

plus rapidement. Comme le tPA recombiné tronqué reste plus longtemps dans le sang, il peut être injecté, et ne nécessite pas une perfusion continue, ce qui est le cas du tPA entier.

À l'heure où la plupart des pays cherchent à maîtriser leurs dépenses de santé, les nombreux succès thérapeutiques obtenus avec des protéines

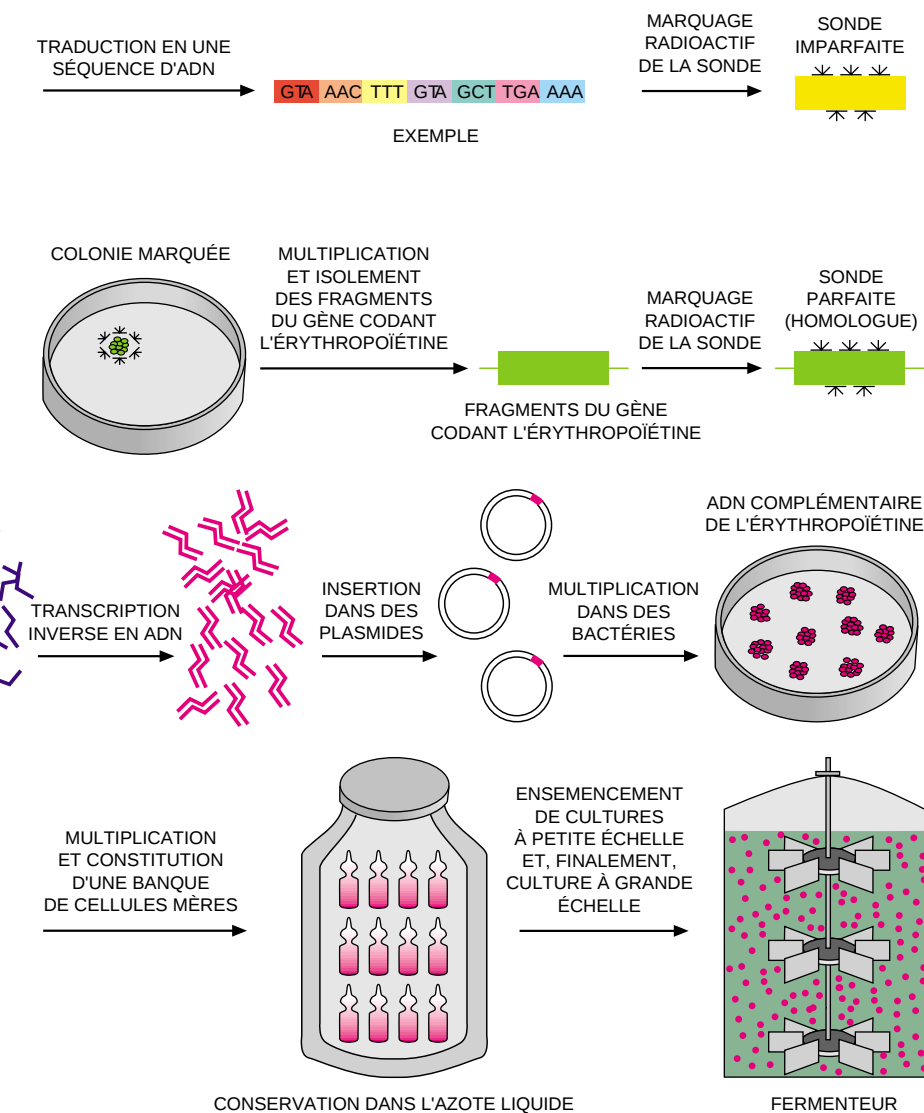
recombinées justifient leur prix de revient élevé par rapport à celui des médicaments classiques : la culture industrielle de cellules de mammifères est onéreuse, et les protéines recombinées sont souvent administrées à des doses élevées, ce qui augmente d'autant le prix du traitement. Toutefois, les médicaments coûtent de plus en

plus cher, en raison de l'allongement de la durée de leur mise au point, qui, en 30 ans environ, a quintuplé : généralement, plus de dix années s'écoulent avant la mise sur le marché d'un médicament.

De surcroît, une nouvelle molécule chimique n'a guère qu'une chance sur dix de passer avec succès toutes les étapes de sélection qui vont des premiers essais cliniques à la mise sur le marché. Au contraire, la durée moyenne de mise au point des médicaments recombinés autorisés jusqu'à présent a été plus courte, et près d'une molécule sur deux a été commercialisée : les protéines recombinées sont moins toxiques que d'autres molécules, ce qui explique peut-être leur succès. Une fois que l'on connaît le mécanisme d'action d'une protéine, sa production est moins aléatoire que celle d'une substance de synthèse.

pour la production de l'érythropoïétine

tuée de fragments de gènes humains insérés dans des virus infectant les bactéries (des bactériophages). Le fragment codant l'érythropoïétine a ensuite servi de sonde pour repérer les cellules de l'organisme qui produisent l'ARN messager de l'érythropoïétine en grande quantité (étape 3). Ces ARN, qui contiennent le programme complet des informations nécessaires à la synthèse de l'hormone, ont été retranscrits en ADN à l'aide d'une enzyme, clonés dans des bactéries et transférés dans des cellules d'ovaires de hamster. Le gène a été amplifié (étape 4). À partir de la banque des cellules mères, on réalise d'abord des cultures de taille limitée, puis on les utilise à grande échelle dans des fermenteurs.



Du laboratoire à la pharmacie

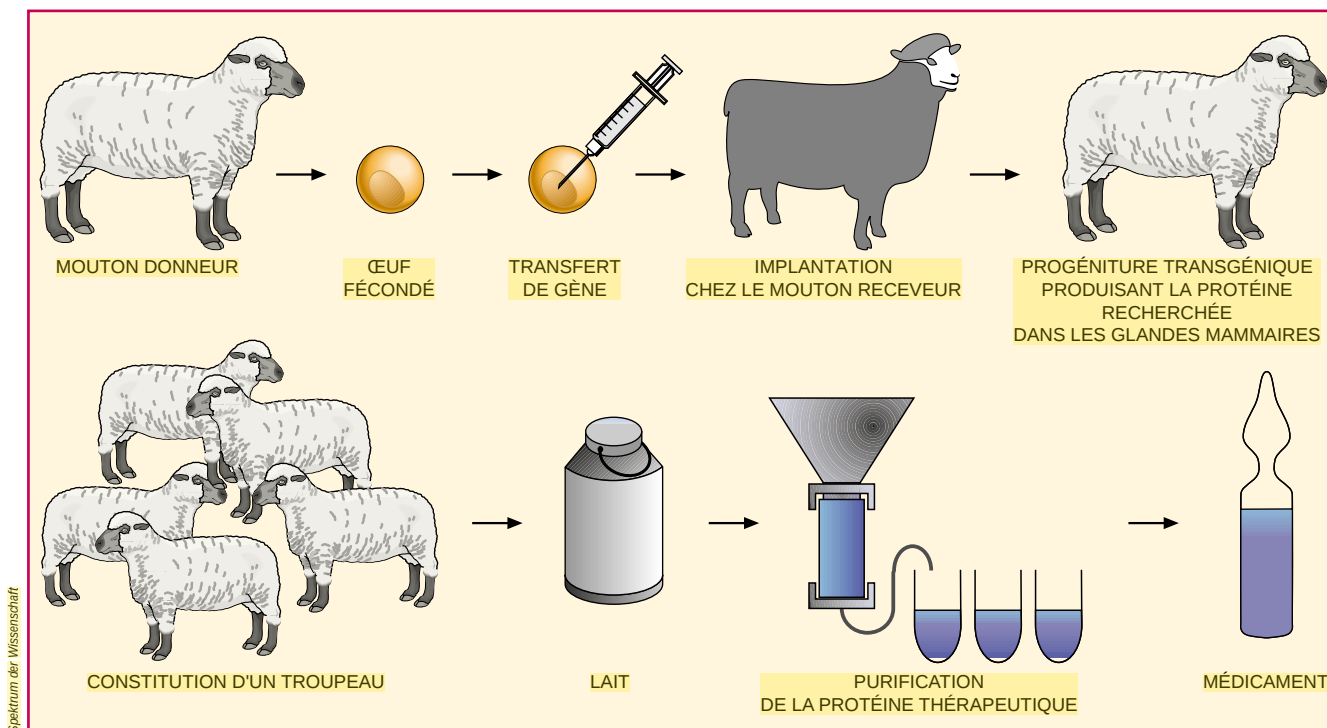
Les protéines thérapeutiques du futur seront produites, non pas dans des fermenteurs, mais directement dans l'organisme du patient. Ces médicaments ne seront plus constitués du principe actif lui-même, mais du gène qui en assure la synthèse. À l'aide de vecteurs, l'ADN pénétrera dans les cellules de l'organisme, qui produiront alors la protéine requise. Aujourd'hui, deux vecteurs sont à l'étude : des virus modifiés, notamment des adénovirus et des rétrovirus, et diverses enveloppes lipidiques (des molécules de graisse), nommées liposomes.

Pour la première fois, on pourra lutter contre les maladies héréditaires, c'est-à-dire traiter leur cause et non pas seulement les symptômes. On traitera par la thérapie génique les cellules somatiques (toutes les cellules, à l'exception des cellules de la reproduction), de sorte qu'elles pallieront elles-mêmes leur déficit. De nombreux obstacles demeurent, mais cette voie permettra d'élargir l'éventail des traitements par des protéines recombinées. Ainsi, on compensera par un apport externe l'absence ou l'inefficacité de substances qui, à l'instar des hormones, des facteurs de croissance ou d'autres messagers, sont présentes dans le sang ou dans les tissus. En revanche, s'il manque une protéine au sein des cellules, un apport externe ne compensera pas le déficit.

C'est précisément la difficulté posée par la mucoviscidose, une maladie héréditaire qui atteint un nouveau-né sur 2 000 environ. Elle se caractérise par une sécrétion de mucus anormalement visqueux dans les voies respi-

ratoires et dans le système gastro-intestinal, entraînant une détérioration progressive des organes atteints ; des complications pulmonaires surviennent rapidement. Cette maladie apparaît quand les deux exemplaires du

gène codant une protéine (un canal chlore membranaire) sont anormaux. Quelques essais thérapeutiques visent à insérer le gène normal dans les cellules de l'épithélium pulmonaire : les personnes atteintes doivent inhaler un



4. LES ANIMAUX TRANSGÉNIQUES produisent des protéines recombinées. On a introduit dans leur génome un gène qui code une protéine humaine, couplé à une séquence régulatrice, qui n'est activée que dans les cellules mammaires. La protéine recherchée

est extraite du lait. Dans le cas de l'enzyme antitrypsine alpha, on a inséré le gène humain dans des embryons de moutons. Jusqu'à présent, cette protéine n'était extraite que du sang et ne couvrait que le tiers des besoins mondiaux.

Les cellules utilisées pour la production de médicaments par génie génétique

Le choix d'un organisme de production doit tenir compte non seulement de critères économiques, mais aussi des procédures d'autorisation de mise sur le marché imposées par les services sanitaires européens et américains. Trois organismes génétiquement modifiés servent surtout à la production de protéines thérapeutiques : la bactérie *Escherichia coli*, la levure

Saccharomyces cerevisiae et les cellules d'ovaire de hamster chinois. Les lignées cellulaires, établies depuis plusieurs années, sont bien caractérisées ; en outre, on dispose de diverses méthodes de génie génétique pour les modifier. La protéine exprimée est soit excrétée dans le milieu de culture, soit stockée dans les micro-organismes modifiés.

	AVANTAGES	INCONVÉNIENTS
<i>Escherichia coli</i>	Reproduction rapide, fermentation accélérée, culture relativement simple ; matières premières peu coûteuses ; diverses souches disponibles.	Protéines recombinées, souvent stockées sous forme d'inclusions insolubles. Les protéines n'ont pas toujours leur conformation biologiquement active.
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (levure)	Croissance rapide et culture assez facile ; pas de formation d'inclusions ; modifications des protéines recombinées possibles.	La conformation n'est pas toujours correcte ; les protéines peuvent déclencher des réactions de défense.
Cellules d'ovaire de hamster chinois	Divers systèmes de transfert de gènes ont été mis au point ; possibilité d'amplification du gène inséré ; conformation quasi normale.	Culture laborieuse et coûteuse ; rendements relativement faibles (par comparaison avec <i>Escherichia coli</i> ou avec la levure).

aérosol contenant le gène normal véhiculé par un vecteur. On espère que le gène s'intégrera dans le génome des cellules pulmonaires, qui produiront alors le canal chlore normal, corrigeant ainsi l'anomalie.

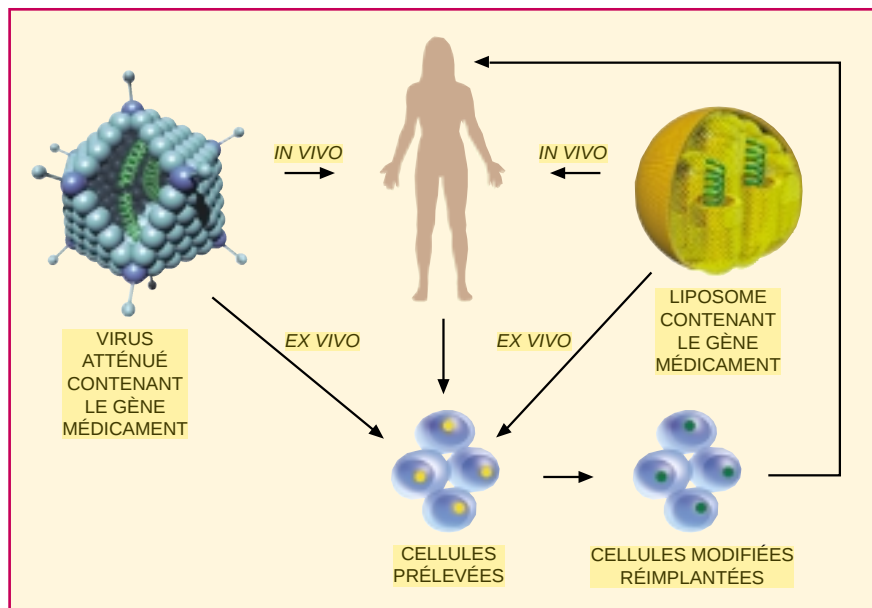
On réalise aussi des transferts de gènes non pas directement dans l'organisme, mais plutôt dans des cellules prélevées au malade et réintroduites après avoir été modifiées. Ainsi, pour insérer du matériel génétique dans des cellules sanguines, on cultive des précurseurs de ces cellules hors de l'organisme et on y introduit le gène normal. Toutes les cellules sanguines qui seront issues des cellules souches modifiées porteront le nouveau gène intact.

Le premier essai de thérapie génique fondé sur ce principe a eu lieu en 1990, chez une petite fille qui ne synthétisait pas d'adénosine désaminase : cette maladie génétique entraîne un grave déficit immunitaire, car les métabolites toxiques s'accumulent dans les cellules et endommagent notamment les précurseurs des globules blancs. Une trentaine de personnes dans le monde sont atteintes de cette maladie.

Toutefois, plus de la moitié des essais cliniques de thérapie génique en cours visent à traiter le cancer, qui résulte d'anomalies génétiques héréditaires combinées à des anomalies acquises au cours de la vie. Le cancer est la deuxième cause de mortalité dans les pays occidentaux.

On essaie de renforcer les défenses de l'organisme contre les cellules cancéreuses. On peut, par exemple, vacciner le malade avec ses propres cellules tumorales génétiquement manipulées : elles produisent alors des substances qui, telle l'interleukine 2, renforcent l'activation des cellules immunitaires contre la tumeur. Si les premiers essais avaient été encourageants chez la souris, ceux qui ont été tentés sur l'homme n'ont pas été concluants.

Dans d'autres cas, on tente de rendre les cellules tumorales sensibles à un médicament. C'est le cas du glioblastome, la forme la plus répandue de tumeur cérébrale ; on introduit dans les cellules tumorales le gène du virus de l'herpès qui code la thymidine kinase. Les cellules tumorales qui ont incorporé ce gène deviennent sensibles à un médicament antiviral, le Ganciclovir. Les résultats partiels des essais cliniques sont encourageants.



5. LES PROTÉINES THÉRAPEUTIQUES DU FUTUR seront directement produites dans l'organisme du malade. On n'administrera plus la substance active, on insérera dans les cellules le gène codant cette substance. Le gène est inséré soit directement dans l'organisme (*in vivo*), soit dans des cellules préalablement prélevées sur la personne à traiter, transformées en laboratoire et réinjectées (*ex vivo*). Les gènes seront transférés par des vecteurs, vraisemblablement des virus atténués ou des liposomes (des enveloppes formées de lipides) (*en vert*).

Les exemples cités n'illustrent qu'une partie des potentialités de la thérapie génique, qui améliorera la lutte ciblée contre le cancer et contre d'autres maladies jusqu'ici incurables.

Perspectives industrielles

L'Allemagne commercialise beaucoup de médicaments produits par génie génétique. Toutefois, sur les 32 substances actives autorisées, six seulement y sont fabriquées, parce que les procédures de demande de mise sur le marché ont longtemps été fastidieuses et que le public se méfiait du génie génétique ; de nombreux laboratoires se sont implantés à l'étranger (75 pour cent des investissements des laboratoires pharmaceutiques allemands utilisant les biotechnologies ont été faits à l'étranger). Aujourd'hui pourtant, les autorisations sont obtenues plus rapi-

dement, et les procédures ont été allégées ; de surcroît, le public accepte mieux que l'on produise par génie génétique des médicaments destinés à soulager les souffrances humaines. En 1996, 253 nouveaux médicaments issus des biotechnologies étaient en phase d'essais cliniques dans le monde, et d'autres substances sont en cours de développement.

Ainsi, la médecine du futur reposera toujours plus sur la connaissance de nos gènes. D'ici l'an 2005, au plus tard, l'ensemble du génome humain devrait être séquencé. Le Programme génome humain est le projet mondial le plus ambitieux jamais entrepris dans le domaine biomédical (il coûtera quelque 20 milliards de francs). La recherche des gènes responsables des maladies est bien engagée. Il appartient à l'homme de faire bon usage de ces nouvelles connaissances.

Gabor STIEGLER est journaliste scientifique. Georg-Burkhard KRESSE est professeur de biochimie à l'Université Ludwig-Maximilian de Munich et dirige le département recherche et développement en biotechnologies de la Société *Boehringer Mannheim*, à Penzberg. Peter BUCKEL, professeur à l'Université de Munich, travaille aussi dans la Société *Boehringer Mannheim*.

Felix FRANKS, *Protein Biotechnology*, Humana Press, Totowa, New Jersey, 1993.

B.R. GLICK et J.J. PASTERNAK, *Molecular Biotechnology*, American Society for Microbiology, 1994.

William VELANDER, Henryk LUBON et William DROHAN, *Des animaux transgéniques produisent des médicaments*, in *Pour la Science*, mars 1997.