

## Thérapie génique : premier succès

**Des «enfants bulle» ont reçu le gène qui leur manquait et mènent aujourd'hui une vie normale.**

**S**ans système immunitaire efficace, l'organisme est incapable de résister aux agents pathogènes, bactéries et virus. Les enfants qui naissent sans défenses doivent être protégés de l'environnement et isolés dans des chambres stériles. Leurs anomalies du système immunitaire sont généralement d'origine génétique : un gène essentiel au bon fonctionnement des défenses ne produit pas la protéine vitale qu'il devrait coder. Lorsqu'un seul gène, bien identifié, est en cause, on peut envisager une thérapie génique, un traitement consistant à remplacer le gène déficient par le gène normal. Les essais de thérapie génique avaient, jusqu'à présent, été décevants, mais l'équipe d'Alain Fisher, à l'Hôpital Necker-Enfants malades, a traité, par thérapie génique, deux enfants atteints d'un déficit immunitaire grave : un an après l'intervention, ils ont un système immunitaire fonctionnel.

Les enfants traités sont atteints d'un déficit immunitaire grave lié au chromosome X, nommé DICS-X. Dans cette maladie, qui touche un garçon sur 300 000 (seuls les garçons sont atteints), des éléments essentiels du système immunitaire, les lymphocytes T et les cellules tueuses NK, ne sont pas produits. Normalement, les cellules souches, présentes dans la moelle osseuse, se différencient pour donner tous les types de cellules du sang.

On a montré que la différenciation des cellules souches en lymphocytes T et en cellules NK n'a pas lieu parce que leurs cellules progénitrices sont dépourvues d'un récepteur clé de deux cytokines (des molécules essentielles du système immunitaire) : respectivement celui de l'in-

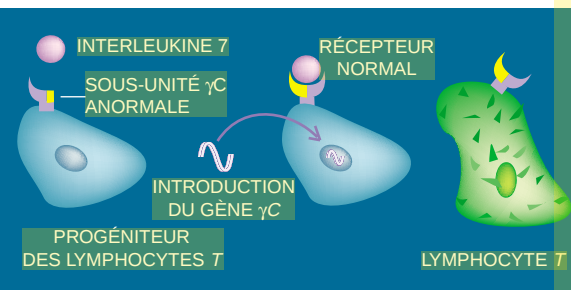
terleukine 7 et de l'interleukine 15. Une même sous-unité de ces deux récepteurs est codée par le gène, nommé  $\gamma_c$ . Les récepteurs anormaux de ces deux cytokines n'assurent pas la transmission des signaux de la différenciation des progéniteurs précoces des cellules sanguines, de leur multiplication et de leur survie.

Les enfants atteints de DICS-X doivent subir une greffe de moelle pour acquérir un système immunitaire fonctionnel. Toutefois, pour que la greffe ne soit pas rejetée, on doit impérativement trouver un donneur compatible avec le receveur.

Or, on avait montré que l'introduction du gène  $\gamma_c$  dans des cellules dépourvues de ce gène rétablit l'expression de la protéine  $\gamma_c$ , ainsi que la différenciation des lymphocytes T et des cellules tueuses. Comme Marina Cavazzano-Calvo et ses collègues de l'Hôpital Necker ne trouvaient pas de donneur compatible pour deux enfants de huit et onze mois atteints, ils ont décidé, après avoir obtenu toutes les autorisations nécessaires, et avec l'accord des parents, de pratiquer une thérapie génique. Ils ont prélevé de la moelle osseuse sur ces enfants, extrait les cellules progénitrices, et modifié le génome cellulaire en y introduisant le gène  $\gamma_c$  normal. Les cellules traitées ont été réinjectées aux enfants par voie intraveineuse. Comme les cellules souches et les cellules progénitrices ont une attirance naturelle pour la moelle, elles ont rapidement retrouvé leur site de prédilection.

Aujourd'hui, un an après l'intervention, la quantité de lymphocytes T et de cellules tueuses reste élevée et stable, comparable à celle des autres enfants du même âge. Les enfants vivent chez eux, sans traitement. Ils ont été vaccinés contre diverses maladies infantiles, et leur système immunitaire a réagi normalement en produisant des anticorps.

Toutefois, si l'on sait que le gène  $\gamma_c$  s'est bien intégré dans le génome des cellules précurseurs des lymphocytes T et des cellules tueuses, on ignore si les cellules modifiées étaient des précurseurs précoces ou tardifs : si les cellules traitées étaient des progéniteurs précoces, peut-être des cellules souches (les tout premiers progéniteurs), la production de lymphocytes T et de cellules tueuses devrait se prolonger. En revanche, plus les cellules modifiées étaient déjà différenciées, plus cette «mémoire immunitaire» sera brève. Enfin, les cellules ont été pourvues, au cours de l'évolution, de mécanismes qui «éteignent» l'expression des gènes rétroviraux qui auraient pu s'intégrer malencontreusement dans leur génome. On ignore si de tels mécanismes d'extinction qui seraient, ici, bien malvenus, risquent de se mettre en place.



**Lorsque les cellules progénitrices des lymphocytes T sont dépourvues de la sous-unité  $\gamma_c$ , elles ne se différencient pas. Quand on introduit le gène  $\gamma_c$  normal, elles donnent des lymphocytes T fonctionnels.**

## Une photo sensible

**Un nouveau procédé multiplie jusqu'à dix fois la sensibilité des films photographiques.**

Un coucher de soleil, un portrait, une fleur... Quel que soit le sujet, les événements qui se succèdent, du déclic jusqu'à l'observation du tirage papier, sont toujours les mêmes : pendant un bref instant, un film de plastique recouvert d'une émulsion de gélatine, où sont dispersés des cristaux de bromure d'argent, est exposé à la lumière. Lors de cette exposition, dans chacun des cristaux, les photons convertissent quelques ions argent ( $\text{Ag}^+$ ) en atomes d'argent ( $\text{Ag}$ ). Au cours du développement, les films, où les images restent latentes puisque tous les cristaux sont encore transparents, trempent dans un liquide révélateur qui fait apparaître l'image négative ; certains cristaux noircissent complètement, tandis que d'autres restent intacts. Selon quel critère ? Le nombre d'atomes d'argent par cristal de bromure d'argent : au-delà d'un nombre critique d'atomes d'argent, le cristal s'assombrit.

Aujourd'hui, cinq à dix photons sont en moyenne nécessaires à la conversion d'un ion argent en un atome. Jacqueline Belloni, du Laboratoire CNRS de physico-chimie des rayonnements, à l'Université Paris-Sud d'Orsay, Mona Treguer et Hynd Remita, et René de Keyzer, de la Société *Agfa Gevaert*, ont mis au point un procédé qui augmente

notablement la sensibilité des films photographiques.

Lorsqu'un photon atteint un cristal de bromure d'argent, il arrache un électron d'un ion bromure et crée simultanément, en vertu du principe de l'électroneutralité, un défaut d'électron, nommé trou, qui circule d'ion bromure en ion bromure. Trois scénarios sont alors possibles. Dans le premier, un ion argent positif capte l'électron pour devenir un atome (l'argent est réduit) et le trou migre jusqu'à la périphérie du cristal où il est happé par la gélatine environnante : c'est le cas favorable, puisque ce sont les atomes d'argent qui donneront l'image négative ! Dans un deuxième cas, le trou et l'électron se recombinent et disparaissent en formant un photon qui est émis. Ce phénomène, nommé fluorescence, diminue l'efficacité de la lumière et la qualité de l'image, car le nouveau photon crée parfois un atome d'argent dans un cristal adjacent. Enfin, le trou peut détruire un atome d'argent, qui a été formé par la capture d'un électron : l'atome redevient un ion (voir la figure).

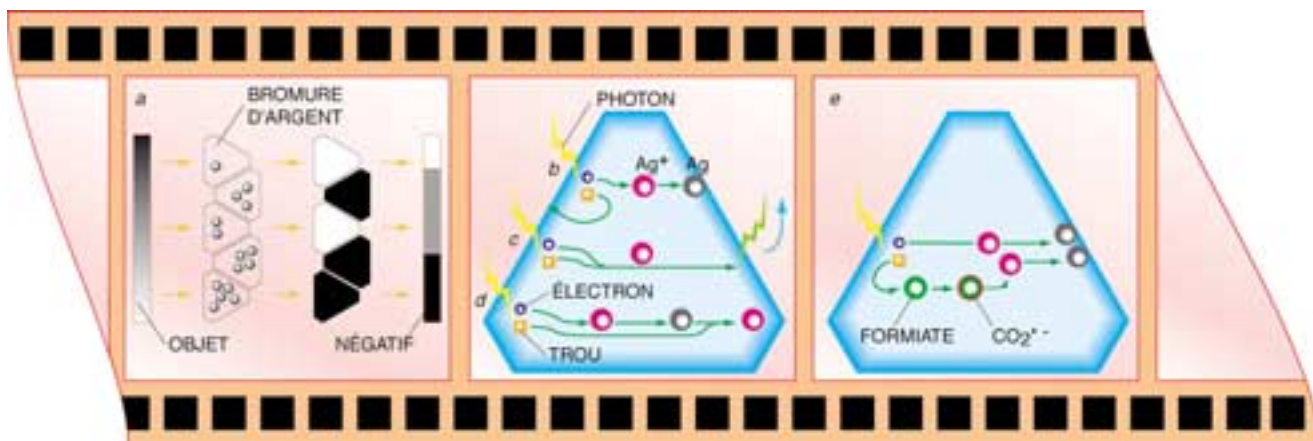
Un seul des trois modes d'action des photons engendre des atomes d'argent. Comment améliorer ce rendement ? Il s'agit de favoriser la rencontre de l'électron avec un ion argent en écartant le trou. Les chimistes ont eu l'idée de mêler aux ions argent et bromure, avant la formation du cristal, des ions formiates ( $\text{HCO}_2^-$ ). De petite taille, ces ions se substituent à quelques ions bromure pendant la cristallisation du bromure d'argent, et sont de bons capteurs de trous.

Lorsqu'un photon crée une paire électron-trou, l'électron transforme un ion

argent en atome, tandis que le trou est rapidement capté par l'ion formiate qui libère l'hydrogène. La recombinaison du trou et de l'électron n'a plus lieu : la fluorescence, qui est responsable de la perte de 80 pour cent des électrons dans les émulsions standards, est supprimée. De plus, le trou et l'ion formiate forment un ion radical  $\text{CO}_2^{\cdot-}$  qui est capable de réduire un second ion argent en un atome dans le même cristal de bromure d'argent. En présence d'ions formiates, un photon transforme ainsi deux ions argent : là où il fallait environ dix photons, désormais, un seul suffit.

Le développement des films reste inchangé. Dans un cristal, plus le nombre d'atomes d'argent formés par la lumière et groupés en amas est grand, plus la capacité de cet amas à attirer les électrons augmente. Ainsi, le révélateur réduit les cristaux de bromure d'argent à condition que le nombre d'atomes d'argent en amas dépasse le seuil critique, soit environ trois ou quatre par cristal selon le révélateur : les cristaux noircissent. En revanche, lorsqu'un cristal ne contient qu'un ou deux atomes d'argent, il n'est pas réduit par le révélateur et reste transparent.

Grâce au formiate, tous les photons sont efficaces (doublement) : le temps de pose est réduit et le flash, même pour des photographies d'intérieur, est superflu. L'augmentation de la sensibilité permet également de diminuer la taille des cristaux de bromure d'argent des émulsions, laquelle impose la résolution qui est ainsi améliorée. Les photographes amateurs et professionnels peuvent espérer profiter de ces résultats d'ici deux ou trois ans.



Lors d'une prise de vue (a), dans les cristaux de bromure d'argent, la lumière transforme des ions argent transparents en atomes d'argent. Au-delà d'un nombre critique d'atomes d'argent par cristal (ici, trois), le révélateur noircit tout le cristal : on obtient ainsi le négatif. Lorsqu'un photon heurte un cristal de bromure d'argent (b), il crée un électron (en bleu) qu'un ion argent (en rose) capte pour devenir un atome (en gris), et un «trou» (en orange) qui s'échappe hors du cristal. Toutefois, des réactions parasites diminuent l'efficacité : l'électron et le trou se

recombinent en un nouveau photon (c), ou bien, le trou est capté par l'atome d'argent qui a été formé par la capture de l'électron (d). Au total, trois photons ont formé un seul atome d'argent. Avec des ions formiate (en vert), un photon convertit deux ions argent en atomes (e). Le formiate capture le trou avec lequel il forme un ion radical  $\text{CO}_2^{\cdot-}$  (en vert cerclé de rouge), tandis que l'électron est capturé par un ion argent sans réaction parasite. De plus, l'ion radical  $\text{CO}_2^{\cdot-}$  transforme lui aussi un ion argent en un atome.