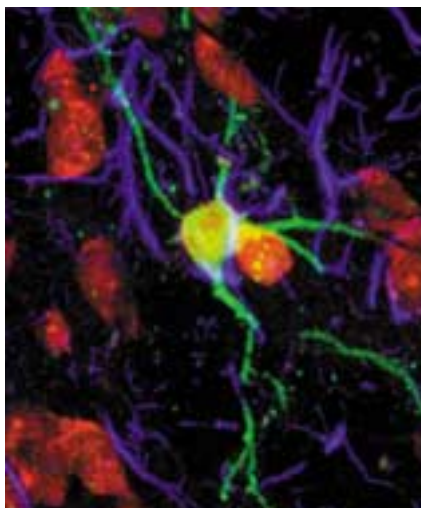




5. CE NEURONE HUMAIN a absorbé un vecteur viral construit à partir du virus du SIDA : on a éliminé les éléments les plus dangereux et ajouté un gène qui code une protéine repérable (en jaune). Des formes inactivées d'un rétrovirus tel que le VIH pourraient introduire des gènes thérapeutiques dans des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

La thérapie génique sans virus

PHILIP FELGNER

On cherche à éviter l'usage de virus pour introduire de l'ADN chez des malades. Les études débouchent sur la mise au point de vaccins.

De nombreuses équipes qui étudient la thérapie génique emploient des virus modifiés pour acheminer, dans les cellules humaines, des gènes qui codent des protéines potentiellement thérapeutiques. Ainsi les cellules peuvent exprimer les gènes introduits, c'est-à-dire fabriquer les protéines codées par les gènes.

Les virus sont de bons vecteurs de gènes, car l'évolution leur a progressivement permis de s'introduire dans certains types de cellules. Néanmoins, les virus ne sont pas des vecteurs idéaux pour la thérapie génique : certains virus endommagent les cellules qu'ils infectent, en perturbant leur ADN, ou risquent de retrouver leur activité pathogène lors de leur séjour dans l'organisme ; ils risquent en outre de provoquer des réactions immunitaires qui détruisent ou qui tuent les cellules infectées avant que le gène thérapeutique n'ait amélioré l'état des malades.

Pourrait-on apporter les gènes thérapeutiques aux cellules sans utiliser d'agents infectieux ? Quelques équipes européennes ou américaines testent des complexes constitués d'ADN et de lipides qui ne déclenchent pas de réaction immunitaire. De surcroît, on a observé que des injections expérimentales d'ADN «nu», chez l'animal et chez l'homme, déclenchent l'expression des protéines codées par l'ADN injecté. Cette observation intéresse beaucoup ceux qui explorent de nouveaux vaccins.

Les biologistes cherchent depuis longtemps à modifier des cellules en y introduisant de l'ADN. Dès les années 1950, des biologistes avaient montré que des cellules pouvaient absorber des acides nucléiques (ADN ou ARN) d'ori-

gine virale et les exprimer sous forme de protéines. Comment améliorer l'efficacité de la modification génétique des cellules ? Vers les années 1960, on découvrit que l'obstacle principal à cette insertion d'ADN était électrique : dans un milieu aqueux, tel le fluide extracellulaire de l'organisme, les molécules d'ADN sont négativement chargées, de sorte qu'elles sont repoussées par les membranes cellulaires, de même charge électrique. Pour faciliter l'absorption de l'ADN par les cellules, les biologistes ont alors cherché à associer l'ADN à des composés qui le rendent électriquement neutre : un polymère organique chargé positivement, le DEAE-dextrane, et le phosphate de calcium.

Des cellules humaines en culture captaient l'ADN associé à ces composés et exprimaient les gènes introduits de façon permanente. Par exemple, certaines cellules incorporèrent le gène de la thymidine kinase, isolé du virus de l'herpès simplex, quand il fut complexé par le phosphate de calcium : elles produisirent ensuite, pendant longtemps, la protéine codée par le gène supplémentaire.

Puis, vers la fin des années 1970, des biologistes découvrirent des techniques pour prélever des gènes précis dans les cellules et les intégrer dans des plasmides, des boucles d'ADN qui se multiplient naturellement à l'intérieur des bactéries. Par des techniques de recombinaison de l'ADN, le génie génétique apprit à produire un grand nombre de copies de gènes spécifiques. Paul Berg et ses collègues de l'Université Stanford introduisirent alors des plasmides recombinés d'origine bactérienne dans des cellules de mammifères en culture.

L'expression des gènes intégrés à ces plasmides révéla qu'ils étaient parvenus jusqu'au noyau des cellules, car les gènes ne sont généralement pas exprimés sans l'intervention des protéines nucléaires. L'industrie pharmaceutique utilisa les méthodes de transformation non virale pour créer des lignées de cellules de mammifères avec lesquelles elle produit aujourd'hui des protéines thérapeutiques, tel le facteur VIII, administré aux hémophiles contre leurs troubles de la coagulation.

Les graisses et l'ADN

De nombreux biologistes pensaient que les techniques ainsi mises au point seraient inefficaces pour la thérapie génique. Cependant, P. Berg et Demetrios Papahadjopoulos, de l'Université de San Francisco, introduisirent des gènes dans des cellules en mettant celles-ci en présence de liposomes où de l'ADN était inclus (les liposomes sont de minuscules sphères creuses, pleines d'une solution aqueuse, limitées par une membrane lipidique) ; les gènes des plasmides arrivaient jusqu'au noyau, où la machinerie cellulaire les traduisait en protéines.

Depuis 1960 environ, on sait obtenir des liposomes en dispersant dans une solution aqueuse des lipides qui possèdent une extrémité hydrophile (soluble dans l'eau) et une extrémité hydrophobe (insoluble) : spontanément, ces molécules regroupent leurs parties hydrophobes, formant une double couche qui se referme en sphère. Comme les liposomes ont le même type de membrane que les cellules, ils fusionnent avec les cellules et libèrent dans