

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.

Les organes artificiels

DAVID MOONEY • ANTONIOS MIKOS

Faute d'organes que l'on peut greffer, on construit des organes vivants, en partie synthétiques.

Chaque jour, des milliers d'individus sont hospitalisés en raison d'une défaillance d'un de leurs organes vitaux. La majorité d'entre eux meurent, faute d'organes à transplanter. En France, seuls 50 pour cent des patients qui avaient besoin d'une greffe cardiaque en ont bénéficié en 1998. Les foies, les reins et la peau sont également en quantités insuffisantes. Aujourd'hui on répare plus facilement les véhicules accidentés que leur conducteur, parce qu'on ne dispose pas, pour les êtres vivants, de pièces de rechange. La création de tissus ou d'organes d'origine humaine, nommés néo-organes, devrait bouleverser la chirurgie des prochaines décennies.

On envisage ainsi d'injecter des molécules, par exemple des facteurs de croissance, à l'intérieur d'une blessure afin de provoquer la migration des cellules du patient vers la zone lésée, leur spécialisation, et ainsi la régénération du tissu. On envisage aussi de greffer des structures en polymère biodégradable comprenant des cellules,

celles du patient ou celles d'un donneur. Après la transplantation, les cellules se diviseraient, envahiraient la structure, tandis que les polymères artificiels se dégraderaient ; on obtiendrait ainsi un néo-organe.

La fabrication de ces néo-organes se fonde sur les progrès fondamentaux de la biologie et de la physique des matériaux.

On est encore loin des prouesses techniques dépeintes dans les œuvres de science-fiction, mais l'ingénierie des tissus est déjà en œuvre dans certains hôpitaux : on fabrique de la peau, du cartilage, de l'os, des ligaments et des tendons ; on progresse vers la confection d'organes complexes composés de plusieurs types de cellules, tels que les foies, les reins, les seins, les vessies et les intestins. Les études d'embryologie démontrent la faisabilité de l'entreprise et révéleront comment commander l'organogenèse et la différenciation cellulaire.

L'utilisation de composés qui déclenchent la réparation des tissus est la première voie explorée. On sait que le

comportement des cellules est guidé par des composés biochimiques lors des cicatrisations et des régénérations.

Une pincée de protéine

En 1965, à l'Université de Californie, Marshall Urist a observé la formation d'un nouveau tissu osseux chez des animaux à qui il avait injecté de l'os pulvérisé. Cette observation conduisit à l'identification des protéines morphogénétiques osseuses (BMP) responsables de cette activité ; puis les biochimistes ont identifié les séquences d'ADN qui codent ces protéines. Aujourd'hui, plusieurs sociétés produisent les protéines morphogénétiques osseuses humaines en cultivant des cellules de mammifères qui ont reçu les séquences isolées.

Les produits commercialisés sont testés dans plusieurs hôpitaux : on étudie leur faculté de régénération du tissu osseux pour la cicatrization des fractures aiguës traumatiques et pour l'accélération de la régénération des tissus périodontaux qui entourent l'os et qui sont responsables de sa croissance. La Société *Creative BioMolecules* a montré que la protéine morphogénétique osseuse BMP-7 est aussi efficace qu'une greffe osseuse à partir d'un os prélevé sur une autre partie du corps pour consolider des fractures de la jambes toujours ouvertes après neuf mois.

La régénération des tissus ne donne de bons résultats que si les nouveaux tissus sont bien irrigués par le sang qui les nourrit et qui les oxygène. Judah Folkman, de l'École de médecine de Harvard, a identifié des composés qui assurent la vascularisation des tissus alors qu'il cherchait à bloquer la croissance cellulaire des tumeurs cancéreuses.

En 1972, il a ainsi proposé d'asphyxier les tumeurs grâce à des inhibiteurs de la croissance des vaisseaux



Prasad Shastri et Ivan Martin, Massachusetts Institute of Technology

1. UNE MATRICE EN FORME DE NEZ, en polymère synthétique (à gauche), est «ensemencée» avec des cellules nommées chondrocytes. Progressivement, ces cellules remplacent le polymère par du cartilage (à droite) et forment un implant que l'on peut greffer.

sanguins qu'elles fabriquent normalement pour se développer. Avec d'autres chercheurs, il a ensuite identifié des facteurs qui favorisent l'angiogenèse.

L'industrie pharmaceutique fabrique aujourd'hui ces molécules angiogénétiques. Des tests sur des animaux ont montré que ces composés provoquent la croissance de nouveaux vaisseaux sanguins qui contournent les zones de blocage, par exemple dans les artères coronaires. Chez l'être humain, les essais cliniques à petite échelle sont en cours.

Cependant, des difficultés subsistent. Seuls les facteurs responsables de la croissance des os et des vaisseaux sanguins ont été caractérisés. Pour régénérer d'autres organes, tel le foie, on devra identifier les molécules nécessaires à leur développement et apprendre à les produire.

On devra également apprendre à utiliser ces molécules. Quelles concentrations conduisent à l'effet souhaité? Combien de temps faut-il exposer les cellules? Combien de temps les facteurs restent-ils actifs dans l'organisme? Pour des organes complexes, comment orchestrer l'administration des divers facteurs nécessaires? Les techniques de libération contrôlée de substances, par exemple avec des timbres transdermiques, contribueront certainement à résoudre ces questions.

Les polymères injectables sont des systèmes qui délivreront ainsi des molécules biologiquement actives. L'un d'entre nous (A. Mikos), avec Michael Yaszemski, de la clinique Mayo, et Alan Yasko, du centre Anderson de Houston, met au point de nouveaux polymères injectables et biodégradables pour des applications orthopédiques. Ces polymères, à l'état liquide quand ils sont injectés, comblent des anfractuosités irrégulières et durcissent en 10 à 15 minutes, conférant à la zone du squelette reconstituée des propriétés mécaniques semblables à celles de l'os qu'ils remplacent. Ils se dégradent ensuite en quelques semaines, de sorte que le tissu osseux vient se reconstituer à leur place.

Nous avons également étudié le traitement des déchaussements des dents

2. LE CORPS HUMAIN est davantage que la somme de ses parties, mais le remplacement des parties défaillantes allongera et améliorera l'existence.



Grant Jendling

de l'os maxillaire par des hydrogels biodégradables et injectables. Les hydrogels sont des gels que l'on obtient à partir de polymères proches de la gélatine, mais qui présentent une quantité d'eau considérable. On leur incorpore des molécules qui contrôlent la fonction cellulaire et induisent la formation osseuse : ils forment une trame sur laquelle croît le nouvel os et évitent les cicatrices.

À l'Université du Michigan, Jeffrey Bonadio, Steven Goldstein et leurs collègues associent les concepts de thérapie génique et d'ingénierie des tissus : ils n'administrent pas directement les facteurs de croissance, mais insèrent les gènes qui les codent dans les cellules environnantes, à l'aide de plasmides (des boucles d'ADN). Les cellules de l'organisme traitent les plasmides comme leurs chromosomes et fabriquent les facteurs de croissance (voir la figure 6). Cependant, l'ADN plasmidique n'est pas inclus dans l'ADN des cellules, de sorte qu'il finit par être dégradé, et la synthèse du produit s'arrête. Chez l'animal, des plasmides ont induit avec succès la reconstitution osseuse, mais la durée de ces effets reste à l'étude.

Lonnie Shea et l'un d'entre nous (D. Mooney) ont récemment montré chez des animaux que des polymères tridimensionnels biodégradables garnis de plasmides libèrent ceux-ci lentement et servent de cadres à la formation du nouveau tissu. L'ADN pénètre dans les cellules adjacentes lorsqu'elles migrent vers le réseau de polymères. Les cellules expriment alors les protéines sélectionnées : la formation d'un tissu est mieux contrôlée. Les médecins



3. CETTE OREILLE ARTIFICIELLE EN CARTILAGE attend d'être implantée. Les bio-ingénieurs ont créé cette structure semi-artificielle à partir d'un polymère moulé.

devront maintenant apprendre à programmer l'intensité et la durée de production de molécules actives par les cellules qui captent les plasmides, afin de régler la formation de tissu.

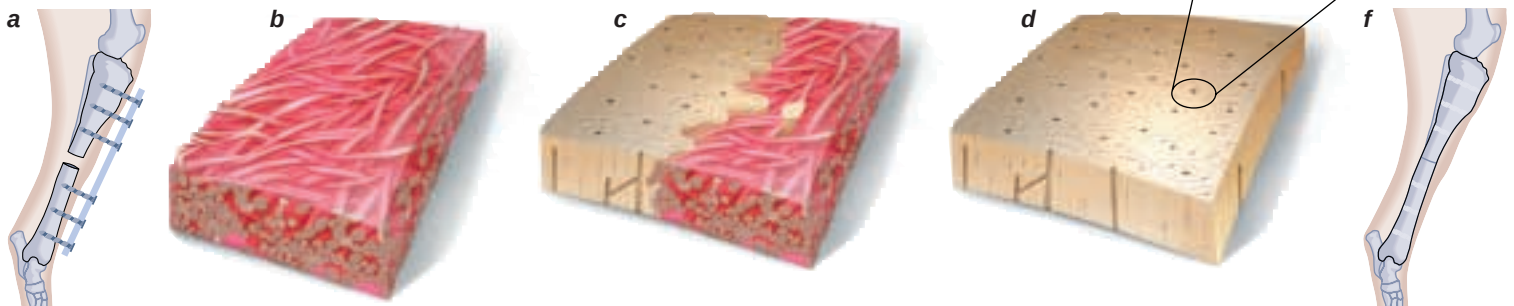
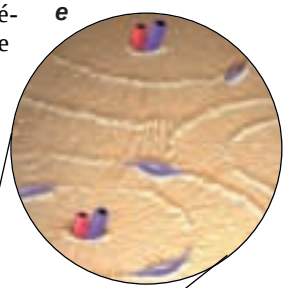
Une pincée de cellules

Le véritable objectif de l'ingénierie des tissus est encore plus ambitieux : on cherche à créer des néo-organes complets. La meilleure façon de faire croître des tissus et des organes est de faire confiance aux propriétés biochimiques de l'organisme. Dans les années 1970 et 1980, Ioannis Yannas, Eugene Bell et Robert Langer, de l'Institut de technologie du Massachusetts, ainsi que Joseph Vacanti, de l'École de médecine de Harvard, ont proposé de placer les cellules dans une matrice en trois dimensions et d'intégrer cette matrice dans l'organisme afin que la croissance se déroule dans cet environnement approprié plutôt que dans un environnement artificiel extérieur. Ce procédé est aujourd'hui testé sur quelques patients, notamment ceux atteints de plaies cutanées ou de lésions articulaires.

On commence par cultiver des cellules afin d'en obtenir un grand nombre, puis on les utilise pour ensemer une matrice constituée de polymères synthétiques ou de collagène, la protéine qui forme l'armature naturelle de la plupart des tissus. Cette matrice assure l'introduction des cellules dans l'organisme, et elle assure un environnement propice à la formation du tissu, dont elle guide le développement. On cherche aujourd'hui la méthodologie qui permettra de fabriquer n'importe quel organe. On espère identifier les règles du développement des organes afin de cultiver des organes *in vitro*. En cas d'urgence, les chirurgiens utiliseront ainsi les organes préalablement réalisés au lieu d'attendre pendant des semaines, voire des mois, le développement d'un nouvel organe *in vitro* ou *in vivo*, à l'aide de facteurs de croissance.

Une peau vivante est déjà utilisée, et d'autres produits sont en cours d'agrément. Les besoins en peau sont urgents : chaque année, 7 000 Français souffrent d'ulcères diabétiques, dont la cicatrisation est particulièrement difficile ; 15 000 autres subissent des prélèvements cutanés pour traiter des cancers de la peau ; et 3 000 bénéficient de greffes de peau pour brûlures graves.

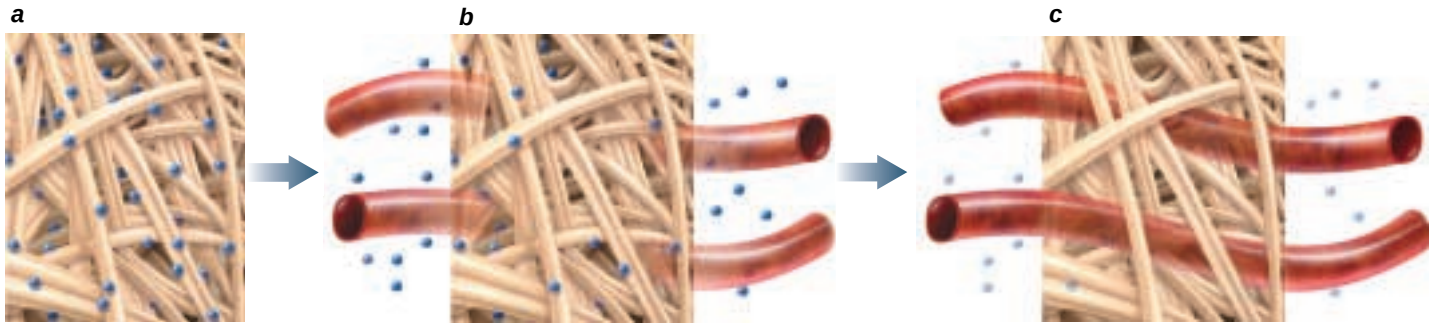
Le cartilage est le deuxième tissu le plus demandé ; on l'utilise pour des applications orthopédiques, craniofaciales



4. ON FAIT CROÎTRE DU TISSU OSSEUX pour combler l'espace entre deux segments osseux. L'os fracturé d'un chien est maintenu par des broches (a). On place, entre les segments osseux, une matrice en polymère où l'on a placé des protéines qui stimulent la crois-

sance osseuse (b). Progressivement, cette matrice est envahie par du tissu osseux (c), à mesure qu'elle se dégrade (d). Les cellules (e) possèdent leur propre système d'irrigation (vaisseaux en rouge et bleu). L'os de la patte est cicatrisé (f).

VAISSEAUX FORMÉS GRÂCE À DES FACTEURS DE CROISSANCE



VAISSEAUX FORMÉS GRÂCE À DES IMPLANTS CELLULAIRES



5. LA VASCULARISATION D'UN NOUVEAU TISSU s'effectue de deux manières. D'une part, des facteurs de croissance (*points bleus*) inclus dans une matrice en polymère (a) diffusent dans l'environnement immédiat et favorisent la croissance des vaisseaux sanguins existants vers le polymère (b) ; les cellules qui se multiplient de chaque

côté se rejoignent et forment un seul vaisseau (c). D'autre part, des cellules endothéliales (*en mauve*) introduites dans le polymère (d) y prolifèrent, puis rejoignent le tissu naturel (e), où les nouveaux vaisseaux se combinent aux vaisseaux sanguins existants (*en rouge*) pour constituer un vaisseau continu (f).

et urologiques. Le cartilage disponible est insuffisant aux 130 000 opérations nécessaires annuellement en France pour réparer des articulations abîmées et pour effectuer 12 000 opérations de chirurgie réparatrice du visage et du crâne. Le cartilage a peu de besoins nutritifs et ne requiert pas la croissance de nouveaux vaisseaux sanguins.

Certaines lésions traumatiques du cartilage du genou sont aujourd'hui traitées par du cartilage cultivé à partir des propres cellules du patient : on cultive d'abord des cellules prélevées au genou blessé, puis on les implante. Une régénération complète dure 12 à 18 mois. À l'Université de Worcester, Charles et Joseph Vacanti ont découvert comment fabriquer du cartilage en forme d'oreille, de nez ou de diverses autres formes.

À l'École de médecine de Harvard, Anthony Atala teste un traitement des désordres urologiques dus à un manque de tonicité musculaire, tels l'incontinence ou le reflux vésical, en prélevant des cellules qui synthétisent le cartilage du patient. Après multiplication *in vitro*, il les réimplante et augmente le volume de l'urètre ou des

uretères (aujourd'hui, ces pathologies sont traitées par une chirurgie complexe ou par des injections de collagène qui se dégrade rapidement).

L'un de nous (D. Mooney), avec Walter Holder et Craig Halberstadt, du Centre médical de Charlotte, a utilisé ces techniques pour résoudre le problème de la biocompatibilité des prothèses mammaires. Après culture des cellules prélevées dans la jambe ou dans la fesse, on remplace un sein cancéreux par une matrice de polymère biodégradable qui intègre les cellules. La croissance cellulaire, parallèlement à la dégradation de la matrice, forme un nouveau tissu. Ce dernier ne contient pas les divers types de cellules qui constituent un sein véritable, mais on évite ainsi les prothèses mammaires synthétiques.

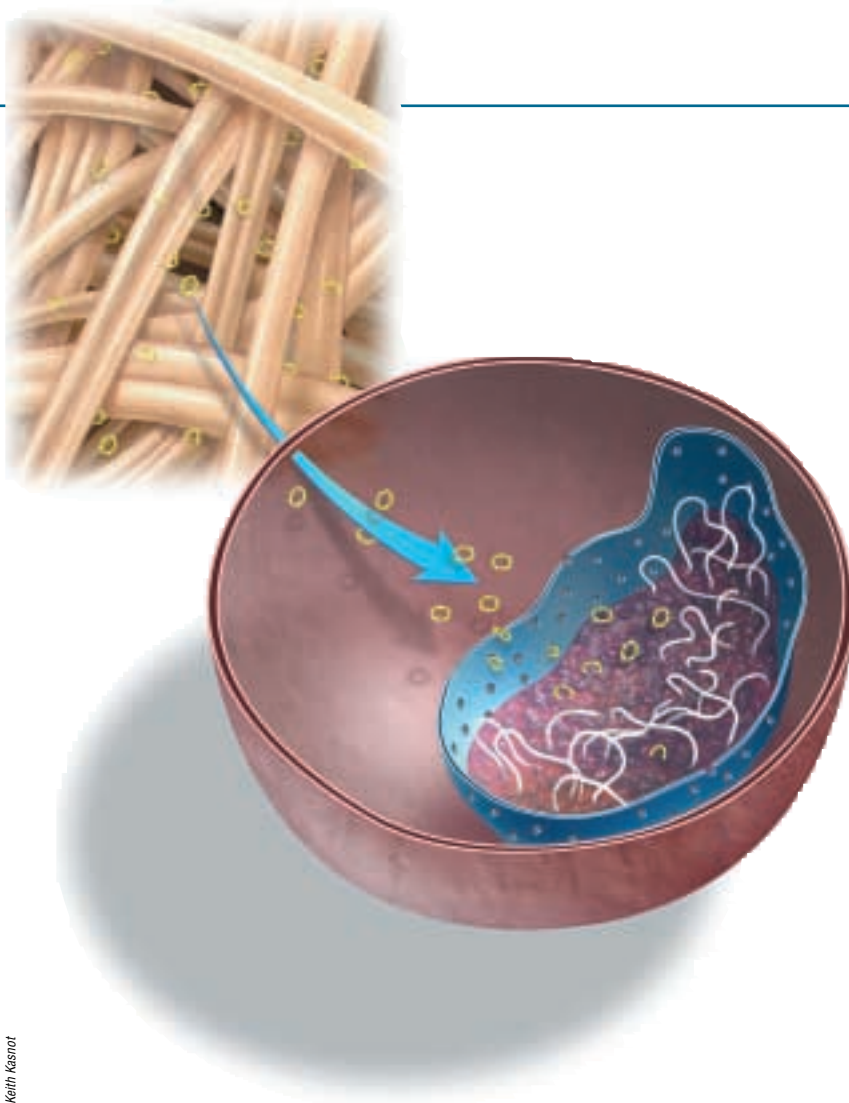
Les succès obtenus lors de tests avec des animaux font penser que l'on parviendra même à réaliser des néo-organes de grande taille, composés d'un ou de plusieurs types de cellules. L'un de nous (A. Mikos) a récemment fait croître du tissu osseux sur des polymères biodégradables en transplantant des cellules prélevées dans la moelle osseuse. De

plus, les cellules transplantées constituent un nouveau mode d'administration de facteurs de croissance, car elles en produisent localement.

Recettes à venir

Plus les néo-organes sont gros, plus leur réalisation est difficile. Nous l'avons vu, les tissus volumineux doivent être bien irrigués. On peut naturellement placer des cellules nécessaires et des composés qui stimulent l'angiogenèse dans les matrices de polymère, mais on peut aussi créer, avant la transplantation, un réseau de vaisseaux sanguins dans les néo-organes ; à cette fin, on incorpore dans la matrice des cellules initiateurs de vaisseaux sanguins qui se connecteront aux vaisseaux environnants.

Les essais ont confirmé que des vaisseaux sanguins «préfabriqués» se connectent effectivement. Ces nouveaux vaisseaux proviennent d'un mélange de cellules implantées et de cellules hôtes. Toutefois, cette technique est inefficace lorsque le nouveau tissu est transplanté sur un site où les vaisseaux sanguins ont été endommagés



Keith Kasrot

6. DES PLASMIDES, c'est-à-dire des boucles d'ADN (en jaune), sont libérés par une matrice de polymère ; ils s'intègrent à une cellule de l'organisme qui synthétisera les protéines codées par l'ADN. Ce procédé est plus durable, car les protéines sont dégradées plus rapidement que les plasmides.

par un traumatisme ou par une thérapie anticancéreuse. On doit alors cultiver le tissu en un autre endroit de l'organisme avant qu'il soit implanté où il est nécessaire. Par exemple, un os maxillaire peut croître en liaison avec un os de la hanche bien vascularisé chez un patient atteint d'un cancer buccal, qui, à la suite d'une radiothérapie, souffre d'un défaut de vascularisation de la mâchoire.

Par ailleurs, nous tentons d'améliorer les propriétés des polymères biodégradables qui détermineront exactement la taille et la forme du tissu construit, contrôleront avec précision la fonction des cellules à son contact et se dégraderont à une vitesse en synergie avec celle de la formation du tissu.

Le graal de notre discipline reste l'organe complet. Comment obtenir un foie fonctionnel, par exemple, assurant toutes ses réactions chimiques

essentielles pour la vie? Plus de 10 000 personnes mourant chaque année, en France, d'une insuffisance hépatique, l'étude des néo-foies est amplement justifiée. Les bio-ingénieurs ont d'abord étudié la capacité de régénération partielle du foie, bien connue de Prométhée.

Des médecins ont vérifié que l'on obtient du tissu hépatique quand on greffe des cellules hépatiques à des animaux. De notre côté, nous avons mis au point des biomatériaux adaptés à la croissance des tissus de type hépatique et nous avons identifié des composés qui favorisent la croissance des cellules hépatiques transplantées. Les tissus hépatiques régénérés assurent certaines fonctions chimiques du foie, mais jamais la fonction de l'organe entier.

De même, grâce à des cellules rénales, David Humes, de l'Université du Michigan et A. Atala ont fabriqué

des néo-organes capables de filtrer le sang, tandis que l'équipe de J. Vacanti a montré que l'on peut développer de l'intestin dans la cavité abdominale d'un animal, puis le raccorder au tissu intestinal préexistant. Ces néo-intestins soulagent les patients atteints d'un raccourcissement de l'intestin, conséquence d'un défaut congénital ou d'un traumatisme, et qui perturbe le développement des enfants. Aujourd'hui, le seul remède est la greffe d'intestin, mais la pénurie d'organes limite les possibilités thérapeutiques. A. Atala a également montré que l'on peut former de cette manière une vessie complète et l'utiliser pour remplacer la vessie d'origine.

Le cœur, enfin, est activement étudié. Michael Sefton et ses collègues de l'Université de Toronto espèrent faire croître des cœurs : 10 à 20 ans leur seront probablement nécessaires pour réussir, mais ils obtiendront certainement avant des tissus, tels les valves cardiaques et les vaisseaux sanguins.

Comment prévoir les progrès de ces études? L'exercice est difficile, mais la consultation des spécialistes donne des ordres de grandeur raisonnables. Il faudra probablement cinq ans pour obtenir des peaux reconstruites entièrement fonctionnelles. En revanche, nous ne croyons pas que cinq ans suffisent pour mettre au point des foies entiers prêts à être implantés ; comptons plutôt 30 ans.

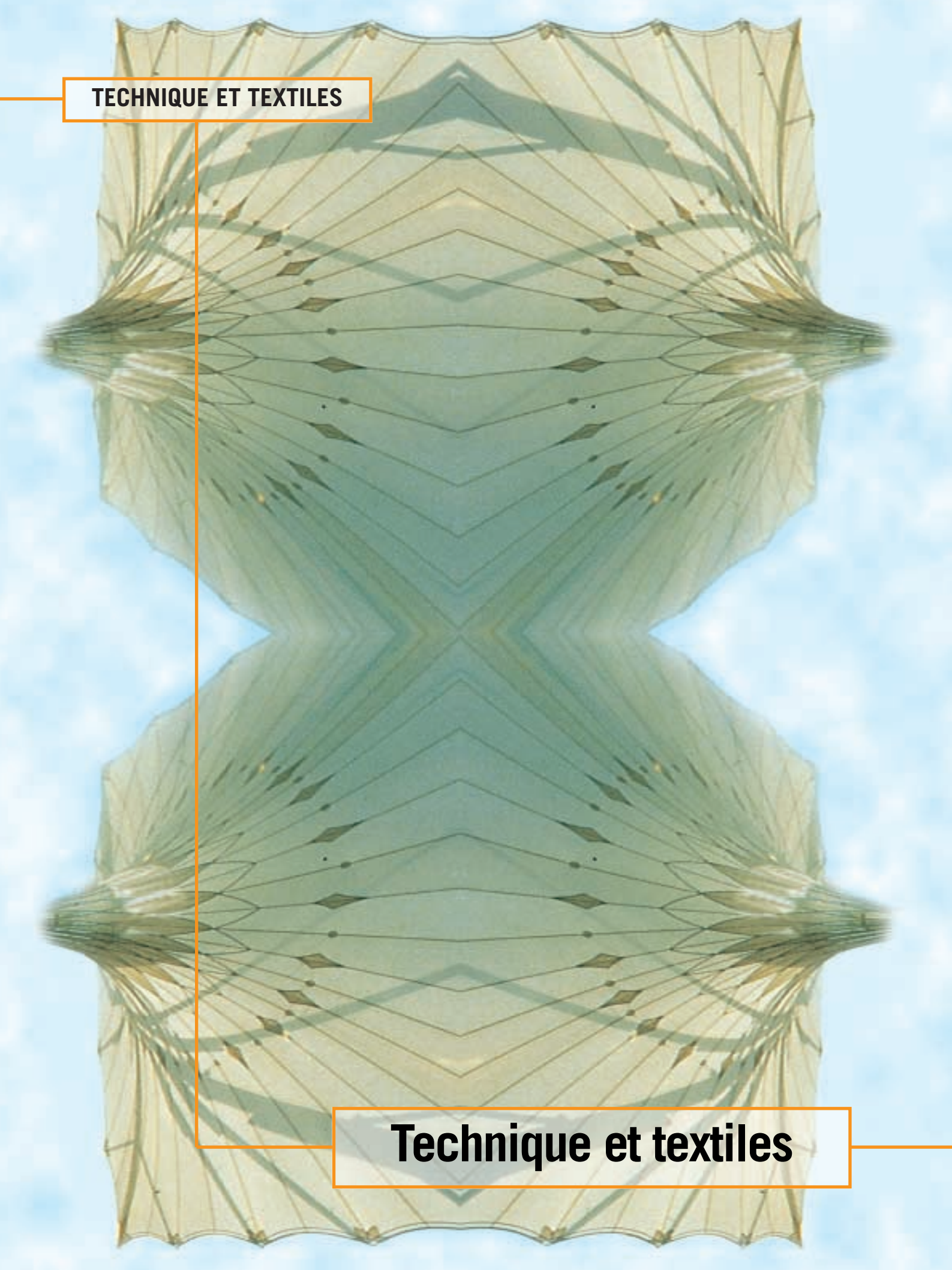
Il y a 10 000 ans, l'agriculture a donné à l'humanité les moyens de se nourrir, même lors des années de pénurie. L'ingénierie des tissus nous affranchira peut-être des limites de notre propre corps.

David MOONEY est professeur de biologie à l'Université du Michigan. Antonios MIKOS est professeur de bio-ingénierie à l'Université Rice.

Carol EZZELL, *Tissue Engineering and the Human Body Shop : Designing «Bio-artificial Organs»*, in *Journal of NIH Research*, vol. 7, n° 7, pp. 49-53, juillet 1995.

Principles of Tissue Engineering, sous la direction de R.P. Lanza, R. Langer et W.L. Chick, R.G. Landes, 1997.

Frontiers in Tissue Engineering, sous la direction de Charles W. Patrick, Jr., Antonios G. Mikos et Larry V. McIntire, Pergamon Press, 1998.



TECHNIQUE ET TEXTILES

Technique et textiles