

L'injection intrathymique néonatale d'adénovirus recombinant : une voie de tolérisation

Hélène Gilgenkrantz

Il est désormais communément admis qu'une des principales limitations des vecteurs adénoviraux recombinants de première génération, utilisés comme vecteurs de transfert direct de gènes, réside dans l'importante réaction immunitaire qu'ils entraînent, limitant alors la durée d'expression du transgène. Cette réponse immune de type cellulaire cytotoxique [1] est probablement occasionnée par l'expression résiduelle de protéines virales.

Une expression à long terme peut cependant être détectée dans des cas particuliers :

- lorsque l'injection a lieu dans certains types d'organes comme la rétine [2] ou le cerveau (*m/s* n° 2, vol. 9, p. 236) ;

- lorsque les animaux sont soumis à un traitement immunosuppresseur [3] ou sont génétiquement immunodéprimés, comme la souris *nu/nu* [1] ;

- enfin, si l'injection a lieu chez la souris nouveau-né, l'expression peut persister de plusieurs mois à plusieurs années ([4], *m/s* n° 2, vol. 9, p. 238).

H. Gilgenkrantz *et al.* (ICGM, Inserm U.129, Paris, France) ont étudié les possibilités de transfert de gènes dans les cardiocytes de rats adultes par injection d'une suspension de vecteurs adénoviraux directement dans le myocarde. L'expression du transgène (ici le gène codant pour la β -galactosidase), maximale six jours après l'injection (*figure 1A*), diminue progressivement pour s'éteindre autour du 21^e jour après l'injection (*figure 1C*). En revanche, si l'animal subit un traitement quotidien par ciclosporine injectable,

l'expression est maintenue au moins 21 jours après l'injection (*figure 1B*).

L'expression à long terme obtenue chez les souris nouveau-nés peut probablement s'expliquer par une immaturité immunologique de ces rongeurs à la naissance. Nous avons donc voulu mettre à profit cette immaturité pour tenter l'induction d'une tolérisation au vecteur adénoviral par injection néonatale intrathymique de ce virus recombinant de première génération. La voie thymique est utilisée depuis plusieurs années pour induire la tolérisation cellulaire à des antigènes spécifiques, notamment dans le but d'améliorer la tolérance à des transplantations cellulaires ou tissulaires (*m/s* n° 10, vol. 6, p. 1014), [5]. Une suspension d'adénovirus exprimant la β -galactosidase (10^8 pfu) a donc été injectée dans le thymus de rats âgés de 4 jours. À l'âge adulte, ces mêmes animaux ont reçu une injection intramyocardique. La coloration histochemique des coupes histologiques du cœur de ces animaux révèle que l'expression du transgène est maintenue au moins deux mois après l'injection intracardiaque (*figure 1C*), malgré la présence dans le sérum des animaux d'anticorps neutralisants et d'anticorps dirigés contre le transgène [6]. Ainsi, en attendant l'élaboration de vecteurs moins immunogènes, et à condition que ce type d'approche soit vérifié pour d'autres organes que le cœur, il serait possible d'étudier à long terme l'efficacité de tout transfert de gène en s'affranchissant des réactions dues à la réponse immunitaire engendrée par l'adénovirus ■

Summary

Tolerance induced by intrathymic injection of recombinant adenovirus in the neonate

Major limitations of first-generation recombinant adenoviral vectors are the inflammatory reaction they provoke and the transient expression of transgenes they introduce into cells. These phenomena are mainly due to a cellular immune response directed against the virus. We have tried to tolerize rats to the adenovirus by injecting this vector intrathymically at birth. By this approach, it was possible to prolong transgene expression for more than 2 months after an intramyocardial injection in adults whereas this expression lasted less than 21 days after injection in non-tolerized animals. Intrathymic injection of first-generation adenovirus could therefore constitute a way to evaluate the adenovirus-mediated gene transfer efficiency in animal models of human genetic diseases, avoiding side effects related to the immune response.

Hélène Gilgenkrantz

Chargée de recherche à l'Inserm, ICGM, Inserm U. 129, 24, rue du Faubourg Saint-Jacques, 75014 Paris, France.

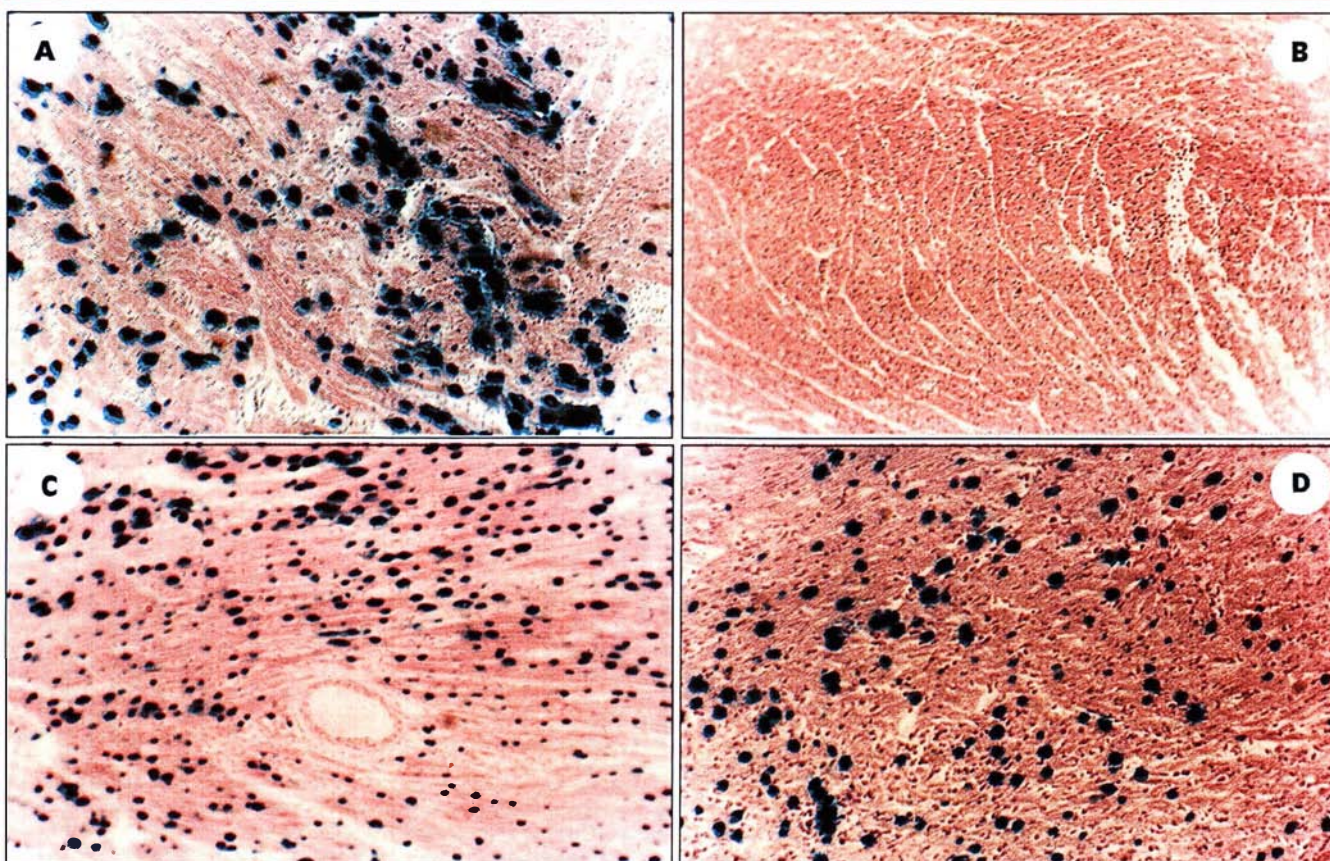


Figure 1. **Détection de la β -galactosidase par coloration histochimique de coupes du myocarde de rat après injection intracardiaque de 10⁹ pfu d'Ad-LacZ. A. 6 jours après injection. B. 3 semaines après injection. C. 3 semaines après injection chez un animal traité par ciclosporine. D. 2 mois après injection chez un animal ayant reçu une injection intrathymique néonatale de 10⁸ pfu du même vecteur.**

RÉFÉRENCES

1. Yang Y, Nunes FA, Berencsi K, Furth EE, Gönczöl E, Wilson JM. Cellular immunity to viral antigens limits E1 deleted adenoviruses for gene therapy. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994 ; 91 : 4407-11.
2. Mashhour B, Couton D, Perricaudet M, Briand P. *In vivo* adenovirus-mediated gene transfer into ocular tissues. *Gene Ther* 1994 ; 1 : 122-6.
3. Engelhardt JF, Ye XH, Doranz B, Wilson JM. Ablation of E2A in recombinant adenoviruses improves transgene persistence and decreases inflammatory response in mouse liver. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994 ; 91 : 6196-200.
4. Stratford-Perricaudet L, Makeh I, Perricaudet M, Briand P. Widespread long-term gene transfer to mouse skeletal muscles and heart. *J Clin Invest* 1990 ; 90 : 626-30.
5. Posselt AM, Barker CF, Friedman AL, Nasi A. Prevention of autoimmune diabetes in the BB rat by intrathymic islet transplantation at birth. *Science* 1992 ; 256 : 1321-4.
6. Gilgenkrantz H, Duboc D, Juillard V, Couton D, Pavirani A, Guillet JG, Briand P, Kahn A. Transient expression of genes transferred *in vivo* into heart using first generation adenoviral vectors : role of the immune response. *Hum Gene Ther* 1995 (sous presse).

TIRÉS À PART

H. Gilgenkrantz.