

A. Thérapie génique et cellulaire des maladies héréditaires

Le premier essai de thérapie génique couronné de succès a débuté le 14 septembre 1990. La patiente Ashanthi Desilva, avait juste quatre ans et souffrait d'une maladie héréditaire récessive très rare, le déficit en adénosine désaminase (ADA). L'ADA est impliquée dans le métabolisme des purines lors de la dégradation des acides nucléiques ; c'est une enzyme synthétisée dans de nombreux types cellulaires différents. Le déficit héréditaire de cette enzyme a des conséquences particulières sévères pour les lymphocytes T. Les patients ADA⁻ souffrent d'un déficit immunitaire combiné sévère. Cette maladie grave est un candidat potentiel particulièrement adapté à la thérapie génique pour différentes raisons : le gène ADA est petit, il a été préalablement cloné et étudié de façon complète; les cellules cibles sont les LT qui sont faciles à atteindre et à cultiver permettant une thérapie génique *ex vivo*.

L'approche de thérapie génique de l'ADA comporte quatre étapes essentielles (Figure 01):

1. Le clonage du gène ADA normal dans un vecteur rétroviral ;
2. La transfection du gène ADA recombinant dans des lymphocytes T en culture ADA⁻ de la patiente ;
3. L'identification des LT ADA⁺ résultantes et leur expansion en culture ;
4. La réimplantation de ces cellules chez la patiente.

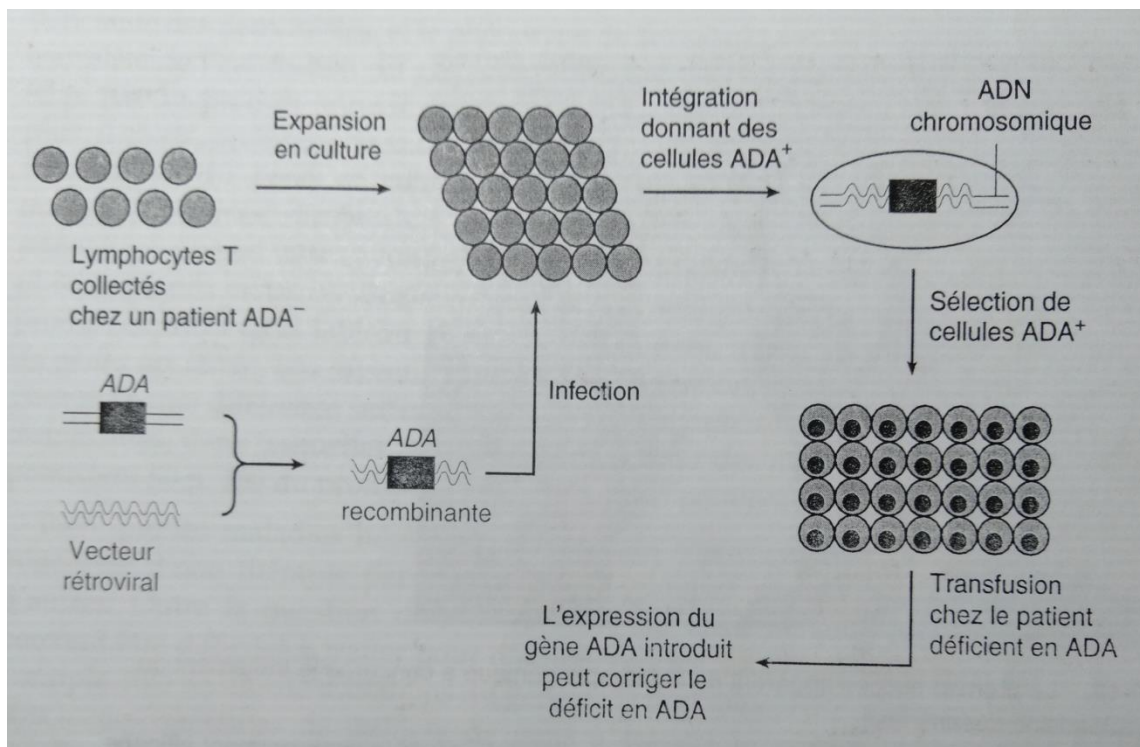


Figure 1 : Thérapie génique *ex vivo* du déficit en adénosine désaminase (ADA).

B. Thérapie génique et cellulaire des cancers

De nombreuses approches peuvent être utilisées pour la thérapie génique des cancers et contrairement au petit nombre d'essais cliniques concernant la Thérapie génique et cellulaire des maladies héréditaires, de nombreux essais sont actuellement en cours.

B-1 Transfert de gène dans les lymphocytes infiltrant les tumeurs

Cette thérapeutique constitue une forme d'immunothérapie adoptive, car le gène codant une cytokine (le $TNF-\alpha$), a été transféré dans les lymphocytes infiltrant les tumeurs (TIL) dans le but d'augmenter leur efficacité anti-tumorale. La population des TIL est une population naturelle de lymphocytes T qui peut migrer et infiltrer les masses tumorales, telles que les mélanomes métastatiques.

L'approche de thérapie génique et cellulaire, qui a été utilisée, comporte le transfert rétroviral de $TNF-\alpha$ dans une population de TIL initialement obtenus à partir d'une tumeur excisée, puis cultivée. La transfusion de ces TIL génétiquement modifiés chez un patient présentant un mélanome métastatique est destinée à obtenir l'adressage des TIL dans le mélanome, l'expression du gène $TNF-\alpha$ introduit et la régression tumorale (Figure 02).

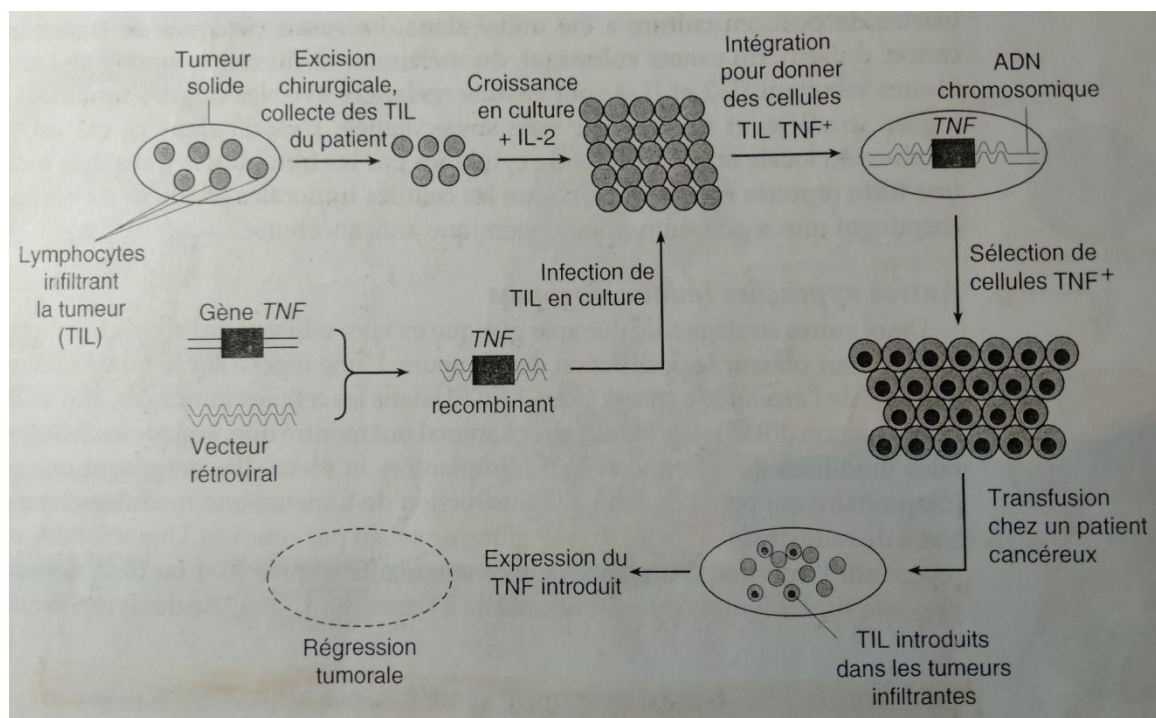


Figure 02 : Les modifications génétiques des lymphocytes infiltrant les tumeurs (TIL) peuvent être utilisées dans pour cibler des gènes thérapeutiques dans une tumeur solide.

B-2 Thérapie génique et cellulaire des tumeurs *in vivo*

Cette approche repose sur le transfert rétroviral d'un gène codant une « prodrogue », agent conférant la sensibilité à la destruction cellulaire après administration de la drogue correspondante.

Un exemple récent a utilisé comme cellule cible des cellules cérébrales tumorales, dans le cadre d'un angioblastome récidivant, et les rétrovirus ont été apportés sous la forme de fibroblastes produisant des vecteurs rétroviraux (VPC ; pour cellules productrices de vecteurs). Les cellules (VPC) ont été directement implantées dans de multiples régions à l'intérieur des tumeurs à l'aide d'injections stéréotaxiques guidées par IRM (Figure 03). Une fois injectées, les VPC produisent continuellement des particules rétrovirales à l'intérieur de la masse tumorale, transférant les gènes dans les cellules tumorales avoisinantes.

Le gène prodrogue qui a été transféré est un gène de HSV codant une thymidine kinase (HSV-tk). La thymidine kinase confère la sensibilité au Ganciclovir en le phosphorylant dans les cellules pour former le ganciclovir monophosphate, qui est ensuite converti par les kinases cellulaires en ganciclovir triphosphate. Ce composé inhibe l'ADN polymérase et entraîne la mort cellulaire. Une telle thérapeutique est efficace grâce au phénomène appelé effet de proximité ou effet *by-stander* : les cellules tumorales adjacentes qui n'ont pas intégré le gène *HSV-tk* peuvent être détruites ; ceci serait lié à la diffusion du ganciclovir triphosphate à partir des cellules qui ont capté le gène *HSV-tk*, par l'intermédiaire des jonctions de type gap.

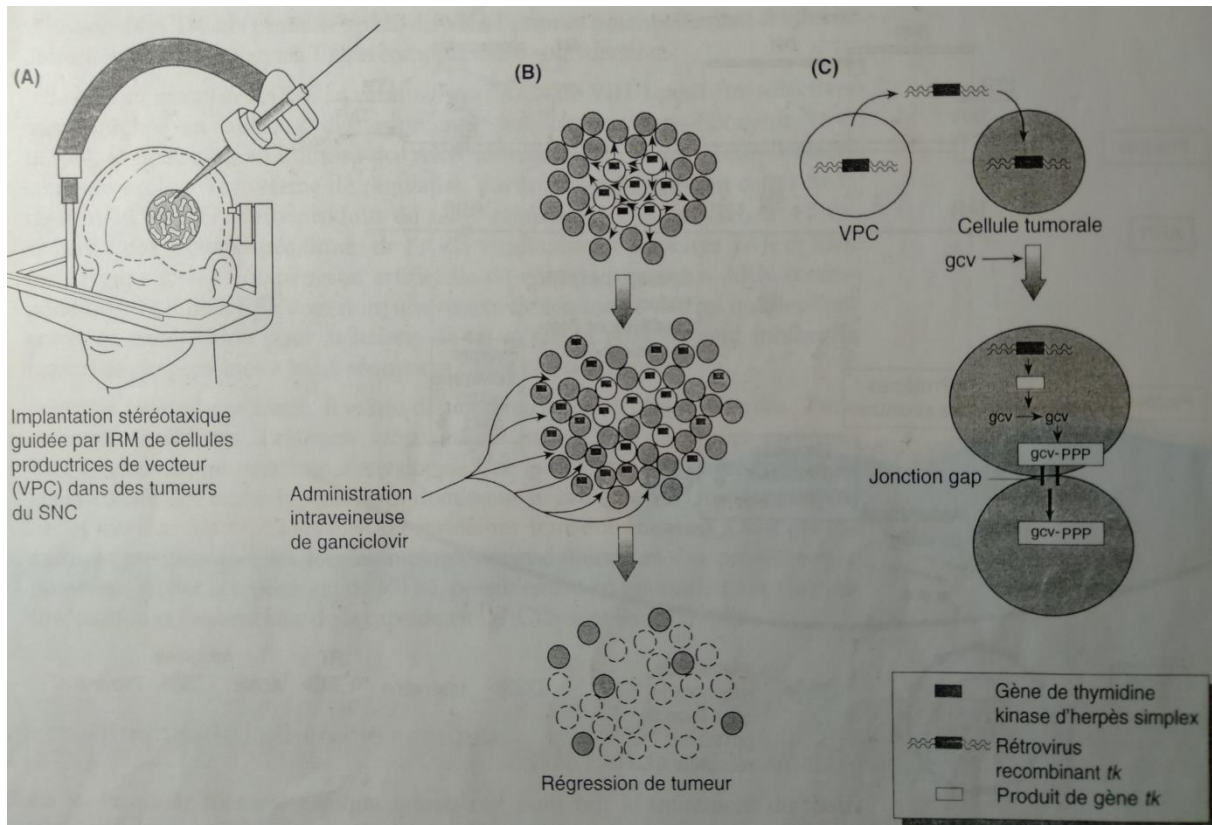


Figure 03 : Thérapie génique des tumeurs cérébrales *in vivo*.