

nine. Toutefois, ces interventions non génétiques sont peu efficaces.

Comment remédier à la cause initiale de telles maladies? L'inefficacité des autres thérapeutiques, une meilleure compréhension du fonctionnement des gènes et la découverte des gènes responsables d'un grand nombre de maladies héréditaires ont mis les médecins sur la voie de remèdes définitifs, au début des années 1970. Puis on a découvert que même des maladies acquises avaient une composante génétique, qu'il est théoriquement possible de corriger. Ainsi des traitements sont expérimentés contre des maladies héréditaires, telles la mucoviscidose (maladie des poumons), la myopathie, la déficience en adénosine désaminase (qui altère gravement le système immunitaire), l'hypercholestérolémie familiale (qui conduit à l'apparition précoce d'une artériosclérose grave) et, surtout, contre des cancers. Dans la plupart des cas, ces derniers ne sont pas héréditaires, mais résultent d'une accumulation d'altéra-

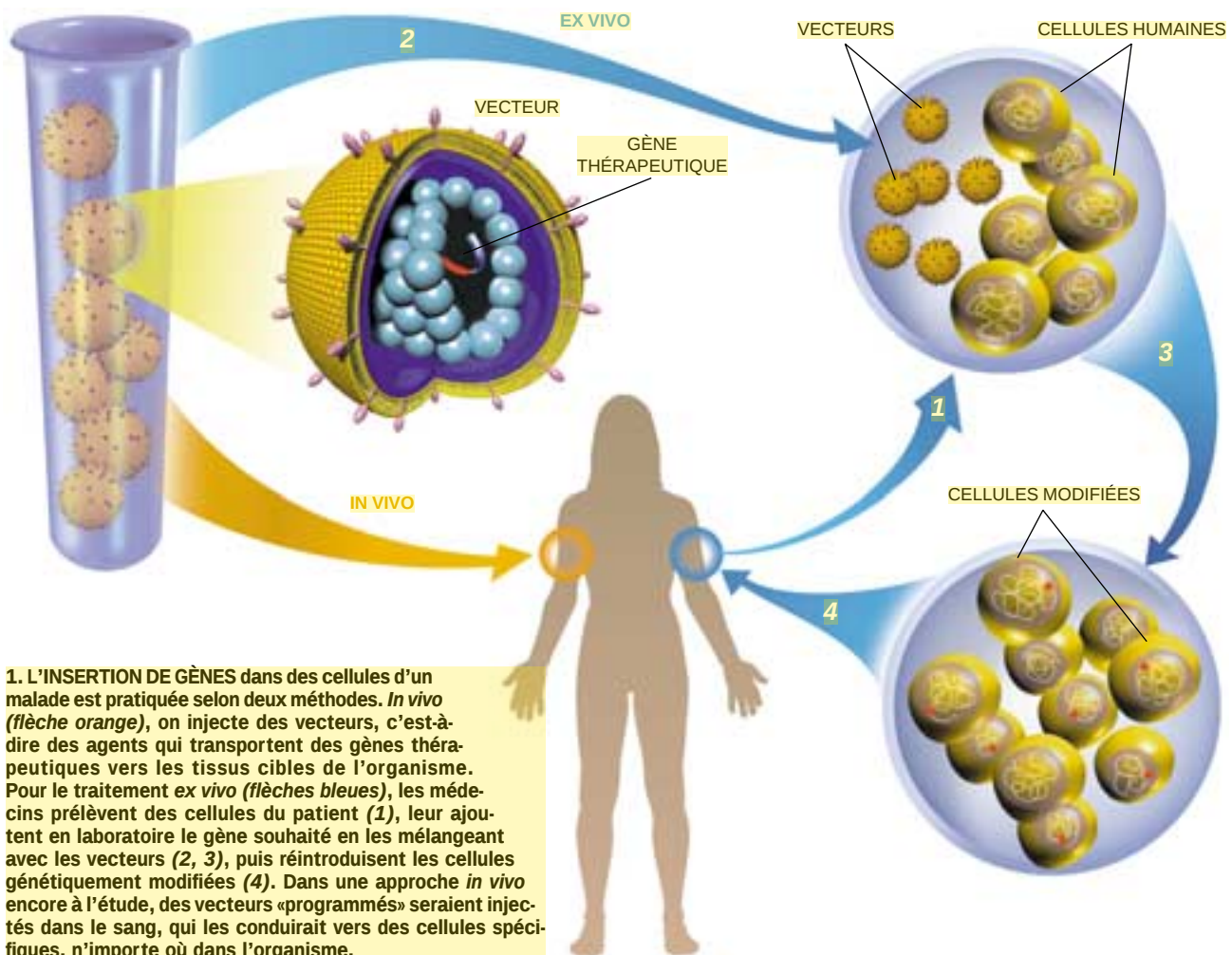
tions génétiques se produisant après la naissance. Un certain nombre d'essais concernent aussi le SIDA, causé par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH).

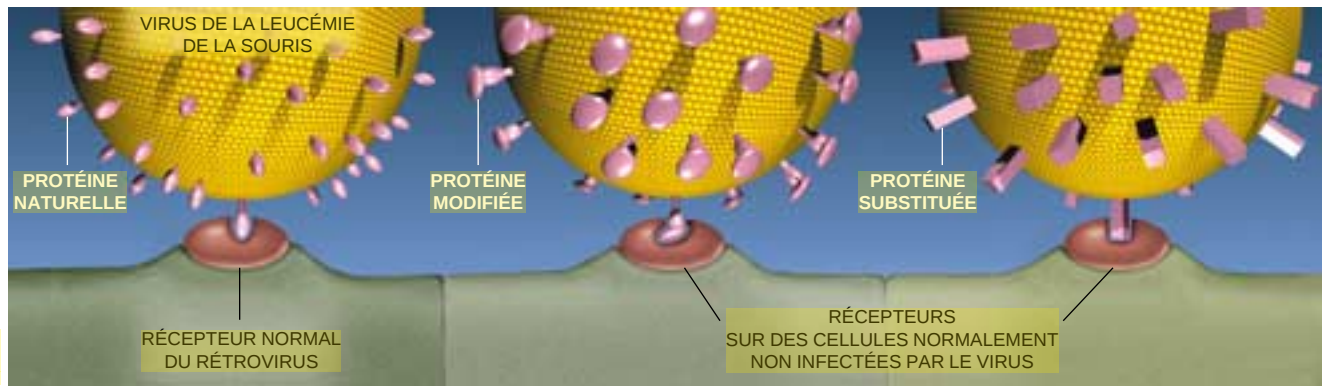
En principe, on peut remplacer physiquement un gène défectueux d'un chromosome par un gène normal. En pratique, une insertion aussi précise n'est pas encore réalisable chez l'homme... mais elle n'est pas non plus indispensable : dans la plupart des traitements par thérapie génique, on ajoute seulement un gène utile dans un certain type de cellules, afin de pallier l'inefficacité du gène présent ou d'introduire une propriété nouvelle. Bien des thérapies géniques anticancéreuses étudiées aujourd'hui suivent ce principe : elles visent à faire fabriquer, par les cellules cancéreuses, des substances qui les tueront directement, déclencheront une réaction immunitaire ou bloqueront l'irrigation sanguine des tumeurs, les empêchant ainsi de croître.

D'autre part, quelques équipes tentent d'empêcher la synthèse ou l'action de protéines nuisibles, produites par un gène défectueux. Une première approche est celle des ADN antisens : à l'aide de courtes séquences d'ADN synthétique, on empêche les segments d'ARN messager de gènes mutants de synthétiser des protéines. Des procédés voisins utilisent de petites molécules d'ARN, nommées ribozymes, pour dégrader l'ARN messager provenant de gènes anormaux. Enfin, on tente d'utiliser des hybrides d'ADN et d'ARN afin de réparer des gènes mutants. Une autre méthode consiste à insérer le gène d'une protéine nommée anticorps intracellulaire, qui bloque l'activité de la protéine mutante.

Des cellules modifiées

On utilise aujourd'hui deux méthodes d'introduction des gènes chez des malades. Dans les deux cas, les gènes sont d'abord introduits dans des





2. POUR ENTRER DANS UNE CELLULE, un virus doit s'associer à des molécules de surface particulières, ou récepteurs. Le virus de la leucémie de la souris se lie normalement, par l'intermédiaire d'une protéine de son enveloppe, à un récepteur présent chez de nombreux types de cellules (à gauche). En modifiant cette protéine

pour y inclure de nouveaux éléments (au centre) ou en la remplaçant par d'autres protéines (à droite), on dirige le virus vers des cellules qu'il n'infecte normalement pas. Des manipulations semblables permettent à d'autres vecteurs de cibler d'autres types de cellules spécifiques.

vecteurs, qui acheminent les gènes jusque dans les cellules. Dans la méthode *ex vivo*, la plus employée, des cellules sont extraites du tissu à traiter et mises en présence de vecteurs de transfert de gènes ; puis les cellules génétiquement corrigées sont réintroduites chez le patient. Dans le procédé *in vivo*, les vecteurs sont introduits directement dans l'organisme, en général dans le tissu à traiter. Idéalement, on préférerait introduire les vecteurs dans le sang ou dans d'autres sites, d'où ils se dirigeraient d'eux-mêmes vers les cellules ciblées, notamment vers des organes difficiles à atteindre ou vers des zones cancéreuses cachées. Des vecteurs capables de s'orienter ainsi dans le corps humain n'existent pas encore, mais les travaux avancent rapidement.

Dans l'organisme, certains gènes n'ont un effet bénéfique que si leur expression est rigoureusement régulée : ils doivent produire, aux bons moments, l'exacte quantité de protéines nécessaire. Les biologistes ne maîtrisent pas encore à ce point l'expression des gènes étrangers introduits dans l'organisme, mais cela n'est pas gênant pour de nombreuses applications de la thérapie génique. D'autre part, on peut souvent se contenter d'introduire les gènes dans d'autres cellules que les cellules malades. Certaines cellules plus accessibles, telles celles des muscles ou de la peau, sont en effet quelquefois utilisables comme usines à protéines : elles fabriquent les molécules nécessaires, et les transmettent à des cellules voisines ou les libèrent dans le sang, qui les achemine alors vers des organes éloignés.

Quel type de vecteur peut transporter et distribuer les gènes efficacement et sans danger ? L'idée d'utiliser des virus remonte aux origines de la thérapie génique. Les virus sont à peine plus que des gènes capables de se répliquer, entourés d'une enveloppe protéique. L'évolution les a progressivement rendus capables d'entrer dans des cellules et d'y exprimer leurs gènes. Les biologistes savent substituer un ou plusieurs gènes à potentialités thérapeutiques à des gènes de réplication virale ou de virulence. Théoriquement, un virus que l'on a ainsi modifié pour le rendre inoffensif transférerait des gènes bénéfiques dans des cellules sans se reproduire ni provoquer de maladie.

Les virus les plus étudiés sont les rétrovirus, qui insèrent des copies de leurs gènes dans les chromosomes des cellules qu'ils envahissent. Les gènes ainsi intégrés sont ensuite copiés et transmis à toute la descendance de ces cellules. Beaucoup d'autres types de virus n'intègrent pas leur matériel génétique dans les chromosomes des cellules qu'ils infectent. En général, leurs gènes ne sont que temporairement actifs dans l'organisme, notamment parce que ces gènes ne se répliquent pas lorsque les cellules infectées se divisent.

Les cellules souches sont des cibles idéales pour les vecteurs rétroviraux, car ces cellules souches vivent indéfiniment et engendrent des cellules plus spécialisées. Les cellules souches du sang, par exemple, donnent naissance aux différents types de cellules sanguines (globules rouges, globules blancs du système immunitaire...) et peuvent reconstituer le sang ; en outre, elles se reproduisent à l'identique. Aujourd'hui,

toutefois, on identifie difficilement les cellules souches humaines et l'on ne sait pas encore les modifier de façon à la fois prévisible et sûre.

Des rétrovirus modifiés

Les rétrovirus, testés comme vecteurs depuis le début des années 1980, ont de nombreux inconvénients. Tout d'abord, ils sont peu sélectifs : ils déposent leurs gènes dans les chromosomes de cellules variées. De ce fait, l'incorporation de gènes étrangers dans des cellules auxquelles ils n'étaient pas destinés réduit l'impact sur les cellules visées et risque de produire des effets physiologiques indésirables. Toutefois, les rétrovirus ou les autres virus n'apportent leur matériel génétique dans une cellule que si les protéines fixées à leur surface rencontrent des éléments correspondants, ou récepteurs, sur cette cellule. La liaison des protéines virales et des récepteurs cellulaires provoque la fusion de l'enveloppe du rétrovirus avec la membrane cellulaire, et la libération des protéines et des gènes viraux à l'intérieur de la cellule. On tente donc d'accroître la sélectivité des rétrovirus envers les cellules qu'ils envahissent par le remplacement ou la modification des protéines de leur surface, ou par l'ajout à celle-ci de nouvelles protéines ou parties de protéines.

Ainsi, mon collègue Jiing-Kuan Yee a modifié le virus de la leucémie de la souris, remplaçant la protéine de surface par celle du virus de la stomatite vésiculaire humaine (une infection de la bouche). Le virus de la souris, apparemment inoffensif pour l'homme, est le rétrovirus le plus étudié comme vec-

teur de thérapie génique. Ainsi modifié, il a pénétré dans des cellules qui portaient des récepteurs du virus de la stomatite vésiculaire humaine et n'a pas infecté des cellules qui portaient des récepteurs du virus de la leucémie. Yuet Wai Kan et ses collègues de l'Université de San Francisco ont récemment lié une hormone aux protéines de l'enveloppe du même virus de la leucémie, permettant ainsi à celui-ci d'infecter spécifiquement des cellules humaines porteuses du récepteur de l'hormone.

Les rétrovirus ont un autre défaut : ils ne propagent leurs gènes que lors des divisions cellulaires, lorsque la membrane entourant le noyau de la cellule infectée disparaît. Ils ne peuvent donc pas modifier les cellules

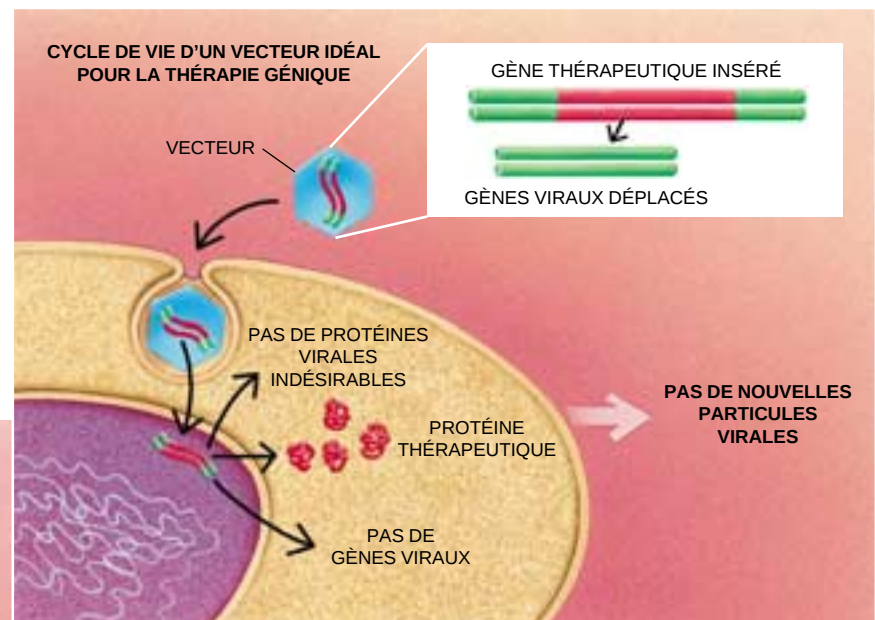
qui ne se divisent pas, ou qui ne le font que rarement (tels les neurones à l'état mature et les cellules des muscles).

Afin de pallier cette difficulté, Inder Verma, Didier Trono et leurs collègues de l'Institut Salk ont utilisé le VIH, qui introduit ses gènes dans le noyau des neurones, sans attendre que l'enveloppe nucléaire disparaisse au cours d'une division cellulaire. Les biologistes ont extrait les gènes qui permettraient au VIH de se reproduire et leur ont substitué un gène qui code une protéine facile à détecter. Le gène marqué a été introduit dans des neurones, qui ne se divisent pas, d'abord par simple mélange du vecteur viral et de cellules en culture, puis par injection directe du vecteur dans le cerveau de rats. Le VIH

pourra être utilisé comme vecteur chez l'homme quand nous serons certains qu'ainsi désactivé il ne redeviendra pas pathogène, mais on pourrait aussi transférer dans des rétrovirus inoffensifs pour l'homme certains des gènes du VIH, tels ceux qui codent les protéines transportant les gènes jusqu'au noyau.

Enfin, on cherche à éviter que les rétrovirus n'insèrent les gènes au hasard dans les chromosomes de l'hôte : selon le lieu d'insertion, d'autres gènes peuvent être cassés ou modifiés. Le risque de cancer dû à ces ruptures, bien que faible, existe. L'étude de l'intégration des gènes étrangers dans des levures, par exemple, semble indiquer progressivement des moyens de mieux guider cette intégration.

3. UN VIRUS NATUREL (*en bas*) libère ses gènes dans la cellule qu'il infecte. Que les gènes soient ou non intégrés à l'ADN cellulaire, ils déclenchent la synthèse de nouvelles particules virales, qui peuvent endommager la cellule et en infecter d'autres. Pour transformer un virus naturel en un inoffensif vecteur de thérapie génique, les biologistes remplacent des gènes viraux par des gènes qui codent des protéines thérapeutiques (*en haut*) et ne gardent que les éléments viraux indispensables à l'expression des gènes. Ces vecteurs pénètrent dans les cellules et permettent la synthèse de protéines thérapeutiques, mais ne se reproduisent pas.



Tomo Narashima

CYCLE DE VIE D'UN VIRUS NATUREL

