

de se soustraire au système intracellulaire d'élimination ; des protéines virales faciliteraient la progression des gènes viraux vers le noyau cellulaire.

Parallèlement, divers laboratoires poursuivent leurs travaux sur l'ADN nu. Vers la fin des années 1980, bien avant le début des essais cliniques avec les lipoplexes, plusieurs équipes ont fait une surprenante découverte. Avec Jon Wolff et Robert Malone, par exemple, nous cherchions des lipides pour transporter efficacement les gènes dans des cellules, et nous avons choisi de mesurer l'expression d'un gène précis, facile à pister, après son injection à l'aide de lipoplexes.

En analysant les résultats de notre première expérience sur des tissus de souris, nous remarquâmes que l'expression du gène dans des muscles était aussi bonne qu'*in vitro*, mais il apparut surtout que l'ADN nu, que nous avions utilisé comme contrôle, s'exprimait aussi bien, voire mieux, que l'ADN associé aux lipides.

L'ADN nu

Nous avons répété ces expériences plusieurs fois dans nos différents laboratoires et confirmé l'étonnante observation : de l'ADN nu, injecté dans le muscle d'un animal, s'exprime et fait synthétiser des quantités notables de la protéine codée (parfois plus de 100 nanogrammes par gramme de tissu musculaire).

Ainsi, malgré les répulsions électriques entre les parois cellulaires et l'ADN, certaines cellules absorbent la molécule. On ignore encore le mécanisme d'assimilation, mais on soupçonne que celle-ci s'effectue là où le tissu est endommagé ou bien parce que la pression augmente au site d'injection.

On a alors envisagé l'injection d'ADN nu dans les muscles de malades, afin de produire des protéines déficientes : de l'insuline pour traiter le diabète ou des protéines de la coagulation, tels les facteurs VIII ou IX, contre l'hémophilie. Cependant, les quantités de protéines produites dans les muscles étaient insuffisantes : après dilution dans les trois litres de sang, la concentration en protéine dans les organes malades était trop faible.

De nouveaux plasmides ont dernièrement donné des résultats encourageants : chez des souris nous avons stimulé la production des globules



3. UN LIPOPLEXE est assimilé par une cellule en culture. Les lipides positivement chargés du lipoplexe protègent l'ADN et lui font traverser la membrane cellulaire, évitant la répulsion électrique de l'ADN et de la membrane, qui portent tous deux une charge négative.



4. APRÈS UNE INJECTION DE PLASMIDES NUS, un muscle de souris fabrique la protéine codée par le plasmide. Dans l'expérience montrée ici, la protéine codée entraînait une coloration bleue.

rouges par des injections de plasmides nus codant l'érythropoïétine (cette hormone est utilisée pour favoriser la synthèse de nouveaux globules rouges chez des patients ayant subi une chimiothérapie ou une radiothérapie). Peut-être, dans le futur, des injections musculaires de plasmides recombinés pourront-elles remplacer l'administration de l'érythropoïétine elle-même.

À plus court terme, l'ADN nu semble être un composé de vaccin prometteur, car même des quantités infimes de protéines stimulent une réaction immunitaire protectrice. Les protéines engendrent deux sortes d'immunité. La première, l'immunité humorale, apparaît après l'élimination d'un agent pathogène par le système immunitaire. Les micro-organismes détruits sont capturés par des cellules spécialisées, qui présentent les protéines étrangères à des globules blancs nommés lymphocytes B. Ces derniers sécrètent alors des anticorps, qui se lient aux protéines étrangères détectées. Ultérieurement, dès que les anticorps rencontrent à nouveau le micro-organisme pathogène, il s'y associent rapidement, le neutralisant ou le marquant, de manière que d'autres éléments du système immunitaire le détruisent.

La seconde réaction, l'immunité cellulaire, intervient lorsque des virus

envahissent des cellules et leur font produire de nouvelles particules virales. Des fragments de protéines virales sont alors disséminés sur la surface des cellules infectées. Le système immunitaire réagit cette fois en produisant des lymphocytes T, qui reconnaissent ces fragments. Ces lymphocytes T ne produisent pas d'anticorps, mais détruisent directement les cellules qui portent les fragments étrangers. Lorsque l'organisme est à nouveau envahi par le même agent pathogène, les cellules infectées qui portent ces fragments sont immédiatement détruites.

Avec Dennis Carson, de l'Université de San Diego, nous avons considéré que les plasmides nus, puisqu'ils envahissent des cellules, devraient stimuler à la fois l'immunité cellulaire et l'immunité humorale. La première expérience montra que, quand on injectait à des souris un plasmide qui codait une protéine de l'enveloppe du virus de l'immunodéficience humaine (VIH), ces souris produisaient des anticorps qui se liaient à la protéine virale. En outre, les plasmides déclenchaient également une réaction immunitaire cellulaire : *in vitro*, les lymphocytes T de ces souris attaquaient des cellules qui présentaient des fragments des protéines virales.



Peter Yates, SGA

5. DES LIPOPLEXES à propriétés anticancéreuses sont administrés à une patiente atteinte d'un mélanome. Ils font produire une protéine que le système immunitaire reconnaît comme étrangère, ce qui permet l'élimination des cellules malades.

Vers des vaccins géniques

Les espoirs nés de ces études ont été confirmés lorsque ma collègue Suezanne Parker montra que des plasmides qui portent un gène du virus de la grippe protégeaient des souris contre des doses de virus qui auraient été normalement létales. Margaret Liu et ses collègues de la Société Merck ont confirmé ces observations et les ont utilisées pour mettre au point plusieurs vaccins qui ont déclenché des réactions cellulaires et humorales durables. La Société Merck procède aujourd'hui aux essais cliniques de ce vaccin à ADN nu contre la grippe.

D'autres laboratoires étudient des vaccins analogues contre l'herpès, le paludisme et le SIDA. Ultérieurement on étudiera d'autres cibles, comme la tuberculose, le papillome, les chlamydia et l'hépatite. Outre leur rôle préventif, de tels vaccins stimuleraient les systèmes immunitaires des personnes déjà atteintes. Enfin, on prévoit également un essai clinique à partir d'ADN nu contre le lymphome (un cancer des globules blancs).

Les lipoplexes et les plasmides nus ne sont pas les seuls vecteurs non viraux de la thérapie génique. Les biologistes étudient aussi des polymères cationiques qui forment des complexes avec l'ADN. Ces structures, nommées polyplexes, sont également prometteuses.

Les spécialistes de la thérapie génique non virale s'efforcent de mettre au point des vecteurs qui, après injection dans la circulation sanguine, transporteraient leurs séquences

d'ADN aux tissus appropriés tels que poumons, foie, rate ou moelle osseuse. Trouveront-ils des vecteurs géniques absorbables par voie orale? Concevront-ils des vecteurs qui reconnaîtront spécifiquement les cellules tumorales afin d'améliorer le traitement des cancers. Sauront-ils corriger des gènes mutés, portés par les cellules de personnes atteintes de maladies génétiques ou de cancer?

La thérapie génique cellulaire à base de lipoplexes, de polyplexes ou d'ADN nu se développe. Si la progression actuelle se maintient, de nombreux produits de cette sorte, administrés couramment pour traiter et prévenir des maladies classiques, apparaîtront dans les prochaines décennies.

Philippe FELGNER est chercheur aux Laboratoires Vical, à San Diego.

Jon A. WOLFF, Robert W. MALONE, Phillip WILLIAMS, Wang CHONG, Gyula ACSADI, Agnes JANI et Philip L. FELGNER, *Direct Gene Transfer into Mouse Muscle in vivo*, in *Science*, vol. 247, pp. 1465-1468, 23 mars 1990.

G.J. NABEL et P.L. FELGNER, *Direct Gene Transfer for Immunotherapy*, in *Trends in Biotechnology*, vol. 11, n° 5, pp. 211-215, mai 1993.

J.J. DONNELLY, J.B. ULMER, J.W. SHIVER et M.A. LIU, *DNA Vaccines*, in *Annual Review of Immunology*, vol. 15, pp. 617-648, 1997.

R.J. LEE et L. HUANG, *Lipidic Vector System for Gene Transfer*, in *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, vol. 14, n° 2, pp. 173-206, 1997.