

## Une nouvelle méthode de thérapeutique génique : implantation de fibroblastes transfectés

L'espoir de guérir les maladies héréditaires monogéniques par apport du gène déficient n'est plus une utopie. Comme il n'est pas possible actuellement d'envisager chez l'homme une thérapeutique de la lignée germinale, on s'adresse à l'apport de cellules normales, susceptibles de se multiplier chez le receveur. Pour éviter les réactions immunologiques, on tente d'insérer le gène actif dans les cellules prélevées sur le malade lui-même. La méthode la plus employée a été l'insertion d'un gène par l'intermédiaire d'un rétrovirus (voir *m/s* n° 10, vol. 2, p. 579). Ce sont le plus souvent les cellules de la moelle osseuse qui ont été ainsi transformées. Il a été cependant possible de « guérir » in vitro des fibroblastes déficients en glucocéroside [1]. Par ailleurs, une thérapeutique par injection de fibroblastes normaux à des sujets déficients en enzymes des lysosomes a déjà été tentée [2]. Les fibroblastes se prêtent donc bien à des essais de traitement géniques, in vitro comme in vivo. Il est bien évident que les essais in vivo utilisant des cellules transformées n'en sont actuellement qu'au stade de l'expérimentation animale.

La méthode de transfert de gènes à l'aide de rétrovirus est soumise à des dangers, au moins potentiels [3]. C'est pourquoi une alternative a été proposée par une équipe de Boston [4]. Ils ont utilisé des fibroblastes de la lignée L6 de souris déficiente en thymidine kinase, qu'ils ont cotransfectés avec deux plasmides : l'un contenait un gène de fusion formé du promoteur de la métallothionéine de souris et du gène de croissance

de souris ; l'autre contenait le gène thymidine kinase de l'herpès, permettant de sélectionner les cellules transfectées par leur aptitude à synthétiser une thymidine kinase active. Les cellules résistantes ont été injectées à des souris C3H, souche dont la lignée L6 est issue ; le test était le dosage de l'hormone de croissance dans le sérum. Chez neuf souris, un pic fut observé entre trois et sept jours, puis le taux diminua et l'activité disparut en 15 jours. La production était stimulée (multipliée par 10) par la prise de zinc, auquel on sait que le promoteur de la métallothionéine est sensible [5].

Ces expériences montraient que des fibroblastes transplantés exprimaient un gène de fusion transfecté, mais de façon très transitoire. Comme la lignée L6 est établie depuis longtemps, il était vraisemblable qu'elle s'était modifiée assez pour donner naissance à des réactions immunologiques. De fait, une combinaison de dexaméthasone et d'antisérum anti-thymocytes de souris a permis de maintenir un taux élevé d'hormone de croissance pendant trois mois.

Les auteurs ont appelé leur méthode « implantation transcaryotique », parce que les noyaux des cellules donneuses ont été modifiés par transfection. Elle a, sur le système à rétrovirus, l'avantage d'obtenir par sélection une population homogène de cellules, portant uniformément le gène souhaité. Dans cette étude préliminaire, le fait que la lignée utilisée s'était modifiée par rapport à la souche d'origine a suscité des problèmes immunologiques. Les essais ultérieurs devront partir de fibroblastes du receveur (des sou-

ris aujourd'hui... des hommes demain ?) qui ne devraient plus déclencher de réaction de rejet. Reste que les fibroblastes, s'ils ne sont pas immortalisés, ont un potentiel de multiplication et peut-être de survie limité. Toutefois, dans ce domaine comme dans d'autres, le dernier mot n'est pas dit : un article récent [6] montre que, dans certaines conditions de culture, des cellules d'embryons de souris peuvent se multiplier sans sénescence.

Enfin, dans ce travail, l'utilisation de l'hormone de croissance comme marqueur a permis une observation intéressante : au-dessus de 400 ng/ml, l'hormone est mal tolérée alors que les souris transgéniques supportent aisément de tels taux, sans doute parce qu'elles sont soumises à l'hormone dès le début du développement.

J.-C. D.

1. Sorge J, Kuhl W, West C, Beutler E. Complete correction of the enzymatic defect of type I Gaucher disease fibroblasts by retroviral-mediated gene transfer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987 ; 84 : 906-9.
2. Dean MF, Stevens RL, Muir H, et al. Enzyme replacement therapy by fibroblast transplantation. *J Clin Invest* 1979 ; 63 : 138-45.
3. Hock RA, Miller AD. Retrovirus mediated transfer and expression of drug resistance genes in human haematopoietic progenitor cells. *Nature* 1986 ; 320 : 275-7.
4. Selden RF, Skoskiewicz MJ, Howie KB, Russell PS, Goodman H. Implantation of genetically engineered fibroblasts into mice : implications for gene therapy. *Science* 1987 ; 236 : 714-8.
5. Searle PF, Stuart GW, Palmiter RD. Building a metal-responsive promoter with synthetic regulatory elements. *Mol Cell Biol* 1985 ; 5 : 1480-8.
6. Loo DT, Fuquay JL, Rawson CL, Barnes DW. Extended culture of mouse embryo cells without senescence : inhibition by serum. *Science* 1987 ; 236 : 200-2.