

Tyrosine hydroxylase : trois vecteurs viraux pour un gène

La maladie de Parkinson, même si elle ne s'y résume pas, est caractérisée par une diminution de l'apport en dopamine dans les ganglions de la base du cerveau. Compenser cette déficience est, depuis près de trente ans, l'objectif prioritaire des thérapies anti-parkinsoniennes. La dopamine étant beaucoup trop instable pour être utilisée directement, c'est son précurseur, la L-dopa, que l'on administre aux patients. L'apport de L-dopa par voie orale est un excellent traitement, dont bénéficient tous les malades pendant de nombreuses années, mais il s'accompagne, après un certain temps, de manifestations secondaires – dyskinésies, fluctuations – alors même que l'on doit augmenter les doses pour conserver une efficacité thérapeutique sur les symptômes *princeps*, l'akinésie, la bradykinésie et la rigidité. Cette course en avant s'accélérate, l'état général des patients s'aggrave et, si l'on ne peut pas vraiment dire qu'il y a échappement puisque la L-dopa est encore efficace, l'évolution de la maladie et les troubles iatrogènes rendent le traitement de moins en moins adéquat. D'autres thérapeutiques doivent alors être envisagées.

L'idée d'apporter la dopamine non pas par voie générale mais directement dans les structures cérébrales dans lesquelles elle fait défaut est ancienne. Elle découle en grande partie d'études pharmacologiques qui démontrent que 1 % au plus de la L-dopa ingérée passe la barrière hémato-encéphalique et, par conséquent, peut être valablement transformée en dopamine dans le cerveau. Les greffes intrastriales de neurones fœtaux sont, à ce jour, la traduction la plus achevée – puisque déjà au stade de l'essai clinique – de cette idée (*m/s* n° 6, vol. 8, p. 601).

Une autre façon potentielle d'apporter de la Dopa dans le cerveau est le transfert du gène de la tyrosine hydroxylase (*figure 1*). La transfection de cellules très diverses en culture primaire, comme les fibroblastes [1] ou les myoblastes [2], ou de lignées cellulaires [3] a, ces dernières années, démontré la faisabilité d'une approche de « thérapie génique indirecte ». L'implantation de cellules transfectées dans le striatum privé préalablement de son innervation dopaminergique par injection d'une neurotoxine, s'est révélée capable de réduire les déficits fonctionnels chez des rats, notamment sur le test le plus simple qui soit utilisé, la rotation

induite par injection d'apomorphine (un agoniste dopaminergique). Il n'a pas, toutefois, été possible jusque-là de définir les conditions d'un passage à la clinique. Les lignées cellulaires semblent exclues en raison des risques prolifératifs ; les fibroblastes et les myoblastes survivent mal ou n'expriment que transitoirement le transgène.

Le développement récent de vecteurs viraux capables d'introduire un gène dans des cellules post-mitotiques – comme le sont la plupart des cellules dans le parenchyme cérébral – a ouvert une autre piste que viennent de suivre, à l'aide de trois vecteurs viraux différents, l'équipe de Mat Doring (Yale, CT, USA) [4, 5] et celle de Philippe Horellou (CNRS, Gif-sur-Yvette) [6]. Mat Doring et deux groupes de collaborateurs publient, presque simultanément, les résultats obtenus à l'aide de vecteurs dérivés de l'*adeno-associated virus* (AAV) et du virus *herpes simplex* (HSV-1). Philippe Horellou et ses collègues présentent, eux, des expériences réalisées avec un vecteur adénoviral.

Les résultats fonctionnels les plus convaincants semblent être ceux obtenus avec HSV-1, tant en ce qui concerne la durée d'action (jusqu'à un an alors que l'AAV a été testé jusqu'à dix semaines et l'adénovirus jusqu'à deux) que son ampleur (60 % de baisse du nombre de rotations contre 30 % pour les deux autres). Il est intéressant de signaler que les données neuroanatomiques permettant d'évaluer l'efficacité de la transfection et son innocuité sont peu fournies dans les trois articles mais que, en ce qui concerne l'AAV, une étude en PCR-*in situ* – technique fort appropriée – démontre la présence du transgène, au moins chez les animaux témoins infectés (comme c'est le cas dans toutes ces études), à l'aide

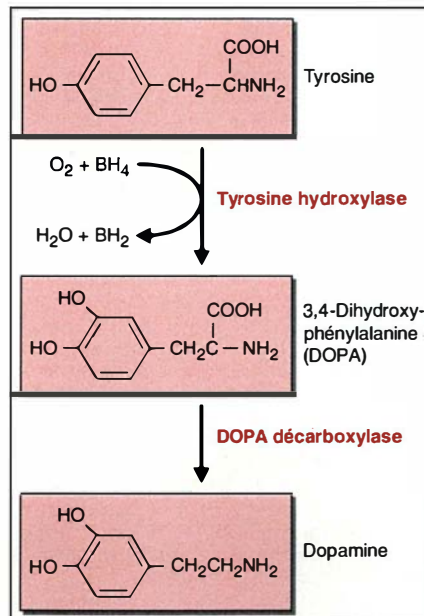


Figure 1. **Chaîne de biosynthèse de la dopamine.** La tyrosine hydroxylase est l'enzyme limitante de la réaction. La L-dopa doit être transformée ensuite dans les cellules grâce à l'action de la dopa-décarboxylase.

d'un vecteur recombinant pour le gène marqueur *lacZ* d'*E. coli*.

Au total, les trois vecteurs utilisés semblent capables d'introduire le gène de la tyrosine hydroxylase dans des cellules du parenchyme cérébral, en particulier dans des neurones. Plusieurs aspects de ces études tendent, toutefois, à limiter les enthousiasmes. Dans aucun des trois travaux, le nombre de cellules exprimant le transgène n'a dépassé quelques centaines – voire quelques dizaines – malgré des titres viraux élevés et des volumes injectés conséquents. Comme cela avait été noté précédemment [7], la diffusion intracérébrale de vecteurs viraux est très limitée et, l'accroissement des volumes et des titres augmentant le risque de pathogénicité, l'amélioration des techniques pourrait être difficile. Une seconde interrogation naît des résultats fonctionnels obtenus. Le test de rotation par apomorphine est connu pour sa grande sensibilité à toute modification du fonctionnement striatal. Créée par l'existence d'une hypersensibilité de

nergiques, la rotation peut en effet être simplement abaissée par... l'élimination (fonctionnelle ou totale) des neurones striataux qui portent ces récepteurs. Des diminutions « significatives » peuvent être observées dans des lots d'animaux subissant des lésions striatales, même très partielles, et la variabilité interindividuelle est bien connue des expérimentateurs. En l'absence, dans les trois publications, d'analyses approfondies des effets lésionnels et même dysfonctionnels des infections, il faut sans doute rester prudent.

Il n'en reste pas moins que ces trois publications montrent, s'il en était besoin, que les travaux visant à l'utilisation thérapeutique du transfert de gènes contre les maladies neurodégénératives vont bon train. Les vecteurs s'améliorent, devenant plus efficaces, moins pathogènes, éventuellement plus diffusibles, les études préliminaires publiées aujourd'hui devraient vite laisser la place à des travaux beaucoup plus proches d'une perspective d'application clinique.

M.P.

1. Fisher LJ, Jinnah HA, Kale LC, Higgins GA, Gage FH. Survival and function of intrastrially grafted primary fibroblasts genetically modified to produce L-dopa. *Neuron* 1991 ; 6 : 371-80.

2. Jiao S, Gurevich V, Wolff JA. Long-term correction of rat model of Parkinson's disease by gene therapy. *Nature* 1993 ; 362 : 450-3.

3. Horellou P, Brundin P, Kalen P, Mallet J, Björklund A. *In vivo* release of DOPA and dopamine from genetically engineered cells grafted to the denervated rat striatum. *Neuron* 1990 ; 5 : 393-402.

4. During MJ, Naegele JR, O'Malley KL, Geller AI. Long-term behavioral recovery in Parkinsonian rats by an HSV vector expressing tyrosine hydroxylase. *Science* 1994 ; 266 : 1399-403.

5. Kaplitt MG, Leone P, Samliski RJ, Xiao X, Pfuff DW, O'Malley KL, During MJ. Long-term gene expression and phenotypic correction using adeno-associated virus vectors in the mammalian brain. *Nature Genet* 1994, 8 : 148-54.

6. Horellou P, Vigne E, Castel MN, Barnéoud P, Colin P, Perricaudet M, Delaere P, Mallet J. Direct intracerebral gene transfer of an adenoviral vector expressing tyrosine hydroxylase in a rat model of Parkinson's disease. *Neuro Report* 1994 ; 6 : 49-53.

7. Akli S, Caillaud C, Vigne E, Stratford-Perricaudet LD, Poenaru L, Perricaudet M, Kahn A, Pechanski M. Transfer of foreign genes into the brain using adenovirus vectors. *Nature Genet* 1993 ; 3 : 224-8.

■■■ BRÈVE ■■■

■■■ **Combiner greffes de neurones fœtaux et thérapeutique neurotrophique, pourquoi pas ?** C'est ce que proposent Rusty Gage et ses collègues de l'UCSD (San Diego, USA) [1] en reprenant à leur manière l'étude des effets du bFGF (*basic fibroblast growth factor*) sur des neurones dopaminergiques transplantés, quelques années après que les équipes de Steve Dunnett [2] et de Harry Steinbusch [3] ont rendu sur le même sujet des résultats positifs mais un peu décevants. L'idée est simple : les neurones greffés sont placés dans un milieu difficile, pourquoi ne pas les aider en leur apportant un facteur trophique à l'efficacité démontrée *in vitro* sur la population neuronale concernée ? Pour apporter le facteur, Gage

et son groupe ont un outil développé depuis des années, le fibroblaste transfecté. En co-greffant neurones et fibroblastes, on peut espérer que les seconds protégeront les premiers. C'est ce que concluent les auteurs [1], mais sur la base d'une étude qui pose sans doute plus de problèmes qu'elle n'en résoud. Premier de ces problèmes, la survie des neurones greffés est, dans les conditions contrôlées, très anormalement basse et n'aboutit pas à la récupération fonctionnelle que des centaines de travaux ont observée depuis quinze ans. Second problème, aussi gênant, les fibroblastes transfectés efficaces ne sont pas ceux qui produisent le bFGF rendu sécrétable par adjonction du peptide signal de NGF (*nerve growth factor*) mais ceux

qui produisent un bFGF non sécrétable. Y a-t-il vraiment alors effet neurotrophique du bFGF ? Enfin, rien n'est montré ni dit de la survie des fibroblastes... Il est sans doute encore trop tôt au vu de ces résultats un peu troublants, et sachant que deux équipes avaient précédemment noté d'autres faits qui l'étaient aussi, pour affirmer – comme le fait la « une » de *Nature Medicine* – qu'il s'agirait là de « meilleurs transplants pour le traitement de la maladie de Parkinson ».

[1. Takayama H, *et al.* *Nature Med* 1995 ; 1 : 53-8.]

[2. Mayer E, *et al.* *Neuroscience* 1993 ; 56 : 389-98.]

[3. Steinbusch HWM, *et al.* *Prog Brain Res* 1990 ; 82 : 81-6.]