produisent plus de collagène ni les protéines de la matrice. Le derme greffé compense ces insuffisances.

L'état de santé des personnes qui ont reçu une greffe dont plus de la moitié des cellules étaient vivantes s'est notablement amélioré : 51 pour cent ont cicatrisé en 12 semaines (contre 32 pour cent des personnes traitées par des méthodes classiques). Quand la greffe ne contient pas assez de cellules vivantes, les ulcères cicatrisent mal. Des essais se poursuivent pour l'évaluation de *Dermagraft* dans le traitement des ulcères du pied des diabétiques, des ulcères variqueux, des ulcères de compression (les escarres) et de diverses plaies chroniques : le substitut de derme semble accélérer la recolonisation de la plaie par les kératinocytes.

Gail NAUGHTON, *Advanced Tissue Sciences*

Les cellules encapsulées

MICHAEL LYSAGHT • PATRICK AEBISCHER

Des implants contenant des cellules vivantes, protégées du système immunitaire par une membrane en plastique, pourraient libérer dans l'organisme des molécules thérapeutiques.

En 1994, un chirurgien place une petite capsule en matière plastique dans la colonne vertébrale d'un homme qui souffre de douleurs continues. Cette capsule de cinq centimètres de long, fine comme le fil de fer d'un trombone, contient des cellules de veau qui sécrètent des antalgiques.

Les bio-ingénieurs qui ont conçu la capsule ont prévu que les antalgiques traverseront des pores minuscules et diffuseront dans la moelle épinière ; inversement, les nutriments et l'oxygène du liquide céphalo-rachidien pénétreront dans la capsule, pour alimenter les cellules. La membrane de la capsule, en matière plastique, doit bloquer les structures plus grosses, tels les anticorps et les cellules immunitaires : ainsi le système immunitaire ne détectera pas la présence des cellules de veau et il ne les détruira pas.

Ce dispositif doit bloquer les signaux de la douleur, qui se propagent à travers la moelle épinière, jusqu'aux centres de détection du cerveau. Cependant, l'expérience de 1994 a seulement vérifié que les cellules implantées survivent et libèrent leurs antalgiques pendant plusieurs mois. Son succès et celui des expériences qui ont suivi ont ouvert la voie à une vaste étude, aujourd'hui en cours, de l'antalgie. Mieux encore, les expériences ont montré que des cellules encapsulées pourraient traiter des maladies variées.

Après cinq ans de travail, l'intérêt des thérapies par cellules encapsulées (encore nommées thérapies par immuno-isolement ou bio-hybrides) semble justifié. Après l'implant antalgique, un système bio-hybride hépatique a été testé dans plusieurs centres

médicaux. D'autres thérapies par cellules encapsulées sont testées sur l'homme et sur de grands animaux, contre divers troubles : les maladies neurodégénératives de Parkinson et de Huntington, l'hémophilie, l'anémie ou le retard de croissance.

Dans la plupart des cas, on implante des cellules encapsulées dans des sites appropriés de l'organisme, mais parfois, comme dans le cas de la thérapie hépatique, les cellules encapsulées peuvent remplir leur fonction dans un dispositif externe, analogue à un système de dialyse rénale.

La thérapie par cellules encapsulées est prometteuse, parce qu'elle évite les inconvénients de l'implantation de cellules libres. Les cellules encapsulées peuvent assurer les fonctions de cellules lésées ou perdues, ou apporter les molécules que les cellules de l'organisme ne produisent pas.

Ces cellules encapsulées ne sont pas attaquées par le système immunitaire, de sorte qu'elles évitent les traitements immunosuppresseurs : les personnes traitées ne sont alors plus prédisposées aux infections, à certains cancers (lymphomes) ou aux lésions rénales.

La protection immunitaire assurée par les membranes en plastique permet aussi l'emploi de cellules animales en médecine. Celles-ci ne peuvent pas être greffées sans capsule, car les immunosuppresseurs n'évitent pas totalement le rejet des implants provenant d'autres espèces (xéno-greffes). L'utilisation de cellules animales compenserait la pénurie de tissus humains. Enfin, contrairement aux cellules libres, des cellules encapsulées pourraient être récupérées et éliminées rapidement, si nécessaire.

Les recherches sur les cellules encapsulées sont fondées sur les travaux de William Chick, des Laboratoires de recherche Joslin. Dans les années 1970, Chick s'intéressait au traitement du diabète insulino-dépendant. Souvent, cette maladie frappe des personnes jeunes : le pancréas ne fabrique plus d'insuline, alors que, chez les individus sains, il en produit proportionnellement à la concentration en glucose dans le sang. Les injections quotidiennes d'insuline sauvent des vies, mais elles ne reproduisent pas le rythme naturel de sécrétion d'insuline : les tissus sont exposés à de trop fortes concentrations en glucose, de sorte que, progressivement, la cécité et des lésions rénales apparaissent.

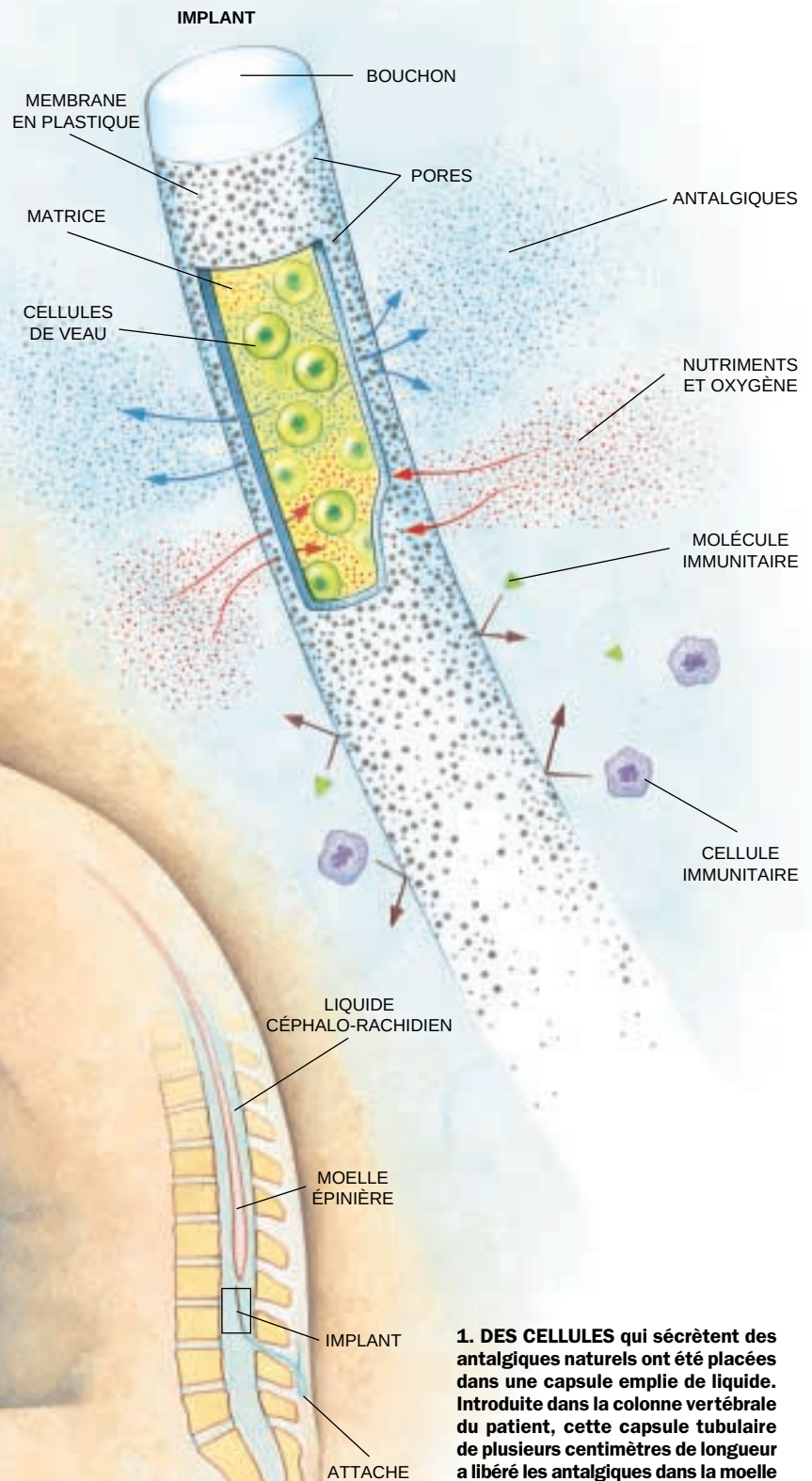
Des capsules de toutes sortes

Chick pensait que des implants d'îlots (groupes de cellules) pancréatiques encapsulés auraient un triple avantage : ils produiraient de l'insuline en quantité adaptée aux besoins de l'organisme à chaque instant ; les capsules éviteraient l'administration d'immunosuppresseurs ; on pourrait implanter des cellules animales, notamment des cellules de porcs (à partir desquelles l'industrie pharmaceutique a produit de l'insuline).

Depuis le milieu des années 1970, les études sur des rongeurs ont confirmé l'intuition de Chick, mais divers obstacles techniques s'opposent encore au traitement du diabète par immuno-isolement. Décédé en 1998, Chick ne verra pas le fruit de ses efforts, mais de nombreux patients lui devront sans doute bientôt la santé.

Les divers types d'implants encapsulés ont tous les mêmes éléments de

base : des cellules capables de sécréter des substances utiles sont placées dans une matrice limitée par une membrane poreuse. On sait aujourd'hui que les implants doivent être placés à moins de 0,5 millimètre des vaisseaux sanguins ou d'autres sources de nutrition pour fonctionner correctement.



1. DES CELLULES qui sécrètent des antalgiques naturels ont été placées dans une capsule emplies de liquide. Introduite dans la colonne vertébrale du patient, cette capsule tubulaire de plusieurs centimètres de longueur a libéré les antalgiques dans la moelle épinière des patients traités. Les antalgiques traversent la capsule par les pores minuscules du plastique. Les nutriments (de petites molécules) et l'oxygène empruntent aussi ces pores pour entrer dans la capsule, mais les cellules immunitaires et les anticorps ont été bloqués.

Les premiers dispositifs à cellules encapsulées étaient extracorporels : on les a testés pour traiter le diabète chez des rats. La circulation sanguine est déviée vers un tube en plastique. L'enceinte contenant les cellules thérapeutiques entoure un segment poreux du tube. Lorsque le sang traverse le tube, il absorbe les substances sécrétées par les cellules thérapeutiques, tandis qu'il leur fournit des nutriments et de l'oxygène. Dans le cas des îlots pancréatiques, la concentration en glucose dans le sang détermine la quantité d'insuline libérée. Dans d'autres cas, les cellules sécrètent régulièrement un produit. Les dispositifs de dérivation sont surtout destinés à des applications externes, car leur greffe impose une opération chirurgicale, ainsi que l'administration à long terme d'anticoagulants pour empêcher la formation de caillots dans le tube ; en outre, une rupture du tube provoquerait une hémorragie interne.

À la fin des années 1970, un autre système, moins invasif, de «microencapsulation» a été mis au point. Pour fabriquer des microcapsules, on met un îlot pancréatique d'environ 1 000 cellules dans une goutte de solution aqueuse de polymères électriquement chargés ; puis on plonge la goutte dans une solution de polymères de charge opposée. En réagissant, les polymères forment une enveloppe autour de la goutte, de 0,5 millimètre de diamètre environ. Les microcapsules sont de fabrication rapide, mais leur utilisation chez l'homme présente des inconvénients : elles sont fragiles, difficiles à retrouver après implantation, et il en faut trop pour corriger une maladie.

Les macrocapsules préformées semblent préférables. Une fois fabriquées, elles sont remplies d'une matrice contenant toutes les cellules nécessaires au traitement. Par leur forme et leur taille, elles ressemblent à une pièce de un franc, à une baleine de col de chemise ou à un tube. Chez l'homme, on utilise le plus souvent des tubes scellés de plusieurs centimètres de longueur et dont le diamètre est compris entre 0,5 et 1 millimètre. Grâce à leur armature interne, les macrocapsules sont beaucoup plus résistantes et plus durables que les microcapsules. Elles sont aussi plus fiables, car on peut tester leur étanchéité avant l'implantation et les retrouver



2. LES CAPSULES TUBULAIRES où on loge des cellules (ici, en coupe, une capsule vide) ont une enveloppe qui a la structure d'une mousse.

en cas de problème. Certaines macrocapsules sont même conçues pour être remplies de nouveau une fois qu'elles sont dans l'organisme. En revanche, leur capacité est limitée à cinq millions de cellules environ pour les tubes et à 50 ou 100 millions pour les disques, ce qui n'est pas toujours suffisant. On ne peut les faire plus grosses sans risque de rupture, et leurs bords plus courbés sont parfois le siège d'une dégénérescence fibreuse, qui peut bloquer les pores de la capsule.

Les fabricants de systèmes bio-hybrides cherchent à créer des pores qui soient assez petits pour prévenir une invasion de cellules ou de molécules immunitaires, mais assez grands pour laisser passer les nutriments, l'oxygène et les protéines sécrétées par les cellules implantées. Aujourd'hui, les pores ont des tailles trop variées, de sorte que certaines molécules immunitaires traversent la capsule, mais ce phénomène est en général trop limité pour être gênant.

Des cellules immortelles

Jusqu'à la fin des années 1980, la plupart des dispositifs bio-hybrides contenaient des cellules primaires, c'est-à-dire prélevées à un organisme donneur. Toutefois, la technique des cellules primaires ne permet pas des études sur de grands animaux et sur l'homme, car on s'en procure alors difficilement. De surcroît, on aurait dû vérifier, pour chaque donneur, que l'utilisation de ses cellules ne présentait aucun risque. Ainsi, au début des années 1990, certaines équipes ont

commencé à s'intéresser aux lignées cellulaires. Ces cellules sont immortelles, se divisent sans cesse et se multiplient rapidement en culture, sans perdre leur aptitude à produire des substances utiles, contrairement aux cellules primaires, qui se répliquent peu en culture. Pour fabriquer une lignée cellulaire, on doit modifier des cellules primaires, mais, ensuite, l'apport de cellules pour les transplantations est continu.

Depuis 1991, nos travaux montrent l'intérêt des lignées de cellules pour les thérapies par organes bio-hybrides. Nous nous sommes intéressés à la maladie de Parkinson, caractérisée par l'absence de dopamine dans une structure du cerveau appelée substance noire. Afin d'étudier la maladie chez des animaux, nous avons reproduit ce symptôme en détruisant leurs cellules productrices de dopamine. Puis nous avons greffé aux animaux malades des cellules qui sécrètent de la dopamine, issues de la lignée PC-12, créée à partir d'une tumeur surrénale de rongeur. Les symptômes ont disparu chez de nombreuses espèces, notamment chez les primates.

Les cellules n'ont pas proliféré de manière incontrôlée, puisque leur nombre total n'a pas dépassé la capacité de l'implant. En outre, les études ont montré que, si des cellules immortelles s'échappaient de leur capsule, elles n'engendreraient probablement pas de tumeur cancéreuse, comme on l'avait craint tout d'abord : l'immortalisation d'une cellule n'est qu'une étape vers le cancer. Pour être cancéreuses, des cellules doivent devenir capables d'envahir un tissu voisin, de mettre en place leur propre système de vascularisation et de se disséminer vers des sites éloignés. De plus, le risque d'apparition de tumeurs n'existe que lorsque les cellules immortelles greffées proviennent de l'espèce du receveur. Dans le cas des xénogreffes, des expériences avec des cellules de rat non encapsulées, de type PC-12, implantées dans le cerveau de primates, ont montré qu'aucune tumeur n'apparaît ; les cellules greffées ont été rapidement détruites par le système immunitaire du receveur. Les lignées de cellules semblent donc utilisables dans les traitements par immuno-isolement.

Le succès des études sur les lignées cellulaires ouvre des perspectives intéressantes en thérapie génique : on pourra utiliser des cellules génétiquement modifiées, car des cellules qui se divisent incorporent davantage les gènes étrangers ; elles ont donc plus de chances de fabriquer des protéines thérapeutiques que des cellules ordinaires. Suivant le protocole classique, on prélève des cellules au patient, on y insère les gènes choisis,

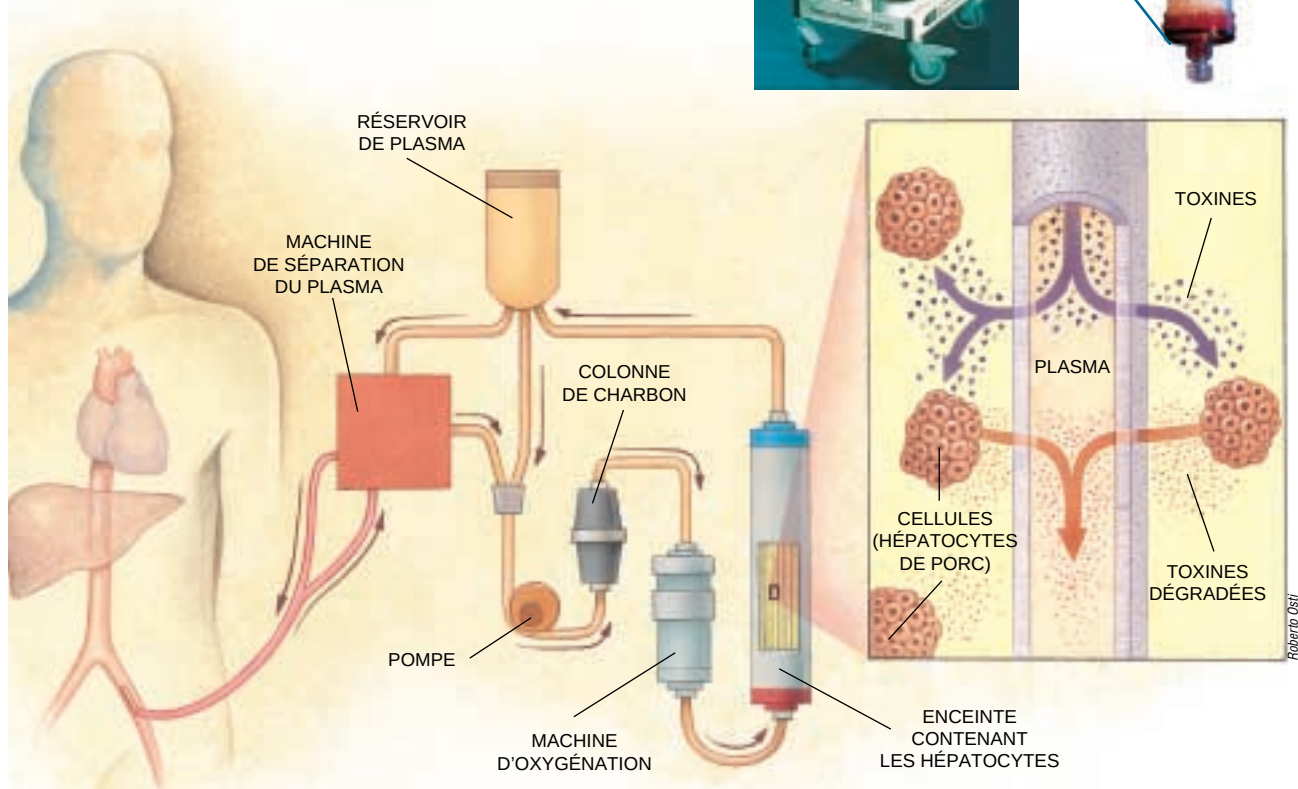
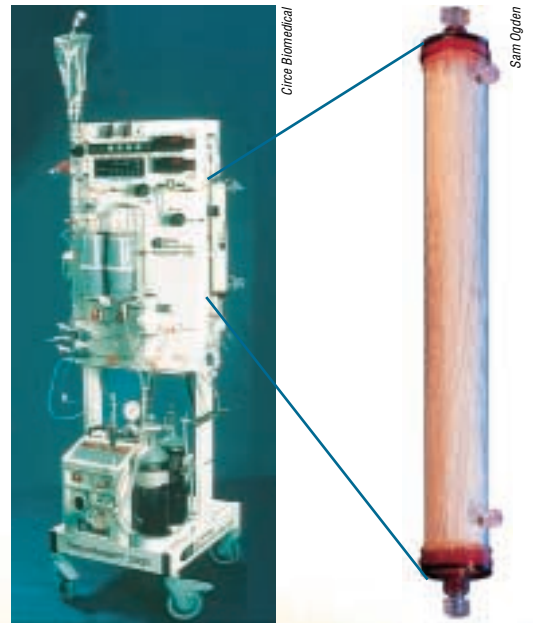
puis on favorise la multiplication des cellules ainsi modifiées, avant de les réintroduire dans l'organisme du patient. On espère alors que les protéines codées par les gènes introduits seront fabriquées en quantité suffisante, mais on n'a aucune certitude. Avec les capsules de cellules génétiquement modifiées, en revanche, on peut évaluer l'effet de la modification génétique avant de mettre les implants en place.

Les lignées de cellules destinées aux thérapies bio-hybrides doivent-elles provenir d'animaux ou d'hommes ? Pour les cellules primaires, prises à des donneurs, la question ne se pose pas : ce sont toujours des cellules animales, parce que les donneurs humains manquent. D'autre part, certains chercheurs préfèrent les lignées d'origine animale, parce que, si des cellules s'échappaient des capsules, elles seraient rapidement

L'assistance hépatique

Les systèmes à cellules encapsulées ne sont pas tous des implants : ceux qui sont testés pour l'assistance hépatique fonctionnent à l'extérieur de l'organisme. Ils permettent de maintenir les patients en vie jusqu'à ce qu'une greffe soit possible. Le dispositif présenté ici a été mis au point par l'équipe de Claudy Mullon, de la Société *Circe Biomedical* et celle d'Achille Demeatriou, du Centre médical Cedars-Sinai.

Cette machine pompe le sang du malade et fait passer sa partie liquide (le plasma) dans une colonne de charbon, qui élimine certaines toxines. Après oxygénation, le plasma passe dans une enceinte contenant les hépatocytes (cellules hépatiques de porcs). Dans l'enceinte, le plasma traverse plusieurs tubes poreux entourés par le milieu contenant les hépatocytes. Les toxines du plasma diffusent vers ces derniers, qui les transforment en substances inoffensives. Après purification, le plasma est remélangé aux cellules sanguines et réinjecté dans l'organisme du patient.



détruites par le système immunitaire. En outre, on peut équiper des cellules animales de gènes humains codant des protéines thérapeutiques. Les lignées d'origine humaine ont d'autres avantages : leurs cellules s'adaptent mieux à l'intérieur des capsules que les cellules animales et l'on ne risque pas de transférer des virus pathogènes des animaux à l'homme. Quelle que soit l'origine des cellules, on pourrait les modifier, de sorte que l'apparition d'une reconnaissance immunitaire soit rapidement déclenchée si des cellules s'échappaient de leur implant.

Les cellules encapsulées, génétiquement modifiées ou non, servent souvent à sécréter des protéines thérapeutiques, mais si ces protéines sont injectables, pourquoi les implanter ? Parce que l'endroit où l'injection est nécessaire est parfois inaccessible, par exemple dans une tumeur ou dans le cerveau, protégé par une membrane qui bloque l'accès à certaines substances du sang. Certaines protéines sont trop instables pour être injectées en continu par des pompes. Enfin, les injections ne reproduisent pas le rythme naturel de sécrétion des protéines, ce qui est parfois gênant, comme pour le diabète.

Les essais cliniques

Alors que les premiers essais cliniques utilisent des cellules primaires, les dispositifs bio-hybrides du futur contiendront certainement des cellules génétiquement modifiées. Pour le traitement de la douleur chronique, par exemple, nous avons utilisé des cellules prélevées à des veaux qui avaient été élevés dans des conditions contrôlées. Après avoir extrait les cellules chromaffines des glandes surrénales (ces cellules sécrètent naturellement des antalgiques), nous avons purifié trois millions de cellules environ, nous les avons mises dans une capsule tubulaire scellée à chaque extrémité et reliée à une attache qui permettait la récupération en cas de besoin. Puis nous avons implanté les capsules dans la colonne vertébrale de patients, lors d'une intervention chirurgicale peu invasive. Au milieu des années 1990, nos collègues chirurgiens ont montré que ces implants fonctionnaient pendant plusieurs mois et ils ont noté



Patrick Aubischer

3. CE PETIT TUBE renferme des cellules de hamster. Il a été retiré de la colonne vertébrale d'un patient après 17 semaines : les cellules sécrétaient encore une protéine thérapeutique, et la surface du dispositif d'encapsulation était intacte. Ces résultats laissent espérer que les implants de cellules animales pourront fonctionner pendant plusieurs mois.

les indices d'un effet antalgique : plusieurs patients souffraient moins et avaient réduit leur consommation de morphine. Cependant, comme ces expériences ne comparaient pas le groupe traité à un groupe non traité, nous ne sommes pas sûrs que le traitement soit réellement efficace. Un essai clinique sur plus de 100 patients déterminera le degré d'atténuation de la douleur.

Les premiers résultats montrent que des cellules encapsulées d'origine animale survivent pendant plusieurs mois dans le système nerveux central de sujets qui ne prennent pas d'immunosuppresseur (alors qu'aucune cellule animale transplantée chez l'homme n'a survécu sans encapsulation, même lorsqu'on administrait massivement des immunosuppresseurs au patient).

Le dispositif d'assistance hépatique est une autre application bien testée des implants de cellules primaires animales encapsulées. Dans un foie sain, des cellules nommées hépatocytes dégradent les toxines. Lorsque le foie ne fonctionne pas correctement, ces toxines s'accumulent jusqu'à atteindre une concentration

létale. Les transplantations hépatiques sauvent des vies, mais beaucoup de patients meurent parce que l'on ne dispose pas d'organe compatible avec leur type tissulaire. Les systèmes hépatiques bio-hybrides pourraient assurer les fonctions de détoxification jusqu'à ce qu'une possibilité de greffe se présente. Cette thérapie « passe-relle » utilise un appareil vasculaire externe : on pompe le sang du patient vers une enceinte fermée, où une suspension d'hépatocytes de porc dégrade les toxines qu'il contient ; le sang régénéré retourne ensuite dans l'organisme (voir l'encadré de la page précédente). Contrairement à l'implant antalgique, qui ne délivre que quelques milligrammes d'antalgiques mais fonctionne pendant des mois ou des années, un dispositif hépatique extracorporel contient de 20 à 200 grammes d'hépatocytes et n'a pas besoin d'avoir une autonomie supérieure à 24 heures.

Lors d'une première étude de près de 40 patients, qui souffraient de problèmes hépatiques risquant d'entraîner leur mort, le dispositif a fonctionné comme on l'espérait. Ces résultats, publiés en 1998, sont à l'origine du développement de la technique aux États-Unis et en Europe. Les espoirs sont grands. Dans le cas de graves lésions hépatiques dues à une absorption excessive de paracétamol, le système pourrait assurer la détoxification jusqu'à la régénération du foie.

Les biologistes se préoccupent de l'état des cellules animales utilisées : ne contiennent-elles pas des gènes de virus inconnus, dangereux pour le receveur ? Des méthodes de dépistage rigoureuses garantissent l'absence de pathogènes déjà identifiés et, jusqu'ici, les membranes d'encapsulation semblent infranchissables pour les virus animaux. D'ailleurs, aucun patient n'a contracté d'infection, même bénigne, par l'intermédiaire des cellules d'un donneur. Cependant, la vigilance reste indispensable.

Les essais cliniques de thérapies géniques par cellules encapsulées ont également commencé, mais ils sont moins avancés. Deux petites études de traitements des maladies du système nerveux central ont été réalisées. Le premier essai clinique avec des cellules génétiquement modifiées portait sur le traitement de la sclérose amyotrophique

latérale : cette maladie dégénérative se caractérise par l'altération des cellules nerveuses qui contrôlent les muscles. En 1996, six patients ont reçu des implants qui comprenaient des cellules d'une lignée dérivée de reins de hamsters nouveau-nés. On avait ajouté à ces cellules un gène qui code le facteur neurotrophique ciliaire, afin de retarder la détérioration des neurones. Le protocole d'implantation de la capsule tubulaire dans la colonne vertébrale était voisin de celui que nous avons décrit pour le traitement des douleurs chroniques. Les cellules ont survécu et libéré pendant trois mois assez de facteur neurotrophique ciliaire pour que celui-ci soit détecté dans le liquide céphalo-rachidien. La progression de celle-ci n'a pas été retardée, mais le test était trop court et portait sur trop peu de sujets pour fournir un résultat fiable. Si l'on trouvait le ou les gènes permettant de traiter la sclérose amyotrophique latérale, l'encapsulation des cellules serait un bon moyen de les amener jusqu'au système nerveux.

L'équipe de Marc Peschanski teste aujourd'hui des implants où l'on a placé la même lignée cellulaire sur des patients atteints de la maladie de Huntington, qui tue certaines cellules cérébrales. Cette fois, les capsules ont été implantées dans les ventricles cérébraux (des espaces remplis de fluide céphalo-rachidien, à l'intérieur du cerveau). Ce protocole de thérapie génique vient juste de commencer. Avec d'autres expériences sur l'animal, il révélera les performances de l'immuno-isollement comme technique d'administration de la thérapie génique (voir l'encadré de la page suivante).

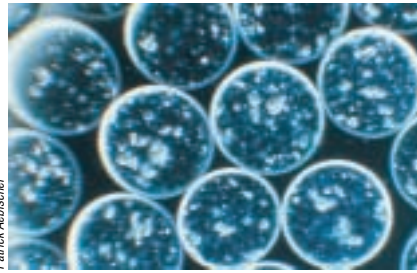
Le défi du diabète

Puisque les recherches sur l'immuno-isollement sont prometteuses dans de nombreux domaines, pourquoi le traitement du diabète ne progresse-t-il pas également ?

Après les succès de Chick et de ses collègues, qui ont réussi à traiter le diabète chez les rongeurs en 1977, une dizaine de laboratoires ont reproduit leurs résultats avec différents types d'implants. Néanmoins, la thérapie bio-hybride, fondée sur les îlots pancréatiques, a donné des résultats médiocres chez les espèces plus

MICROCAPSULES

Capacité : 1 000 à 5 000 cellules



Patrick Aebischer

MACROCAPSULES

Capacité : 1 000 000 à 100 000 000 cellules



TheraCyte



Cytotherapeutics

DISPOSITIFS EXTRACORPORELS

Capacité : plus de 1 000 000 000 cellules

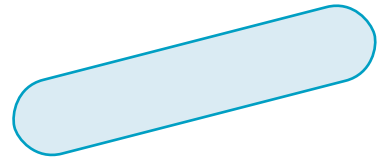


Circa Biomedical



TAILLE RÉELLE :

500 micromètres de diamètre



TAILLE RÉELLE :

5 cm × 1 cm × 500 micromètres



TAILLE RÉELLE :

5 à 7 cm × 800 micromètres

TAILLE RÉELLE :

Capsule : environ 7 cm de large
Tube : environ 6 mm de diamètre

4. LES SYSTÈMES D'ENCAPSULATION ont des tailles et des formes variées.

Les microcapsules (en haut) sont de minuscules sphères en plastique qui enferment du liquide et des cellules. Les macrocapsules, de quelques centimètres de long, sont préformées avant d'être remplies par un petit tube, visible sur l'implant du haut, qu'on enlève avant l'implantation. Le fil bleu, sur la photographie inférieure, est une partie de l'attache. Des dispositifs de dérivation plus grands font passer le sang par un tube en plastique entouré par une enceinte en forme d'anneau, remplie de cellules thérapeutiques. Celui qui est photographié ici peut être implanté. Sur la droite, les silhouettes indiquent les tailles réelles.

Dessins de Laurie Grace

Les thérapies géniques en cours

Les maladies énumérées ici pourraient être soignées par des implants de cellules encapsulées génétiquement modifiées. Ces cellules

seraient dotées d'un gène qui leur permettrait de libérer la protéine thérapeutique correspondante sur le site biologique où elle est utile.

MALADIES	GÈNES	IMPLANTS
Sclérose latérale amyotrophique (ALS)	Facteur neurotrophique ciliaire (CNTF) : protège les neurones de la mort	Dans la moelle épinière : la phase I des essais sur l'homme, vérifiant l'innocuité sur un petit nombre de sujets, est terminée.
Maladie de Huntington	CNTF	Dans un ventricule cérébral : en phase I des essais sur l'homme.
Maladie de Parkinson	Facteur neurotrophique glial : protège les neurones sécrétant de la dopamine.	Dans un ventricule cérébral : étudié chez les primates.
Anémie	Érythropoïétine (EPO) : glycoprotéine plasmique qui stimule la production des globules rouges.	Sous-cutané : étudié chez des primates et des rongeurs.
Hémophilie	Facteur VIII ou facteur IX de la coagulation	Sous-cutanés : étudiés chez des chiens et des rongeurs.
Nanisme	Hormone de croissance humaine (HGH) : stimule la croissance de l'organisme.	Sous-cutané : étudié chez des porcs et des rongeurs.
Diabète non insulino-dépendants	Peptide 1 de type glucagon (GLP-1) : stimule la libération d'insuline.	Sous-cutané : étudié chez des rongeurs.
Dégénérescence maculaire	CNTF	Oculaire : étudié chez les rongeurs.

grandes, tels les chiens, les singes et les hommes.

Pour traiter des individus diabétiques, on devrait leur implanter environ 700 000 îlots, soit deux milliards de cellules bêta productrices d'insuline. C'est 1 000 fois plus que ce que l'on a déjà encapsulé. Pour traiter des souris, 500 îlots suffisent ; on les extrait manuellement du pancréas de souris saines. Cependant, le prélèvement de 700 000 îlots à la main, ou même par des techniques semi-automatiques, est difficile. Le grand nombre d'îlots nécessaires pose un autre obstacle : dans les pancréas naturels, chaque îlot a son propre système vasculaire, alors que, dans les capsules, les îlots supportent mal leur environnement. L'implantation de pancréas artificiels fondés sur des îlots encapsulés serait probablement un échec.

Les lignées de cellules résoudront-elles le problème ? Plusieurs équipes modifient des cellules pour leur faire sécréter de l'insuline en réaction aux signaux complexes qui activent les pancréas sains. On vise la création de cellules qui produiraient plus d'insuline

que les cellules normales et qui pourraient donc être implantées en nombre inférieur. Elles seraient adaptées à la survie dans l'environnement pauvre en nutriments et en oxygène des capsules. Il y a cinq ans, on croyait impossible la fabrication de telles cellules, mais les progrès réalisés en biologie cellulaire et moléculaire ont redonné de l'espoir.

Il faudra environ cinq ans pour que des lignées de cellules sensibles au glucose soient testées sur de grands animaux. Ensuite, les progrès jusqu'aux

essais cliniques devraient être rapides. Certains collègues sont plus optimistes que nous, d'autres restent prudents, mais tous considèrent que la mise au point d'un pancréas artificiel ou bio-hybride est une priorité. D'autres applications de la thérapie bio-hybride apparaîtront également. Pendant les 20 prochaines années, elle dépassera le stade de la recherche pour jouer un rôle clé dans le traitement de certaines maladies humaines parmi les plus réfractaires et les plus invalidantes.

Michael LYSAGHT est professeur à l'Université Brown et président du Centre de médecine cellulaire de Rhode Island. Patrick AEBISCHER est directeur du Centre de thérapie génique de l'Université de Lausanne.

P. AEBISCHER et M.J. LYSAGHT, *Immunoisolation and Cellular Xenotransplantation*, in *Xeno*, vol. 3, n° 3, pp. 43-48, juin 1995.

Robert P. LANZA, David K.C. COOPER et William L. CHICK, *Les xénotrans-*

plantations, in *Pour la Science*, septembre 1997.

Robert P. LANZA, Robert LANGER et William L. CHICK, *Principles of Tissue Engineering*, R.G. Landes Company, 1997.

D.F. EMERICH et al., *Treatment of Central Nervous System Diseases with Polymer-Encapsulated Xenogeneic Cells*, in *Cell Transplantation for Neurological Disorders*, sous la direction de Thomas B. Freeman et Hakan Widner, Humana Press, 1998.

