

■■■■ **Thérapie génique et avantage sélectif des hépatocytes corrigés.**

Nous avons rapporté dans *médecine/sciences* les résultats expérimentaux obtenus par l'équipe de Ralph Brinster (Philadelphie, PA, USA) montrant que des hépatocytes transgéniques exprimant le gène d'urokinase pouvaient être totalement remplacés par des hépatocytes transplantés, syngéniques (*m/s*, n° 5, vol. 10, p. 597) ou xénogéniques (*m/s*, n° 8, vol. 11, p. 1180). C'est ce même principe qui est en œuvre dans les remarquables résultats obtenus par Overturf *et al.*, de l'équipe M. Grompe (Portland, OR, USA). Ces auteurs étaient parvenus, en 1993, à obtenir des souris déficientes en fumarylacétoacétate hydrolase, l'enzyme responsable de la tyrosinémie de type I. Ce déficit enzymatique provoque chez l'homme une maladie hépatique extrêmement sévère avec régénération permanente et, constamment, développement d'un hépatocarcinome. Parfois, des nodules de régénération sans déficit enzymatique ont été observés chez des malades, nodules au niveau desquels une inversion de la mutation responsable du déficit

pouvait être observée. Les souris déficientes, quant à elles, meurent dans la période périnatale, notamment par impossibilité d'activer leur gluconéogenèse, ce qui est une des caractéristiques de la mutation létale albino de la souris, dont l'essentiel des troubles semble être dû à la délétion du gène *Fah*, codant pour l'enzyme. Cependant, une équipe scandinave avait montré, en 1992, qu'un produit, le NTBC, était capable de transformer le pronostic des malades atteints de tyrosinémie de type I, en évitant l'accumulation du métabolite le plus toxique (*m/s* n° 10, vol. 8, p. 1111). L'équipe de Grompe a donc administré ce produit NTBC aux souris homozygotes pour l'inactivation des allèles du gène *Fah*, leur permettant d'atteindre l'âge adulte. A ce moment, cependant, les animaux développent inévitablement un hépatocarcinome [1]. Dans l'étude publiée en mars dans *Nature Genetics*, les auteurs greffent à des souris *Fah*-traitées par le NTBC des hépatocytes normaux, c'est-à-dire n'ayant pas le déficit de l'activité de la fumarylacétoacétate hydrolase. Après arrêt du NTBC, ces hépatocytes greffés ont un

tel avantage sélectif sur les hépatocytes déficients qu'ils les remplacent progressivement, recolonisant pratiquement le foie de cellules à activité enzymatique normale. Le même résultat peut être obtenu après injection de rétrovirus recombinant véhiculant le gène *Fah* dans le foie [2]. Ces résultats sont très enthousiasmants puisqu'ils permettent d'envisager, de façon crédible, de traiter les petits malades atteints de tyrosinémie de type I, soit par thérapie génique à l'aide de vecteurs assurant une expression stable, tel les rétrovirus, ou bien par greffe d'hépatocytes allogéniques compatibles. Plus généralement, ces résultats montrent que la thérapie génique des maladies hépatiques, ou par l'intermédiaire des hépatocytes, pourrait être envisageable s'il était possible de conférer aux hépatocytes corrigés un avantage sélectif important vis-à-vis d'un toxique auquel seraient résistants les hépatocytes corrigés.

[1. Grompe C, *et al.* *Nature Genet* 1995 ; 10 : 453-60.]

[2. Overturf K, *et al.* *Nature Genet* 1996 ; 266 : 73.]

FLASH

LA MICROCHIRURGIE GÉNIQUE FAIT DES PROGRÈS : L'OLIGONUCLÉOTIDE MAGIQUE

Mars 1996 pourrait être à marquer d'une pierre blanche dans l'histoire de la génétique : une équipe américaine de Philadelphie (PA) vient de trouver un moyen de réparer, avec une apparente simplicité et une très grande efficacité, des mutations ponctuelles. K. Yoon *et al.*, de l'équipe d'Eric B. Kmieciak ont publié en effet dans le numéro de mars des *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA* une méthode de correction ciblée de l'ADN semblant d'une étonnante efficacité. La méthode consiste à synthétiser un oligonucléotide double-brin aux deux extrémités bloquées par une coiffe covalente de quatre résidus T, formant par conséquent de petites boucles aux extrémités de la tige double-brin [1]. Cette molécule d'une trentaine de paires de nucléotides diffère des oligonucléotides en haltère décrits par Martha Blumenfeld et Marc Vasseur [2] dans ces colonnes car l'un des brins est de l'ADN alors que l'autre brin est un hybride entre de l'ARN modifié par addition de résidus 2'-O-méthyles et un court segment d'ADN encadrant le mésappariement à corriger. Cette modification rend l'hybride ARN-ADN résistant à l'activité ribonucléase H présente dans les cellules de mammifères. L'oligonucléotide est identique à la

région à corriger ou à modifier, sauf au niveau de la paire de bases que l'on désire muter. Dans une première expérience, les auteurs ont testé cette méthode sur une phosphatase alcaline rendue inactive par une mutation ponctuelle, codée par un ADNc plasmidique. L'incubation des cellules avec la molécule chimérique correctrice portant la séquence de la phosphatase alcaline active permet de corriger la mutation inactivatrice dans 30 % des molécules d'ADN complémentaires ! D'autres papiers sont annoncés, dans lesquels les auteurs montrent que des résultats presque aussi brillants pouvaient être obtenus sur des mutations ponctuelles de gènes en position normale dans l'ADN chromosomique. Les mécanismes de ces extraordinaires résultats ne sont pas clairs. Il est probable que l'hybride ADN-ARN peut interagir avec une très forte affinité avec la région équivalente de l'ADN double-brin et, probablement, permettre de déplacer les deux brins de la séquence à corriger qui pourraient hybrider avec les deux brins de la molécule chimérique réparatrice. Les systèmes de réparation cellulaire pourraient alors corriger le mésappariement, dans l'un ou l'autre sens (c'est-à-dire en transformant les bases mésappariées de la séquence génomique en celles de la molécule réparatrice, ou l'inverse). Les perspectives de cette découverte promettent d'être innombrables. Tout d'abord, toutes les

expériences de mutagenèse pratiquée dans des milliers de laboratoires à travers le monde risquent d'en être facilitées. Ensuite, et surtout, une nouvelle ère enthousiasmante est ouverte pour tenter de corriger les maladies génétiques monogéniques dues à des mutations ponctuelles ou, au moins, limitées. La méthode devrait tout d'abord trouver à s'appliquer dans des conditions *ex vivo* de cellules qui seront ensuite retransplantées aux malades. In vivo, l'efficacité de cette méthode pourrait être longtemps limitée par les difficiles problèmes d'insuffisance de bio-disponibilité de ce type de molécule oligonucléotidique. Cependant, nul doute que l'importance de l'enjeu (maladies génétiques, cancers avec mutation activatrice des gènes RAS, etc.) décuplera l'ingéniosité des spécialistes de la vectorisation et de la gallénique. Dans l'immédiat, cette méthode pourrait trouver à s'appliquer dans le traitement de maladies génétiques dans lesquelles la correction est susceptible d'entraîner un énorme avantage aux cellules corrigées par rapport aux cellules anormales. Disant cela, nous pensons naturellement immédiatement à la tyrosinémie de type I. [1. Yoon K. *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA* 1996 ; 93 : 2071-6.] [2. Blumenfeld M, Vasseur M. *médecine/sciences* 1994 ; 10 : 274-81.]

A.K.