

## L'anémie de Fanconi, maladie candidate à la thérapie génique

L'anémie de Fanconi (FA) est une maladie génétique autosomique récessive définie longtemps par des caractères cliniques, insuffisance médullaire progressive et prédisposition à la leucémie aiguë myéloblastique. Les études biologiques récentes ont démontré le rôle majeur dans cette maladie d'un défaut de réparation de l'ADN [1]. Les lignées cellulaires issues des malades présentent un nombre anormalement élevé d'aberrations chromosomiques spontanées, tendance qu'accentue l'action d'agents pontants tels que la mitomycine C (MMC) ou le diepoxybutane. La fragilité chromosomique se traduit aussi par le ralentissement du cycle cellulaire en phase G2 et la mort accélérée des cellules. Quatre groupes génétiques de complémentation, A, B, C et D, ont été identifiés, dont l'un des gènes en cause, le gène *FACC* (groupe de complémentation C de l'anémie de Fanconi), a été localisé sur le chromosome 9, cloné et séquencé. Des mutations de ce gène ont été identifiées chez environ 15 % des malades atteints de FA. Puisque l'ADNc de ce gène corrige le défaut phénotypique des cellules et permet leur croissance normale en présence de MMC, le transfert du gène devrait conférer aux cellules ainsi corrigées un avantage sélectif de survie ; l'anémie de Fanconi semble se présenter comme candidat idéal pour une thérapie génique.

L'essai en a été fait, sur des lymphoblastes immortalisés puis sur des cellules hématopoïétiques progénitrices, en utilisant comme vecteur un AAV recombinant (*adeno-associated virus*). Il s'agit d'un parvovirus simple

brin, dénué de propriétés répliquatives par lui-même, non pathogène, susceptible d'intégration dans pratiquement toutes les cellules, de façon préférentielle dans un *locus* situé sur le chromosome 19q. La capacité de ce vecteur de transférer un gène de globine humaine dans des cellules K562 a été démontrée [2] ainsi que sa capacité de s'intégrer dans des cellules progénitrices [3]. Dans le cas présent, deux séries d'expériences ont été réalisées dans l'équipe de A.W. Nienhuis [4].

Des lymphoblastes de patients FA, chez lesquels une mutation du gène *FACC* avait été identifiée, ont été infectés par un AAV recombinant contenant l'ADNc du gène *FACC* (rAAV/*FACC*) et un marqueur *NeoR*, permettant la sélection par le G418 des cellules infectées. La correction du défaut phénotypique a été évaluée par comparaison des lymphoblastes infectés et non infectés, ainsi que d'une lignée lymphoblastique normale. On a ainsi comparé la résistance aux agents pontants (MMC), la proportion de cassures chromosomiques spontanées, le pourcentage de cellules arrêtées dans les différentes phases du cycle cellulaire. Tous ces paramètres se trouvaient ramenés à la normale. Au niveau moléculaire, l'intégration du provirus a été contrôlée par *Southern blot*. On a aussi pu vérifier par PCR la présence d'ARNm du gène transduit et, par immunoprécipitation, la synthèse de la protéine correspondante.

Le transfert, puis l'expression dans des cellules progénitrices, ont été expérimentés sur des cellules CD34<sup>+</sup> des mêmes sujets, obtenues sur trieur

de cellules à partir de sang périphérique. Ces cellules ont été incubées avec le rAAV/*FACC*/*NeoR* et leur croissance comparée à la croissance spontanée des mêmes cellules non traitées, après contrôle d'une transduction effective du *FACC*. On constate que la culture des cellules transduites donne lieu à un nombre de colonies environ quatre fois supérieur à celui des cellules non transduites, différence qui s'amplifie en présence de MMC jusqu'à une augmentation de huit à dix fois. Cette croissance semble bien due à l'expression d'un gène normal dans une cellule par ailleurs défectueuse à laquelle elle assure une survie préférentielle. Elle suggérerait donc que l'anémie de Fanconi est effectivement un désordre de la cellule primitive et qu'on peut corriger ce désordre.

D.L.

1. Moustacchi E. Biologie cellulaire et moléculaire de l'anémie de Fanconi. *médecine/sciences* 1994 ; 10 : 979-85.

2. Walsh CE, Liu JM, Xiao X, Young NS, Nienhuis AW, Samulski RJ. Regulated high level expression of a human  $\gamma$ -globin gene introduced into erythroid cells by an adeno-associated virus vector. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992 ; 89 : 7257-61.

3. Goodman S, Xiao X, Donahue RE, Moulton A, Miller J, Walsh C, Young NS, Samulski RJ, Nienhuis AW. Recombinant adeno-associated virus-mediated gene transfer into hematopoietic progenitor cells. *Blood* 1994 ; 84 : 1492-500.

4. Walsh CE, Nienhuis AW, Samulski RJ, Brown MG, Miller JL, Young NS, Liu JM. Phenotypic correction of Fanconi anemia in human hematopoietic cells with a recombinant adeno-associated virus vector. *J Clin Invest* 1994 ; 94 : 1440-8.