

Xénotransplantations intracérébrales : un premier échec... qui ne doit pas cacher l'intérêt du protocole

La société de biotechnologie Diacrin (MA, USA) s'est lancée depuis deux ans dans une aventure clinique qui, à première vue, pourrait faire hurler au scandale les spécialistes de la transplantation. En collaboration avec le laboratoire de Ole Isacson (*Harvard Medical School*, MA, USA) et la Lahey Clinic de Boston (MA, USA), elle a en effet entrepris des xénotransplantations chez deux séries de 12 malades. La lecture d'un numéro récent de *médecine/sciences* était pourtant parfaitement claire sur le terrain qui reste à parcourir avant de se lancer dans la xénotransplantation clinique [1]. Il y manquait toutefois un codicille car, sans parler de très nombreuses études réalisées sur des xéno greffes entre espèces concordantes, on sait réaliser depuis 10 ans [2, 3] des xénotransplantations cellulaires parfaitement viables entre espèces non concordantes... dans le cerveau. Il suffit pour cela d'une dose efficace d'immunosuppresseur, en général de la ciclosporine A.

La raison principale de cette « anomalie » tient vraisemblablement à l'organisation très spéciale du parenchyme cérébral du point de vue immunitaire [4], en dehors de situations lésionnelles. Le cerveau ne contient en effet pas de cellules dendritiques. Les cellules microgliales sont, certes, des macrophages résidents susceptibles de présenter les antigènes mais, en quiescence, elles n'expriment que très faiblement les gènes du CMH de classe I, pas ceux de classe II. Les neurones n'expriment pas du tout ces gènes *in vivo* et les cellules microgliales (astrocytes et oligodendrocytes) ne semblent pas le faire en dehors de situations de *stress* très particulières.

Il n'existe, par ailleurs, pas de drainage lymphatique propre au parenchyme cérébral. A ces particularités « internes » s'ajoutent l'existence de la barrière hémato-encéphalique, qui prévient l'entrée de nombreuses molécules (notamment des anticorps circulants et des facteurs du complément) et l'absence, à la membrane des cellules endothéliales des capillaires cérébraux, de signaux permettant aux cellules monocytaires et lymphocytaires circulantes d'entreprendre une diapedèse. Tout cela est certes relatif, et change très vite en situation pathologique, mais permet déjà d'envisager le cerveau comme un organe très particulièrement protégé du point de vue immunitaire, moins susceptible de rejeter un greffon que d'autres régions du corps.

De l'autre côté, le transplant lui-même est fait de tissu nerveux très immature (issu de fœtus très jeunes, 6 à 8 semaines de gestation par exemple en ce qui concerne les allogreffes humaines), dans lequel, notamment, les cellules microgliales et endothéliales sont très rares [5, 6]. Apparemment, ce tissu survit en outre pendant plusieurs semaines après l'implantation sans requérir la construction d'un réseau vasculaire, donc sans risquer d'être mis en présence d'éléments circulants de l'hôte. Il ne semble pas, toutefois, que ces caractéristiques des cellules greffées soient essentielles puisque l'on a pu greffer efficacement d'autres cellules, par exemple des cellules chromaffines bovines dans le cerveau de rats adultes [7] et des fibroblastes cutanés murins dans celui de singes [8], tout cela, toujours, sous immunosuppression à la ciclosporine A.

L'idée de transplanter des cellules nerveuses provenant de fœtus de porc dans le cerveau de patients atteints de maladie de Parkinson (n=12 dans la première série Diacrin) ou de maladie de Huntington (n=12 dans la seconde série Diacrin) était donc fondée sur un terrain scientifique assez solide. Il manquait toutefois, et il manque toujours, des résultats précis quant à la survie de cellules porcines chez des primates non humains. En dehors de l'intérêt financier qu'elles peuvent présenter à terme pour Diacrin, les objectifs de ces xénotransplantations sont loin d'être anecdotiques. Les lecteurs de *m/s* ont suivi, ces dernières années, les succès thérapeutiques enregistrés lors des essais d'allogreffes chez des patients parkinsoniens (*m/s* n° 5, vol. 8, p. 508 ; n° 1, vol. 9, p. 76 ; n° 9, vol. 11, p. 1351) [9]. Ces allogreffes se heurtent, toutefois, à deux obstacles majeurs. Le premier est d'ordre technique. Une allogreffe nécessite un apport en fœtus humains – provenant d'interruptions volontaires de grossesse – qui ne peut être envisagé que dans une collaboration étroite entre équipes neurochirurgicales et obstétricales. Elle requiert également la présence, en salle d'opération, d'un neurobiologiste capable de disséquer les régions d'intérêt dans le système nerveux central du fœtus. Tout cela réclame une organisation qui sort de l'ordinaire des services de neurochirurgie, même stéréotaxique. Le second obstacle est d'ordre social, voire légal. L'IVG n'est pas autorisée dans un certain nombre de pays, et elle n'est pas admise par des fractions de la population souvent militantes

dans de nombreux autres. La xéno-greffe est, de fait, une façon de contourner ces deux obstacles. Elle permettrait de fournir « industriellement » le tissu à greffer à des équipes neurochirurgicales et elle éviterait de heurter les sensibilités des opposants à l'IVG, ce qui, aux États-Unis où se déroulent ces essais, est certainement un argument de poids.

On ne peut donc être que profondément déçu des résultats de l'étude pathologique réalisée chez un des premiers patients parkinsoniens transplantés, décédé d'une maladie intercurrente près de 8 mois après la chirurgie [10]. Malgré un titre positif et accrocheur, repris en première page de *Nature Medicine*, et le ton très optimiste de l'article, les résultats ne correspondent pas aux attentes. Les auteurs n'ont en effet retrouvé dans le striatum du patient, en tout et pour tout, que 638 neurones immunoréactifs pour la tyrosine hydroxylase (TH), enzyme de synthèse des catécholamines, donc potentiellement dopaminergiques. Ces quelques centaines de neurones sont à comparer aux 90 000 à 130 000 neurones immunoréactifs pour la TH rapportés par une autre équipe [11] sur deux autopsies chez des patients qui avaient reçu des allogreffes. Ils sont également à rapprocher de ce que l'on attendait. Un total de 240 µl d'une suspension contenant 50 000 cellules/µl avait été injecté chez ce patient, soit 12 millions de cellules de porc. On compte grossièrement (cela dépend de l'âge du fœtus et de l'adresse du dissecteur) que 10 % de ces cellules sont dopaminergiques lorsque l'on prélève le mésencéphale ventral qui contient le locus niger, soit 1,2 millions de neurones dopaminergiques implantés. Différentes études de survie après allo-transplantation ont indiqué que seules 5 % à 10 % des cellules greffées survivent, les autres disparaissant dans les heures ou jours suivant la greffe, très vraisemblablement en raison du traumatisme de la mise en suspension et de l'injection. On attendait donc, au minimum, 60 000 neurones dopaminergiques chez le patient... et les auteurs n'en retrouvent qu'un centième ! Cette chute n'est pas insignifiante

car des études corrélatives entre les résultats du PET-scan* ou de l'histologie d'une part, l'amélioration clinique d'autre part [11, 12] ont clairement montré que cette dernière est, pour les allogreffes, directement liée à l'étendue de la réinnervation, elle-même liée au nombre de cellules dopaminergiques qui survivent. Le résultat clinique chez le patient avait beau être « encourageant » (selon les auteurs... qui ne précisent pas), avec 638 neurones il était très vraisemblablement nettement sub-optimal, puisqu'il n'est encore pas parfait – au vu, cette fois de résultats cliniques précis – dans les allogreffes avec 100 000 ! Pour l'instant, donc, on ne peut considérer les résultats publiés sur cette xéno-greffe que comme une preuve de l'échec du protocole chez ce patient. Le seul aspect positif est la démonstration que quelques cellules xénogéniques ont échappé à la mort pendant 8 mois après transplantation intracérébrale chez l'homme, alors que la mort a frappé 99 % de leurs homologues dont on attendait qu'elles survivent sous immunosuppression. Il est évident qu'il faudra comprendre pourquoi, pourquoi celles-ci ont survécu et pourquoi celles-là sont mortes. Le patient est-il en cause, parce qu'il ne prenait peut-être pas sa ciclosporine régulièrement ou parce qu'il a développé une réponse inflammatoire et/ou immunitaire particulière ? Ou bien est-on face à un vrai problème biologique, que l'expérimentation animale n'avait pas permis de prévoir ? L'analyse des résultats cliniques et en PET-scan des 23 autres patients greffés le dira, partiellement. Car ce que ne dira pas cette analyse, du moins avant longtemps on peut l'espérer, c'est la quantité précise de neurones qui ont survécu chez ces 23 patients. Devant ce premier échec, la connaissance du nombre de cellules porcines qui survivent à une transplantation, et sa variabilité d'une greffe à une autre, est pourtant absolument indispensable. Pour déterminer ce nombre, il faudrait faire immédiatement un pas en arrière dans ces essais et relancer

un large programme de xéno-greffes intracérébrales porcines chez des primates non-humains. Outre le pourcentage de survie neuronale, apprécié dans une large série de singes, un tel programme aurait l'avantage de permettre d'évaluer l'efficacité relative de divers traitements immunosuppresseurs : la ciclosporine A et le « masquage » des CMH I – que Diacrin a breveté et utilise chez certains patients – ne sont peut-être pas les plus adaptés ? L'enjeu thérapeutique (et scientifique) de ces xéno-transplantations intracérébrales mérite certainement de ne pas prendre ce premier échec pour une défaite et de faire en sorte, par une expérimentation animale bien menée, de l'utiliser pour repartir sur de nouvelles bases. Il faut que la direction de Diacrin accepte que l'objectif industriel et financier qu'elle poursuit ne peut être atteint qu'à ce prix, et pas par des effets d'annonce, même en première page de *Nature Medicine*. Le saura-t-elle ?

M.P.

1. Soullou J. Xéno-transplantation, une chimère nous rattrape. *Med Sci* 1997 ; 13 : 295-8.
2. Brundin P, Nilsson O, Strecker RE, Lindvall O, Astedt B, Björklund A. Behavioural effects of human fetal dopamine neurons grafted in a rat model of Parkinson's disease. *Exp Brain Res* 1986 ; 65 : 235-40.
3. Hantraye P, Riche D, Mazière M, Isacson O. Intra-striatal transplantation of cross-species fetal striatal cells reduces abnormal movements in a primate model of Huntington disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992 ; 89 : 4187-91.
4. Sloan DJ, Wood MJ, Charlton HM. The immune response to intracerebral neural grafts. *Trends Neurosci* 1991 ; 14 : 341-6.
5. Geny C, Naimi-Sadaoui S, Belkadi A, Jeny R, Peschanski M. Microglial chimerism in human xenografts to the rat brain. *Brain Res Bull* 1995 ; 38 : 383-92.
6. Geny C, Naimi-Sadaoui S, Jeny R, Belkadi A, Juliano SI, Peschanski M. Long-term delayed vascularization of human neural transplants to the rat brain. *J Neurosci* 1994 ; 14 : 7553-62.
7. Decombe R, Rivot JP, Aunis D, Abrous N, Peschanski M, Herman JP. Importance of catecholamine release for the functional action of intrastriatal implants of adrenal medullary cells: pharmacological analysis and *in vivo* electrochemistry. *Exp Neurol* 1990 ; 107 : 143-53.
8. Tuszynski MH, Roberts J, Senut MC, U HS, Gage FH. Gene therapy in the adult primate brain: intraparenchymal grafts of cells genetically modified to produce nerve growth factor prevent cholinergic neuronal degeneration. *Gene Ther* 1996 ; 3 : 305-14.

* Imagerie par tomographie à émission de positons.

9. Isacson O. Greffes de neurones fœtaux dans le cerveau adulte: spécificité des connexions et plasticité. *Med Sci*1990; 6: 863-9.10. Deacon T, Schumacher J, Dinsmore J, Thomas C, Palmer P, Kott S, Edge A, Penney D, Kassissieh S, Dempsey P, Isacson O. Histological evi-

dence of fetal pig neural cell survival after transplantation into a patient with Parkinson's disease. *Nature Med* 1997; 3: 350-3.11. Kordower JH, Freeman TB, Snow BJ, Vingerhoets FJG, Mufson EJ, Sanberg PR, et al. Neuropathological evidence of graft survival and striatal reinnervation after the transplantation

of fetal mesencephalic tissue in a patient with Parkinson's disease. *N Engl J Med* 1995; 332:1118-24.12. Rémy P, Samson Y, Hantraye P, Fontaine A, Defer G, Mangin JF, et al. Neural grafting in five parkinsonian patients: correlations between PET and clinical evolution. *Ann Neurol*1995; 38: 580-8.