

Thérapie génique suicide du glioblastome : confirmation d'un premier bilan négatif, qui n'obère pas l'avenir

Pour les spécialistes de thérapie génique, comme pour les oncologues, la mauvaise nouvelle publiée par Ram *et al.*, dans *Nature Medicine* [1] n'était qu'une confirmation : l'essai clinique de thérapie génique par introduction de cellules productrices de « rétrovirus-tk », réalisé par les équipes de Michael Blaese et Edward Oldfield, était annoncé comme un échec depuis quasiment 4 ans ! La publication de Ram *et al.* permet, toutefois, d'envisager comment améliorer une technique dont l'échec, contrairement à bien d'autres, était très loin d'être annoncé.

Une bonne idée

L'aventure avait en effet été lancée sous les meilleurs auspices en 1992. A l'époque *m/s* avait, comme beaucoup d'autres, salué (*m/s* n° 7, vol. 8, p. 728) la réussite « spectaculaire » des travaux expérimentaux menés par Kenneth Culver et Michael Blaese [2]. De fait, l'article de ces auteurs montrait l'élimination totale d'une tumeur implantée dans le cerveau d'une souris mais, surtout, la technique paraissait idéale dans sa simplicité et son efficacité théorique (*figure 1*). La thymidine-kinase du virus herpès HSV-1 est capable de phosphoryler un substrat fourni par le ganciclovir lorsque celui-ci atteint les cellules qui possèdent l'activité enzymatique. Le ganciclovir monophosphate devient ensuite un faux nucléotide (triphosphate) du fait de l'action d'enzymes cellulaires normales et il est capable de s'intégrer dans une chaîne d'ADN lors de la réplication. Cette intégration (en de multiples points) provoque la faillite de la réplication et la mort de la cellule. Apporter le gène

tk d'HSV-1 à des cellules en prolifération et traiter secondairement l'organisme par le ganciclovir doit donc provoquer, de façon sélective, la mort de ces cellules (d'où le nom de « gène-suicide »). La transduction spécifique de cellules en prolifération, tumorales, au milieu d'un parenchyme essentiellement constitué de cellules postmitotiques, comme le cerveau, peut être réalisée en utilisant des vecteurs rétroviraux dérivés du rétrovirus de Moloney, puisque ces virus ne peuvent infecter valablement que des cellules répliquatives. L'injection intratumorale de rétrovirus-*tk*, par voie neurochirurgicale, suivie de l'administration de ganciclovir par voie générale, devait donc avoir des effets bénéfiques. Du fait du faible titre des surnageants rétroviraux, l'injection intratumorale de cellules productrices de rétrovirus (CPR) était privilégiée, mais l'idée restait la même. Et il s'agissait à l'évidence d'une bonne idée puisque la technique tue les cellules transduites mais également, par ce que l'on appelle un effet *by-stander*, les cellules répliquatives voisines [3].

Des résultats quasi nuls chez l'homme

Les résultats présentés par Oldfield et ses collègues sur leur série de 15 patients atteints de diverses tumeurs du cerveau – dont 9 glioblastomes – ne laissent pourtant planer aucun doute : l'essai se conclut par un échec quasi complet. Aucun résultat, ni clinique ni même radiologique (réduction de la taille de la tumeur), n'a été enregistré chez 10 patients. Seuls 5 patients – qui présentaient avant traitement

une tumeur de petit volume – ont bénéficié d'une réduction transitoire allant jusqu'à 50 % de la taille de la tumeur, quelques semaines après le début du traitement au ganciclovir. Un seul patient a présenté une réduction tumorale, apparemment complète, stable sur plusieurs années. Malheureusement, des hémorragies intratumorales concomitantes au traitement ont provoqué, chez ce patient, une hémiplégié et des crises d'épilepsie qui demeurent intraitables.

Chez deux patients, des tumeurs ont été réséquées une semaine après injection de CPR (sans traitement au ganciclovir), permettant une analyse histologique. Alors que la réaction macrophagique et immunitaire était très faible – malgré le caractère xénogénique des CPR, qui proviennent de souris – très peu de cellules contenant de la thymidine kinase ont pu être retrouvées, qu'il s'agisse de CPR implantées ou de cellules tumorales transduites. Ces cellules, dont le nombre n'est pas précisé mais dont les images permettent de conclure qu'elles n'étaient que quelques centaines par site, n'étaient localisées qu'autour de trajets d'aiguille, pas dans la masse tumorale.

Au total, les auteurs concluent à une transduction très limitée de cellules tumorales, aboutissant à un effet clinique pour le moins très insuffisant, et en déduisent que de nouvelles techniques d'administration du gène thérapeutique doivent être développées.

Des perspectives qui restent totalement ouvertes

Ces résultats mettent-ils réellement en cause la stratégie du gène suicide

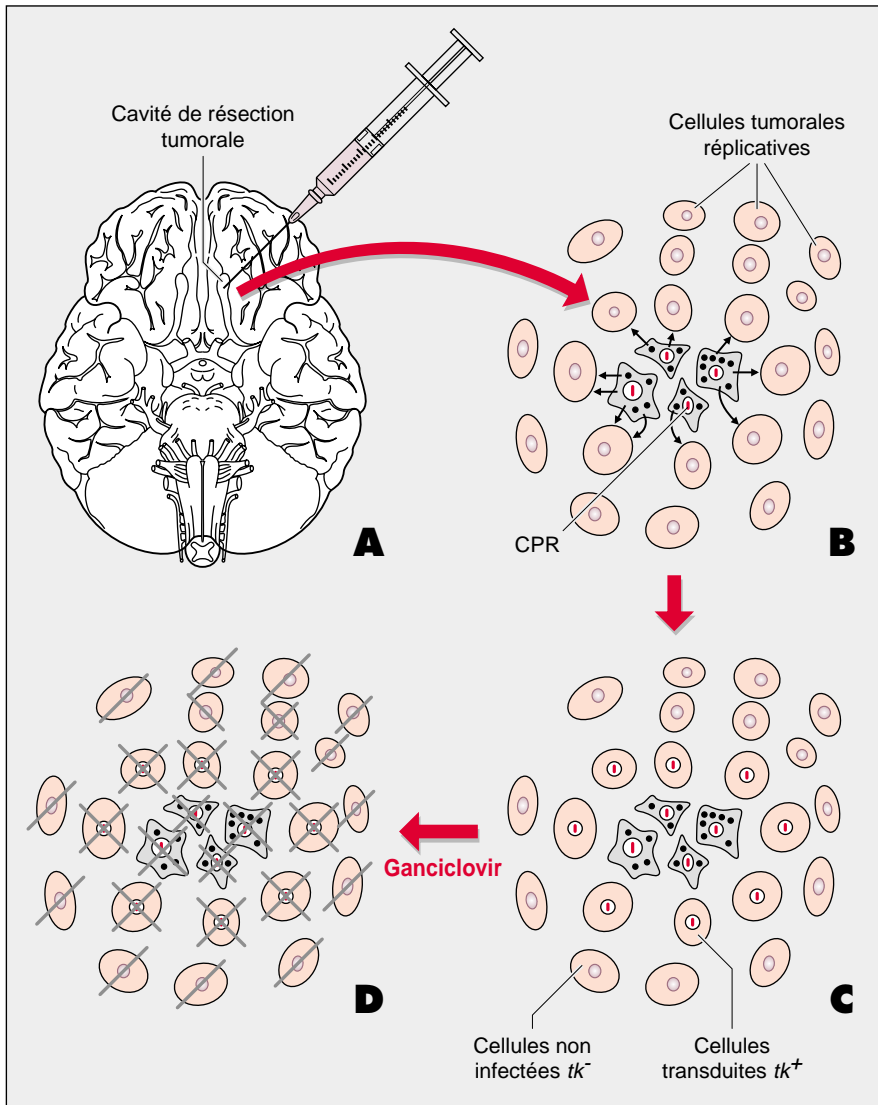


Figure 1. **Principe de la technique du gène suicide utilisée par Ram et al. [1].** **A.** Des cellules productrices de rétrovirus-tk (CPR, au cytoplasme gris) sont injectées dans la paroi d'une cavité de résection tumorale (en 50 trajets différents). **B.** Ces CPR produisent des vecteurs rétroviraux recombinants qui doivent introduire le gène tk (en rouge) dans le génome des cellules tumorales répliquatives du voisinage, aboutissant à trois groupes concentriques (**C**) de CPR, de cellules tumorales transduites $tk^{(+)}$, de cellules tumorales non transduites $tk^{(-)}$. **D.** L'administration de ganciclovir par voie générale provoquerait alors la destruction directe (X) des cellules $tk^{(+)}$ (CPR et cellules tumorales transduites) et indirecte (/) de cellules $tk^{(-)}$ atteintes par effet by-stander.

dans le traitement du glioblastome? Pour cela, il aurait fallu que la méthodologie utilisée dans l'essai soit parfaitement validée, que soient démontrées, au moins, la survie au long cours – et la production de rétrovirus – d'un nombre conséquent de CPR, ainsi que la biodisponibilité intracérébrale du ganciclovir. Ces deux questions auraient pu être abor-

dées expérimentalement, chez le chien ou le singe par exemple pour se rapprocher des conditions cliniques.

Or, si la biodisponibilité du ganciclovir reste à déterminer, il y a de sérieux doutes quant à la survie, même très transitoire, d'un nombre autre que négligeable de CPR chez ces patients. La technique d'injection

paraît en effet totalement inadaptée. Le chirurgien a effectué 50 trajets différents, déposant à chaque fois à peu près 200 μ l d'une suspension contenant 10^5 cellules par μ l. Chaque injection de 200 μ l n'a pu, dans ces conditions, durer plus de 1 à 2 minutes. Vingt millions de cellules ainsi propulsées contre la paroi d'un trajet d'aiguille sont-elles capables de survivre? En tout cas, elles ne sont pas capables de rester là où on les injecte puisque les auteurs reconnaissent avoir « invariablement » observé un reflux de la suspension au niveau de la surface cérébrale. Entre la nécrose cellulaire au site d'injection et le reflux hors du cerveau, combien restait-il de cellules potentiellement efficaces pour produire le vecteur? Très peu, disent les auteurs. Trop peu pour conclure, peut-on ajouter sans grand risque de se tromper. En se précipitant de la souris à l'homme il y a 5 ans, Michael Blaese, Edward Oldfield et leurs collègues avaient pris le risque de sauter les étapes expérimentales nécessaires à la mise au point, ne serait-ce que technique, de l'approche du glioblastome par thérapie génique suicide. Il ne faudrait pas qu'aujourd'hui, jetant le bébé avec l'eau de la baignoire, ils n'aboutissent à faire rejeter une idée qu'ils n'ont pas, selon toute vraisemblance, correctement mise en œuvre. Cinq ans après, il faut sans doute reprendre le chemin de l'expérimentation animale pour mettre au point, scientifiquement, un nouvel essai clinique, d'une qualité suffisante cette fois, pour répondre à la question posée : peut-on lutter contre le glioblastome par « thérapie génique suicide »?

M.P.

1. Ram Z, Culver KW, Oshiro EM, Viola JJ, DeVroom HL, Otto E, Long Z, Chiang Y, McGarity GJ, Muul LM, Katz D, Blaese RM, Oldfield EH. Therapy of malignant brain tumors by intratumoral implantation of retroviral vector-producing cells. *Nat Med* 1997; 3 : 1354-60.
2. Culver KW, Ram Z, Wallbridge S, Ishii H, Oldfield EH, Blaese RM. *In vivo* gene transfer with retroviral vector-producing cells for treatment of experimental brain tumors. *Science* 1992; 256: 1550-2.
3. Kianmanesh AR, Perrin H, Panis Y, Fabre M, Nagy HJ, Houssin D, Klatzmann D. A « distant » bystander effect of suicide gene therapy: regression of nontransduced tumors together with a distant transduced tumor. *Hum Gene Ther* 1997; 15: 1807-14.