

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

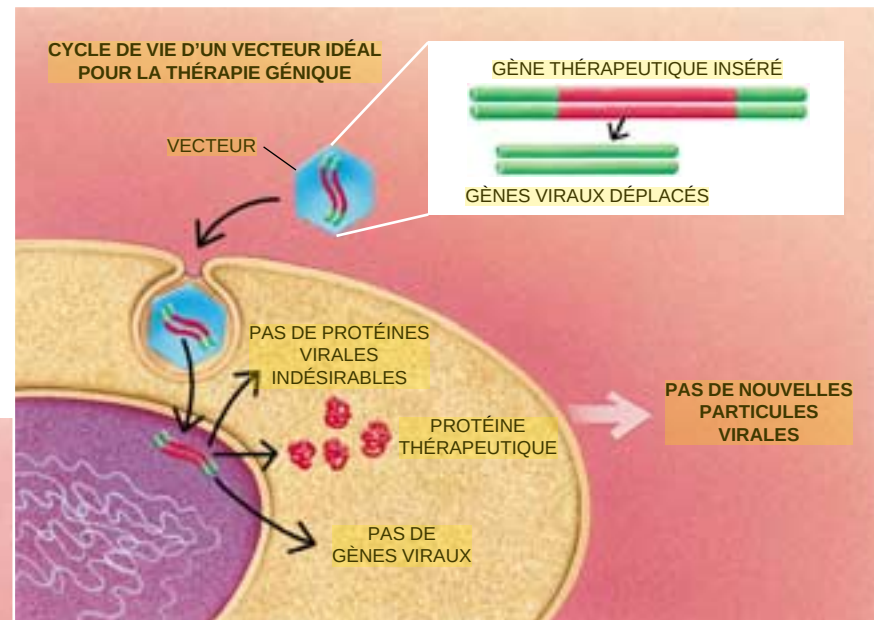
qui ne se divisent pas, ou qui ne le font que rarement (tels les neurones à l'état mature et les cellules des muscles).

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

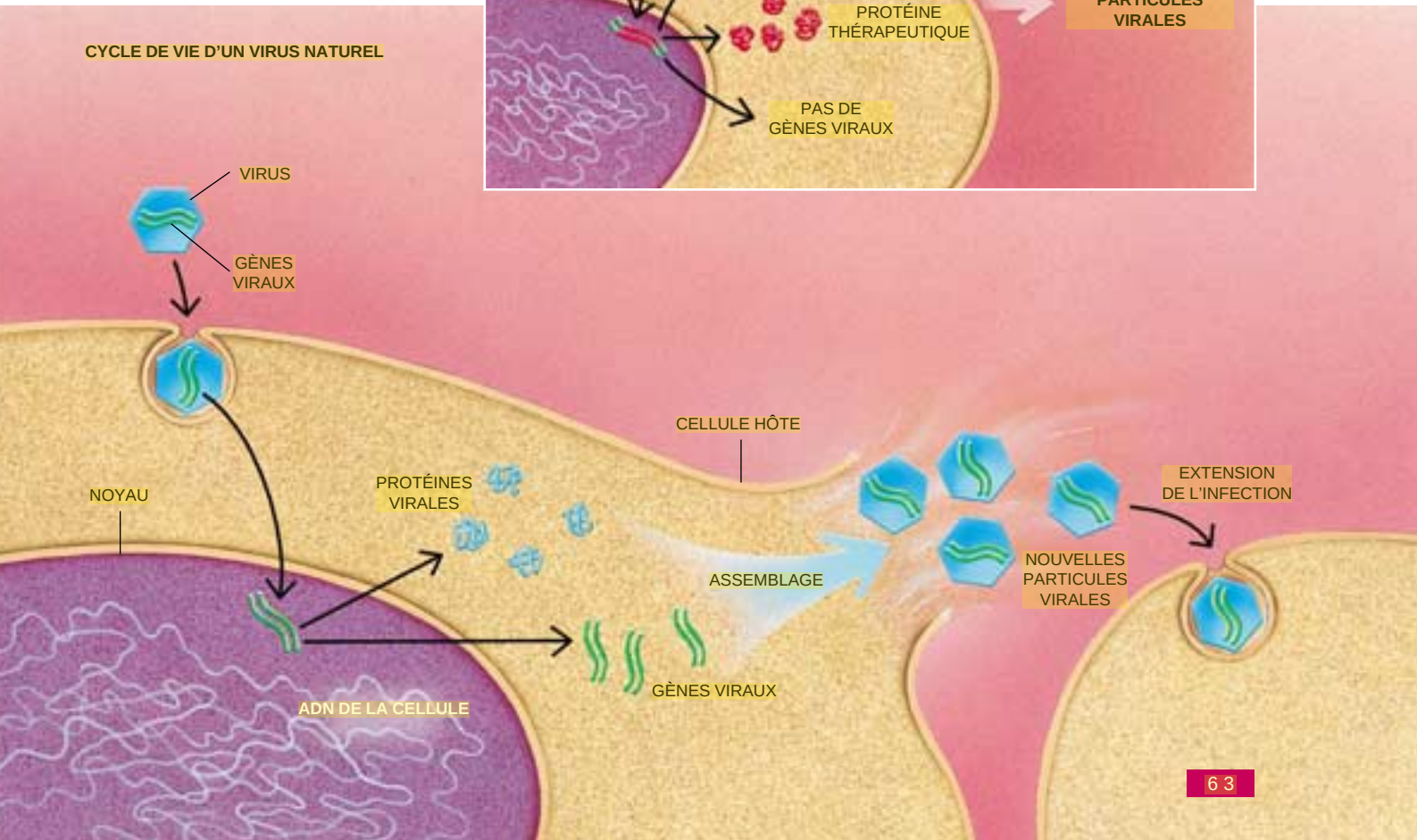
pourra être utilisé comme vecteur chez l'homme quand nous serons certains qu'ainsi désactivé il ne redeviendra pas pathogène, mais on pourrait aussi transférer dans des rétrovirus inoffensifs pour l'homme certains des gènes du VIH, tels ceux qui codent les protéines transportant les gènes jusqu'au noyau.

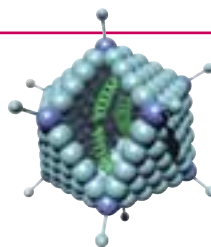
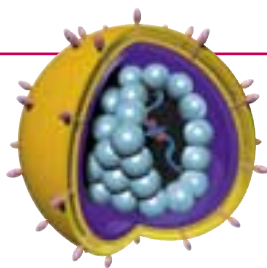
Enfin, on cherche à éviter que les rétrovirus n'insèrent les gènes au hasard dans les chromosomes de l'hôte : selon le lieu d'insertion, d'autres gènes peuvent être cassés ou modifiés. Le risque de cancer dû à ces ruptures, bien que faible, existe. L'étude de l'intégration des gènes étrangers dans des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





	Rétrovirus	Adénovirus	Virus associés aux adénovirus	Liposomes	ADN nu
Avantages potentiels	Intègrent les gènes dans les chromosomes hôtes avec une stabilité à long terme.	La plupart ne provoquent pas de maladies graves ; grande capacité pour les gènes étrangers.	Intègrent les gènes dans les chromosomes hôtes ; n'entraînent pas de maladie connue.	Dépourvus de gènes viraux, ils ne provoquent pas de maladie.	Avantages identiques à ceux des liposomes ; sans doute utile pour la vaccination.
Inconvénients actuels	Intégration aléatoire des gènes : risquent d'endommager des gènes hôtes. Beaucoup d'entre eux n'infectent que des cellules en cours de division.	Les gènes peuvent n'être actifs que transitoirement, soit par défaut d'intégration, soit par réaction du système immunitaire.	Faible capacité pour les gènes étrangers.	Moins efficaces que les virus pour transférer les gènes aux cellules.	Inefficace pour le transfert de gènes ; instable dans la plupart des tissus de l'organisme.

Slim Films

4. LES VECTEURS VIRAUX et non viraux à l'étude ont chacun des avantages et des inconvénients, qui les rendent plus ou moins adaptés au traitement de différentes maladies.

Du rhume à la thérapie génique

D'autres virus que les rétrovirus ont d'autres avantages, et aussi d'autres inconvénients. Les plus fréquemment utilisés, après les rétrovirus, sont les adénovirus humains, car ils sont parfaitement inoffensifs : chez des personnes en bonne santé, ils n'entraînent normalement que des rhumes. De plus, ils infectent facilement les cellules humaines et conduisent à la synthèse de quantités importantes de la protéine thérapeutique, pendant quelque temps après l'infection.

Les adénovirus transportent les gènes jusqu'au noyau, mais, apparemment, ne les insèrent pas dans des chromosomes : on évite ainsi le risque de dégradation de gènes cellulaires essentiels et de cancer. Souvent, toutefois, ces gènes n'ont qu'une activité temporaire. Comme l'ADN finit par disparaître, les traitements de maladies chroniques, telle la mucoviscidose, doivent être renouvelés mensuellement ou annuellement. Cet inconvénient devient parfois un avantage : pour déclencher temporairement une réaction immunitaire contre un cancer ou un agent pathogène, une brève activité du gène étranger est préférable.

Les adénovirus ont le même manque de sélectivité que les rétrovirus ; les mêmes types de solutions

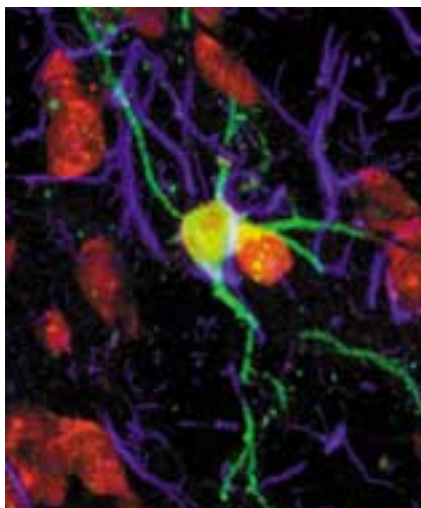
sont actuellement testés. Aujourd'hui, l'obstacle le plus sérieux à l'utilisation des adénovirus comme vecteurs chez des malades est la réaction immunitaire énergique qu'ils provoquent. Au cours d'un premier traitement, ces vecteurs atteignent les cellules souhaitées et déclenchent la fabrication de grandes quantités des protéines désirées. Cependant les défenses de l'hôte tuent rapidement les cellules modifiées et inactivent leurs nouveaux gènes. Si les virus sont administrés une seconde fois, le système immunitaire les élimine encore plus rapidement. Ces réactions sont probablement responsables de la disparition de l'expression des gènes, observée dans de nombreuses études cliniques de transfert de gènes par des adénovirus. On cherche aujourd'hui à réduire la réaction immunitaire en enlevant ou en modifiant les gènes viraux qui en étaient les principaux responsables.

D'autres virus pourraient servir de vecteurs : les virus associés aux adénovirus, les herpesvirus, les alphavirus et les poxvirus. Aucun n'est idéal, mais chacun aurait des applications spécifiques. Les virus associés aux adénovirus sont inoffensifs pour l'homme, et ils intègrent naturellement leurs gènes dans les chromosomes humains : ils pourraient remplacer les rétrovirus, avec la réserve que, plus petits, ils ne pour-

raient introduire des gènes de grande taille. Les herpesvirus n'intègrent pas leurs gènes dans l'ADN de leurs hôtes, mais ils sont attirés vers les neurones, dont certains les maintiennent dans un état à peu près inoffensif pendant la durée de vie de la personne atteinte : ils seraient de bons vecteurs pour traiter des maladies neurologiques.

Les virus ne sont pas les seuls vecteurs potentiels. On fabrique des agents synthétiques en combinant de l'ADN avec des molécules qui le condensent, le transportent vers les cellules et, à l'intérieur de celles-ci, le protègent des dégradations. Comme celle des virus, leur utilisation thérapeutique requiert encore des perfectionnements. Les gènes transportés par des vecteurs non viraux s'intègrent bien aux chromosomes des cellules hôtes en laboratoire, mais mal dans l'organisme. Comme nous l'avons déjà vu, ce défaut d'intégration peut être un avantage ou un inconvénient, selon l'objectif de chaque thérapie.

Les liposomes, de petites sphères composées de molécules de graisses analogues à celles des parois cellulaires (des lipides) sont étudiés depuis presque aussi longtemps que les rétrovirus. On sait y loger un plasmide, boucle stable d'ADN provenant de virus des bactéries nommés bactériophages, dont les gènes d'origine ont été remplacés par ceux dont on attend un effet



5. CE NEURONE HUMAIN a absorbé un vecteur viral construit à partir du virus du SIDA : on a éliminé les éléments les plus dangereux et ajouté un gène qui code une protéine repérable (en jaune). Des formes inactivées d'un rétrovirus tel que le VIH pourraient introduire des gènes thérapeutiques dans des neurones, dont l'incapacité à se diviser les rend résistants aux autres rétrovirus.

thérapeutique. Le transfert de gènes par des liposomes est bien moins efficace que celui effectué par les virus, mais sa mise au point est suffisamment avancée pour que ces vecteurs abordent la phase des essais cliniques contre certaines affections, tels le cancer et la mucoviscidose. Des modifications de la composition chimique des liposomes améliorent leur sélectivité et leur efficacité dans le transfert de gènes.

L'ADN peut aussi être transporté par des agrégats de molécules variées, tels les peptides (des enchaînements de quelques acides aminés), qui se lient à des cellules cibles et bloquent sa dégradation par les enzymes cellulaires. Ces «complexes» donnent de bons résultats *in vitro* ; on les modifie afin de les tester sur des animaux et chez des patients.

L'injection d'ADN nu donne également d'intéressantes possibilités d'immunisation contre les maladies infectieuses, voire contre certaines formes de cancers. Et d'autres formes d'ADN que les plasmides sont également à l'étude : les biologistes essaient notamment de construire des chromosomes miniatures, où ils inséreraient des gènes thérapeutiques. Ces assemblages contiendront juste la quantité de matériel génétique nécessaire pour éviter sa dégradation dans le noyau et sa disparition au cours de la division cellulaire. Ils contiendront aussi

des éléments leur permettant de se répliquer fidèlement (et une seule fois) à chaque division cellulaire, comme un vrai chromosome.

Lorsqu'ils seront au point, les différents types de vecteurs seront utilisés pour des traitements différents. Si une personne porteuse d'une anomalie génétique a besoin de recevoir pendant toute sa vie le produit du gène normal, on préférera un vecteur qui insérera de façon permanente le gène thérapeutique dans ses chromosomes : un rétrovirus ou un virus associé aux adénovirus. Pour une activité à court terme, par exemple pour provoquer une réaction immunitaire contre des cellules cancéreuses ou contre un agent infectieux, on emploiera des vecteurs qui n'insèrent pas leurs chromosomes, tels des adénovirus, des liposomes ou de l'ADN nu. Les vecteurs que nous utiliserons demain ne ressembleront toutefois que de loin aux prototypes que nous testons aujourd'hui.

La mise au point de vecteurs n'est pas la seule réalisation nécessaire à la thérapie génique. Les biologistes devront éviter l'inactivation des gènes étrangers par les cellules où ils sont introduits, et limiter la réaction immunitaire contre des protéines apparemment étrangères. Pour empêcher toute réaction immunitaire inactivante, les médecins pourraient administrer des substances antirejet à certains malades ou obtenir une tolérance immunitaire à l'égard de la protéine en entreprenant une thérapie génique très tôt dans la vie du malade, avant que le système immunitaire ne soit devenu opérationnel.

Theodore FRIEDMANN dirige le programme de thérapie génique et est professeur de pédiatrie et d'éthique biomédicale à l'Université de San Diego.

I. VERMA, *La thérapie génique, Pour la Science*, janvier 1991.

M. PERRICAUDET, L. SCHAFFAR et T. TURZ, *La thérapie génique par adénovirus, Pour la Science*, octobre 1994.

M.K. BRENNER, *Human Somatic Gene Therapy : Progress and Problems*, in *Journal of Internal Medicine*, vol. 237, n° 3, pp. 229-239, mars 1995.

Recombinant DNA Research, Agency : National Institutes of Health, *Federal Register*, vol. 61, n° 131, pp. 35774-35777, lundi 8 juillet 1996.
