

# Thérapie génique : le point sur les essais cliniques

Thomas Valère

*Six ans après la première transgénèse somatique humaine, ce sont 140 protocoles de thérapie génique qui sont autorisés, ayant enrôlé plus de 660 malades dans le monde\*. La majorité des essais cliniques sont de phase I, certains de phase I/II ; parmi les plus récents, on note des essais de phase II en double-aveugle. Ces essais ont lieu dans trois continents, surtout aux États-Unis mais aussi au Canada, dans neuf pays d'Europe, en Chine et bientôt*

*au Japon. Depuis les expériences précliniques des années 1980, de nombreux résultats se sont accumulés, montrant que des champs très divers de la pathologie humaine étaient accessibles à la thérapie génique. Par le marquage des gènes, on a pu étudier la faisabilité de leur transfert et l'expression in vivo des gènes transférés. Depuis les années 1990, la thérapie génique a mûri : les essais cliniques rapportent quelques améliorations des malades, transitoires encore*

*sauf dans le cas du déficit en ADA où des corrections physiologiques stables ont été observées. Cet article a pour but de décrire les indications de la thérapie génique dans le monde (cancers, maladies géniques acquises ou héréditaires, SIDA), les gènes transférés, leurs vecteurs et leurs voies d'administration, enfin, le nombre de malades traités, et de dégager les perspectives médicales et biologiques de ce nouveau mode thérapeutique.*

**L**e champ d'action de la thérapie génique somatique s'étend de jour en jour depuis son entrée en pratique, il y a six ans. Hormis les tentatives initiales de faisabilité et de marquage, elle a été appliquée dans les cas graves où les alternatives thérapeutiques classiques étaient inefficaces ou inexistantes. Depuis, une trentaine d'indications médicales de thérapie génique, dont les deux tiers en cancérologie [1], ont abouti au recrutement de plus d'un demi-millier de patients, au sein d'essais cliniques de phase I, I/II, et récemment de phase II en double-aveugle.

\* Au mois de décembre 1995, le nombre de malades enrôlés semble dépasser le millier, pour environ 150 protocoles.

Ils se déroulent actuellement sur trois continents [2], majoritairement aux États-Unis [3], mais également au Canada [4], en Europe et en Asie. Neuf pays européens [5] regroupent pour l'instant trente protocoles, les malades étant traités en France (une quarantaine [2, 5] parmi huit protocoles), en Grande-Bretagne [6], aux Pays-Bas [7], en Allemagne, Italie [8], Autriche, Pologne [9], Suède ou Suisse. En Asie, deux essais chinois sont en cours [2], l'un ayant publié des résultats en 1993 [10], tandis que le Japon envisage d'autoriser son premier protocole [11] (Tableau I). Cependant, les résultats de ces essais sont pour la plupart en cours de collecte, et peu sont rendus publics à ce jour. Les communications disponibles rap-

portent, outre la faisabilité et l'innocuité observées, les premiers éléments d'activité biologique ou thérapeutique. Leur faible nombre permet de tous les examiner dans ces pages, sachant qu'à l'avenir, lorsque les quelque 140 protocoles existants auront finalement publié leurs observations, seul un survol synthétique en sera possible [2]. D'ici là, on peut préparer ce survol en brossant le tableau des buts thérapeutiques respectifs, des gènes, de leurs voies d'administration, et du nombre de patients actuellement en cours de traitement. Auparavant, rappelons qu'il s'agit exclusivement d'interventions somatiques : la transgénèse germinale humaine reste internationalement prohibée, même si depuis 1992 le

Tableau I			
LES ESSAIS CLINIQUES DANS LE MONDE			
<b>Thérapie 74 %</b>	<b>13 types d'atteintes</b>	<b>140 protocoles</b>	<b>663 patients</b>
Maladies acquises (1 %)	arthrite rhumatoïde ( <i>IRAP/TK</i> )	1	
	artériopathie périphérique ( <i>VEGF</i> )	1	4
Maladies infectieuses (6 %)	infection VIH-1 ( <i>ribozyme, VIH-1 env + rev, tar/Td-rev, zeta-chim-receptor</i> )	9	219
Maladies héréditaires 19 %	mucoviscidose ( <i>CFTR</i> )	14 Gb, Fr	70
	maladie de Gaucher ( <i>glucocérébrosidase</i> )	3	
	SCID-ADA ( <i>ADA</i> )	3 It, Pb	11+
	hypercholestérolémie familiale ( <i>LDLR</i> )	1	5
	anémie de Fanconi ( <i>FACC</i> )	1	
	granulomatose chronique ( <i>p47-phox</i> )	1	
	hémophilie B ( <i>facteur IX</i> )	1 Ch	2
	ARDS déficience ( <i>α-1 antitrypsine</i> )	1	
	maladie de Hürler ( <i>α-L iduronidase</i> )	1 Fr	
	syndrome de Hunter ( <i>iduronate sulfatase</i> )	1	
	Total = 38		Total = 309+
Cancer 49 %	<b>Les approches antitumorales</b>		
	immunothérapie/ <i>ex vivo</i>	31 Al, Pb, Au, Gb, Po, Ch	96+
	suicide TK/ganciclovir	14 Fr, Ca	52
	immunothérapie/ <i>in vivo</i>	11 Fr, Gb, Ch	62+
	chimioprotection ( <i>MDR</i> )	5 Pb	8
	suppresseur de tumeur ( <i>p53</i> )	4	1
	antisens	2	1
	surexpression d'antigène tumoral	2 Gb	
	Total = 69		Total = 220+
<b>Marquage (26 %)</b>	<b>cellule cible transduite</b>		
	Moelle osseuse et/ou lymphocytes circulants autologues	21 It, Fr, Gb Pb, Sd	85+
	TIL autologues	5 Fr	25+
	Cellules CD34+ sélectionnées autologues	3	
	Lymphocytes T cytotoxiques	1	15
	Hépatocytes autologues	1	
	Cellule de tumeur bronchopulmonaire ( <i>in vivo</i> )	1 Fr	
	Lymphocytes syngéniques	1	6
	Total = 33		Total = 134+

La légende se rapportant à ce tableau se trouve p.75.

*Germ Line Therapy Panel* a été créé et chargé par le RAC (*Recombinant DNA Advisory Committee*) d'étudier le moratoire américain, qui est rediscuté.

Enfin, distinguons au sein de la transgénèse somatique humaine la « thérapie génique » (*gene therapy*) au sens strict, donc à visée curative, du « marquage génique » par un gène rapporteur sans bénéfice thérapeutique pour le patient (*gene marking*).

### Les voies d'administration

L'approche initiale, qui reste aujourd'hui majoritaire, est la transgénèse *ex vivo*. Dans ce cas, les cellules du patient, de son jumeau, ou bien d'origine allogène sont cultivées *in vitro* puis le gène d'intérêt y est transféré. Elles sont ensuite réimplantées par injection intraveineuse ou par greffe de moelle osseuse dans deux protocoles sur trois – opérations qui traduisent en fait la prédominance des cellules sanguines comme cibles de la transgénèse. Au second rang viennent les cellules cancéreuses, généralement transfectées avec un gène de cytokine et irradiées avant réinjection sous-cutanée. D'autres voies d'administration, minoritaires, ont été récemment proposées (Tableau II).

En parallèle, les livraisons géniques *in vivo* se développent rapidement, car de nombreux thérapeutes espèrent à l'avenir les utiliser en routine. L'ADN est en effet administré directement dans l'organisme, ce qui évite les

phases coûteuses et délicates de prélèvement et de culture cellulaire en conditions de sécurité clinique, et permet de traiter tout patient sans délai grâce à un stock préexistant. Actuellement, un protocole sur trois préconise l'administration *in vivo*, qu'elle ait lieu par injection ou cathétérisation, par instillation d'un aérosol, ou par application d'une suspension sur les voies aériennes. Notons que certains protocoles de transfert consistent à injecter *in vivo* les cellules murines produisant le vecteur au sein de tumeurs. Dans ce cas, les cellules allogènes expriment toujours un gène suicide, ce qui permet leur rapide éradication de l'organisme par un traitement simple.

### Les vecteurs

Historiquement, ce sont les vecteurs rétroviraux qui ont ouvert la voie à la transgénèse somatique chez l'homme. Depuis le premier essai clinique [12], autorisé à l'équipe de Rosen-

berg (USA) en 1989, les vecteurs rétroviraux, presque toujours fondés sur le virus de la leucémie murine de Moloney (Mo-MuLV), restent employés par les trois quarts des protocoles actuels. Cette prédominance est due en partie à l'antériorité de leur technologie qui seule avait atteint une fiabilité adéquate pour l'utilisation clinique, à une époque charnière dans les travaux de Rosenberg *et al.* en immunothérapie adoptive. Les lymphocytes infiltrant les tumeurs (TIL), qui ciblent et détruisent les cellules cancéreuses chez l'homme, venaient alors d'être caractérisés. Par ailleurs, des effets secondaires indésirables à l'injection systémique de cytokines suggéraient d'administrer celles-ci plus localement. Avec l'apparition de l'outil vecteur rétroviral, il était désormais possible de transférer efficacement aux TIL le gène codant pour la cytokine voulue [13], afin de cibler celle-ci plus étroitement sur la tumeur. Une étude initiale de faisabi-

Tableau II  
LES VOIES D'ADMINISTRATION

Voies d'administration	Protocoles	Pays
Greffe de moelle osseuse	28	Us, It, Pb, Fr, Sd, Ca
Injection sous-cutanée	26	Us, Pb, Po, Ch, Al, Ss
Intraveineuse	26	Us, Al, Fr, Pb, Gb
Intratumorale directe	11	Us, Pb, Gb
Intranasale	10	Us, Gb
Intratumorale (stéréotaxique)	10	Us, Fr, Gb, Au
Voies aériennes (bronchoscopie)	6	Us
Intramusculaire	6	Us, Gb
Intratumorale (bronchoscopie)	5	Us, Fr, Ch
Intrapéritonéale	4	Us, Fr
Intratumorale (cathéter pulmonaire)	3	Us
Intrahépatique (cathéter portal)	3	Us
Intrapleurale	3	Us
Respiratoire (aérosol)	2	Us, Fr
Intraventriculaire	1	Us
Intratumorale (réservoir d'Ommaya)	1	Us
Sinus maxillaire	1	Us
Intra-articulaire	1	Us
Intra-artérielle (cathéter)	1	Us

Ce tableau inclut certains protocoles non encore autorisés, mais en cours d'arbitrage. Leur inclusion permet d'indiquer les 19 voies d'administration actuellement utilisées ou envisagées dans un proche avenir, parmi les 148 protocoles proposés en juin 1995, dont 140 sont acceptés ou en voie d'acceptation [1-3, 5]. Les pays sont classés en fonction du nombre de protocoles : Allemagne (Al), Autriche (Au), Canada (Ca), Chine (Ch), France (Fr), Grande-Bretagne (Gb), Italie (It), Pays-Bas (Pb), Pologne (Po), Suède (Sd), Suisse (Ss) et USA (Us).

Les chiffres varient rapidement : en moyenne une vingtaine de nouveaux patients ont été incorporés par mois, contre une dizaine par mois un an auparavant. Cette accélération tient à l'enrôlement continu de nouveaux patients dans les protocoles existants, la moitié d'entre eux n'étant pas encore démarrés, et le reste n'ayant généralement pas achevé ses recrutements. Mais aussi à l'accumulation des autorisations de nouveaux protocoles, par un effet d'entraînement dû aux précurseurs : les essais ayant rapporté des résultats intéressants sont parfois repropoés, par leurs auteurs ou non, avec ou sans variantes, et sont ainsi plus rapidement évalués, et acceptés. Les nombres de protocoles et de patients sont donnés pour juin 1995 [2, 3], et leur mise à jour peut être consultée sur Internet [2]. Les pourcentages de protocoles dans chaque situation sont donnés entre parenthèses dans la première colonne. Les gènes donnés ici à titre indicatif (entre parenthèses dans la colonne 2) sont détaillés Tableau IV. Les pays [1-3, 5] menant les essais hors des USA sont indiqués : Allemagne (Al), Autriche (Au), Canada (Ca), Chine (Ch), France (Fr), Grande-Bretagne (Gb), Italie (It), Pays-Bas (Pb), Pologne (Po), Suède (Sd) et Suisse (Ss).

lité, consistant à transférer dans les TIL un gène marqueur, a constitué le premier marquage génique humain, autorisé le 3 février 1989 et démarré quelques mois plus tard. L'année suivante, le premier essai clinique de thérapie génique [14] a employé lui aussi un vecteur rétroviral.

Depuis, de nouveaux vecteurs ont été mis au point et continuent d'évoluer (Tableau III). Les vecteurs adénoviraux, naturellement adaptés à la l'infection des voies aériennes, sont de plus en plus employés, même s'ils expriment quelques antigènes viraux. Dans le futur, cet effet vaccinal qui entrave les répétitions de traitement pourrait éventuellement être contourné par délétion des gènes viraux subsistants, ou par immunomodulation temporaire par l'interleukine 12 (IL12) lors des administrations de vecteur [15]. Actuellement privés de ces options, dix-huit protocoles utilisant les vecteurs adénoviraux sont en cours, un tiers concernant la cancérologie et tous les autres la mucoviscidose. Cette affection est causée par une déficience héréditaire en CFTR (*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*), un transporteur d'ions Cl<sup>-</sup> qui règle la différence de potentiel transmembranaire, notamment dans l'épithélium pulmonaire. D'autres organes sont atteints, mais un signe majeur est l'accumulation de mucus dans le poumon, qui devient centre d'infections bactériennes et d'inflammation. La survie moyenne des individus touchés (1/2800) est de 29 ans.

La lipofection voit également son importance augmenter, principalement en cancérologie dans le sillage des essais de Nabel *et al.* dont les résultats cliniques d'injection intratumorale immunisante ont été encourageants [16].

L'injection intramusculaire de plasmides nus est une intervention rapide qui pourrait éventuellement déboucher sur une « vaccination génique » aussi efficace qu'économique (en phase préclinique [17]). Chez l'animal [18], le plasmide injecté, non intégré, s'exprime transitoirement avant d'être éliminé de l'organisme. Cette approche simple est en phase I d'essais cliniques, notamment dans le cadre d'immunisations

antitumorales (Russel *et al.*, Grande-Bretagne ; Curiel *et al.*, USA).

Si les vecteurs fondés sur le virus de l'herpès ne sont pas encore au point pour une utilisation clinique, Flotte *et al.* emploient déjà un vecteur fondé sur AAV (*adeno associated virus*) dans le domaine de la mucoviscidose. Ce dernier n'est toutefois infectieux que grâce à la complémentation par un adénovirus répliquatif. La méthode biolistique (*gene gun*), où des microprojectiles métalliques recouverts d'ADN sont accélérés pour bombarder les cellules cibles, est évaluée par Nabel *et al.* dans le cadre du SIDA, ainsi que par Schädendorf *et al.* (Berlin) en cancérologie. Toujours dans ce domaine, l'électroporation (Schmidt-Wolff *et al.*, Berlin) et la transfection (Osanto *et al.*, Leiden ; Mackiewicz *et al.*, Poznan ; Aebischer *et al.*, Lausanne) avant sélection *in vitro* font l'objet des premiers essais cliniques, tous menés en Europe.

### Les gènes

Il advient souvent qu'un gène donné, employé dans une indication thérapeutique donnée, soit transféré par des vecteurs différents d'un protocole à l'autre. De plus, la place manque pour détailler ici les spécificités de

ces ADN avec ou sans introns, chimériques ou non, sens, antisens ou ribozymes, dont le compte dépasse la quarantaine. On peut cependant en faire la liste, avec un bref aperçu de leurs propriétés et de leurs visées thérapeutiques (Tableau IV).

### Les premiers résultats cliniques

Le premier point qu'ont noté toutes les équipes est l'absence d'effets secondaires notables, sauf dans un cas individuel [19] résolu rapidement. Notamment, on a constaté l'absence de carcinogenèse et de virus *helpers* associés à l'intervention chez les patients. Quoi qu'il en soit, les nombres restreints de malades par protocole et la faible durée des suivis entravent encore toute évaluation statistique formelle des risques réellement pris.

### Les marquages géniques

#### Faisabilité de la transgénèse somatique humaine

L'essai clinique pionnier [12] a consisté en un marquage par le gène *neoR*, dont l'expression confère aux cellules eucaryotes la résistance au

8 vectorisations	140 protocoles		12 pays
Rétrovirus	93	(66%)	Us, Fr, Pb, It, Gb, Ch, Ca, Sd
Adénovirus	18	(13%)	Us, Fr
Lipofection	16	(11%)	Us, Gb, Al, Au
Plasmide nu	5	(4%)	Gb, Us
Biolistique	3	(~ 2%)	Al, Us
Transfection	3	(~ 2%)	Pb, Po, Ss
AAV	1	(~ 1%)	Us
Électroporation	1	(~ 1%)	Al

Ce tableau synthétique présente l'intégralité des moyens de transduction actuellement employés chez l'homme, en nombre absolu (et en % du total). Les pays sont classés en fonction du nombre de protocoles : Allemagne (Al), Autriche (Au), Canada (Ca), Chine (Ch), France (Fr), Grande-Bretagne (Gb), Italie (It), Pays-Bas (Pb), Pologne (Po), Suède (Sd), Suisse (Ss) et États-Unis (Us). Juin 1995 [1-3, 5]. De nouveaux protocoles (3 par mois), de nouveaux pays (Japon) et de nouveaux vecteurs (virus de l'herpès) devraient apparaître, aussi une mise à jour continue [2] peut être utile.

G418, un analogue de la néomycine. Dans le cadre d'une immunothérapie adoptive, cinq patients atteints de mélanome malin métastaté ont reçu, en une à trois perfusions, environ 100 milliards de TIL autologues, marqués *ex vivo* par un vecteur rétroviral amphotrope du gène *neoR* sous le contrôle du promoteur de MoMULV. Ce vecteur, LNL6, a ensuite été employé pour d'autres essais. Une réaction de PCR sur l'ADN des mononucléaires du sang périphé-

rique a permis de détecter le transgène trois semaines après perfusion chez tous les patients, et jusqu'à deux mois après, chez deux d'entre eux. Il a également été décelé jusqu'au jour 64 dans des échantillons de tumeurs, indiquant ainsi que le transfert génique n'affecte pas le ciblage naturel des TIL.

En ce qui concerne la sécurité, les recherches de virus *helpers* et d'activité transcriptase inverse parmi les TIL prélevés, étaient toutes négatives.

Aucune toxicité n'a été relevée, et les TIL restaient dépendants de l'IL2. Ce protocole, le seul au monde dont le recrutement soit illimité, a déjà enrôlé dix patients (dont neuf sont décédés des suites de la progression tumorale). Au total, il a permis de répondre positivement à trois prérequis: (1) un vecteur rétroviral peut transférer efficacement un gène dans les TIL sans modifier leur ciblage spécifique vers la tumeur; (2) les TIL transfectés restent tumoricides et (3)

Tableau IV  
QUEL GÈNE DANS QUEL BUT ?

Catégorie	Gènes	Emplois proposés
<b>Thérapies géniques</b> Cytokines (36)	<i>IL2(-neoR)</i> (19), <i>IL7</i> ou <i>12</i> (5), <i>GM-CSF</i> (4) <i>IFN<math>\gamma</math></i> (3), <i>TNF-neoR</i> (2), <i>IL4</i> (2), <i>IL6</i> ou <i>soluble IL6 receptor</i>	Immunothérapie du cancer : neuroblastome, mélanome, carcinome, cancers du rein, colon, prostate, sein, ovaire
Suppresseur de tumeurs (4)	<i>p53-neoR</i> (4)	Mélanome, cancers du foie, cou, tête, poumon
Chimioprotection (4)	<i>MDR</i> (4)	Cancers de l'ovaire et du sein
Antigènes surexprimés (8)	<i>HLA-B7(-<math>\beta</math>2 microglobuline)</i> (6), <i>CEA</i> , <i>Ag spécifique</i>	Mélanome, cancers du foie, carcinome rénal, lymphome B
Gènes suicide (16)	<i>TK(-neoR</i> ou <i>-hygroR)</i> (16)	Myélome multiple, cancers du cerveau, infection VIH-1
Antisens antitumoraux (3)	anti-IGF-1, anti-k-ras, anti-c-fos ou c-myc	Glioblastome, cancers du poumon, du sein
Autres antitumoraux (1)	erbB2 promoteur-> <i>cytosine désaminase</i>	Cancer du sein
Antiviraux (8)	VIH <i>env+rev</i> (4), <i>tar/Td-rev</i> (2), <i>ribozyme</i> , <i>zeta-chimpanze receptor</i>	Infection par VIH-1
Complément de maladie génique (29)	<i>CFTR</i> (14), <i>ADA</i> (3), <i>glucocérébrosidase</i> (3), <i>IRAP/TK</i> , <i>VEGF</i> , <i>LDLR</i> , <i>FACC</i> , <i>p47-phox</i> , <i>facteur IX</i> , <i><math>\alpha</math>-1 antitrypsine</i> , <i><math>\alpha</math>-L iduronidase</i> , <i>iduronate sulfatase</i>	Respectivement : mucoviscidose, SCID, Gaucher, arthrite rhumatoïde, artériopathie périphérique, hypercholestérolémie, Fanconi, granulomatose chronique, hémophilie B, déficience ARDS, Hürler, Hunter
<b>Marquages géniques</b> (31)	<i>NeoR</i> (30), <i>LacZ</i>	Principalement cancérologie Suivi du devenir cellulaire

Les gènes [1-3, 5] sont classés en catégories (avec entre parenthèses le nombre de protocoles concernés s'il y en a plusieurs). Hormis ceux cités dans le texte, sont employés les gènes suivants. IFN- $\gamma$ : interféron- $\gamma$ , MDR: multiple drug resistance, CEA: carcinoembryonic antigen, IRAP: IL1 receptor antagonist protein, VEGF: vascular epidermal growth factor, FACC: Fanconi anemia complementation group C. Leurs indications thérapeutiques ou leurs utilisations scientifiques figurent à la dernière colonne. Juin 1995 [1-3, 5].

1 % à 10 % d'entre eux continuent à exprimer le transgène durant quelques mois. Depuis, les auteurs mènent chez douze malades un essai apparenté, mais en phase I/II et utilisant le gène du TNF (*tumor necrosis factor*).

Chez l'un des cinq patients initiaux, la tumeur avait complètement régressé. Aebersold *et al.* ont rapporté que des TIL sanguins ou extraits de biopsies tumorales antérieures étaient résistants au G418 *ex vivo* [20]. En comparant l'hétérogénéité en récepteurs T des TIL-*neoR* issus de la tumeur à celle des TIL-*neoR* non réimplantés, mais maintenus *in vitro* en G418, ils ont observé une divergence clonale. Il n'ont toutefois pu démontrer que les clones dominants dans la tumeur étaient ceux qui avaient été à l'origine de son élimination ultérieure. Notons qu'en France, le premier essai clinique autorisé a été un marquage génique rétroviral TIL-*neoR*, mené chez plusieurs malades à Lyon par Favrot *et al.* (Institut L. Bérard).

Dans un autre protocole de marquage [21], le vecteur LNL6 a été utilisé pour marquer des cellules de la moelle osseuse prélevées chez douze malades atteints de leucémie myéloïde aiguë et chez huit malades atteints de neuroblastome, âgés de 2 à 19 ans. Le marqueur a été décelé génétiquement (PCR) et phénotypiquement (résistance au G418 *ex vivo*) dans les cellules progénitrices des lignées sanguines, explantées un mois après autogreffe pour 15 patients sur les 18 suivis ; six mois après pour 8 patients sur les 9 suivis ; et un an après pour les 5 patients suivis. L'étude s'est arrêtée à dix-huit mois ; le transgène restait décelable jusqu'au décès des deux derniers patients du fait de l'évolution tumorale. Les personnes qui se sont prêtées à ce marquage génique ont permis d'attester la faisabilité et la durée d'une reconstitution du sang transgénique, des CFU-E (*colony forming unit-erythrocyte*), CFU-M (*colony forming unit-macrophage*), et CFU-GEMM (*colony forming unit-granulocyte erythrocyte, macrophage, megacaryocyte*) résistantes au G418 ayant été mises en évidence.

Également par transfert rétroviral,

Mannoni *et al.* (Institut J. Paoli-Calmettes, Marseille) emploient actuellement chez six malades le gène bactérien *LacZ* comme marqueur des cellules souches hématopoïétiques. Par ailleurs, Tursz *et al.* (Institut G. Roussy, Villejuif) ont réalisé chez trois patients atteints de tumeurs bronchopulmonaires un marquage génique par vecteur adénoviral du même gène bactérien.

### Sécurité des réimplantations

La cause de décès la plus fréquente à la suite d'une immunothérapie adoptive est la reprise de la croissance tumorale, après une phase de rémission. Hormis l'existence de cellules malignes résiduelles dans l'organisme du patient, on ne peut exclure que l'autogreffe de moelle contienne elle aussi des cellules cancéreuses, amplifiées *ex vivo* avant réinjection. Rill *et al.* [22] ont étudié huit patients âgés de 2 à 9 ans en première ou seconde rémission clinique d'un neuroblastome. Ceux-ci ont subi un prélèvement de moelle osseuse, puis une autogreffe de moelle osseuse comprenant des cellules marquées par LNL6. Après six à neuf mois, trois malades ont rechuté, et le marqueur *neoR* a été détecté génétiquement (PCR) et phénotypiquement (résistance au G418 *ex vivo*) dans 0,05 % à 1 % des neuroblastes clonogéniques provenant de leurs biopsies médullaires. D'après la diversité des sites d'intégration du vecteur, les auteurs estiment que l'autogreffe a introduit au moins 200 cellules cancéreuses participant à la rechute, dans l'organisme de chaque patient. Ces observations imposent, à l'avenir, de purger les greffons des cellules malignes avant réimplantation, probablement dans tous les cas de tumeurs solides infiltrant la moelle. Le système utilisé permet le contrôle et l'amélioration de techniques de purge, par suivi du marqueur *neoR* dans des essais cliniques à petite échelle.

## Les thérapies géniques

(Tableau V)

### Cancer

Nabel *et al.* [16] ont tenté l'injection d'un complexe ADN-liposome polycationique codant pour la glycoprotéine HLA-B7 du complexe majeur d'histocompatibilité et pour le  $\beta$ 2-microglobuline humaines, au sein des tumeurs de mélanome métastasé chez cinq patients (tous HLA-B7 négatifs). Trois à sept jours plus tard, les biopsies de tumeurs contenaient la protéine HLA-B7, détectée en immunochimie, ainsi que l'ADN transféré, détecté en PCR. L'ADN plasmidique était absent du sérum, et aucune toxicité n'a été observée. Une réponse immune en lymphocytes T cytotoxiques (CTL) anti-HLA-B7 hétérologue et anti-tumeur autologue a été mise en évidence chez les cinq patients. Chez l'un d'entre eux, deux des nodules injectés, ainsi que d'autres métastases distantes non injectées, ont totalement régressé. Depuis cet essai encourageant, daté de février 1992, plusieurs protocoles similaires ont pris en charge plus de cinquante nouveaux patients, traités pour diverses tumeurs. Celui de Rubin *et al.* [23] a pu clore son recrutement en mars 1995 et confirmer la synthèse *in vivo* de HLA-B7 et une réponse CTL. Toutefois, si des régressions de tumeurs étaient visibles chez six des quinze patients traités, quatre autres ont péri du fait de la progression tumorale.

Au sein d'un autre type d'essai de phase I, Roth *et al.* ont recruté en juin 1995 un homme de soixante ans atteint de carcinome pulmonaire apparemment non métastasé, mais non résécable. La radiothérapie n'étant plus efficace, et l'obstruction bronchique interdisant une chimiothérapie, il a été traité par injection intratumorale (bronchoscopie) d'un vecteur rétroviral du suppresseur de tumeur *p53*. La présence du marqueur *neoR* sur le vecteur a permis de le détecter dans environ 40 % des cellules d'une biopsie effectuée 24 heures post-traitement. Le cinquième jour, les deux lésions avaient commencé à régresser au sein d'une fibrose inflammatoire non cancéreuse. Aucune toxicité due à la transge-

Tableau V  
LES PREMIERS RÉSULTATS CLINIQUES

Protocole	Résultats	Patients	Gène	Référence
Marquage <i>ex vivo</i> de TIL (mélanome malin)	Faisabilité de la thérapie somatique humaine	5	<i>neo</i> (vecteur rétroviral)	Rosenberg [12]
	Évolution des TIL <i>in vivo</i>	1		Aebersold [20]
Marquage <i>ex vivo</i> de cellules de la moelle osseuse (leucémie myéloïde aiguë, neuroblastome)	Reconstitution partielle du sang par le greffon	20	<i>neo</i> (vecteur rétroviral)	Brenner [21]
Marquage <i>ex vivo</i> de cellules de la moelle osseuse (neuroblastome)	Risque de réimplantation de cellules cancéreuses lors des immunothérapies adoptives	8	<i>neo</i> (vecteur rétroviral)	Rill [22]
Injection intratumorale de liposomes (mélanome malin)	Faisabilité, sécurité, immunisation antitumorale	5	<i>HLA-B7</i> (lipofection)	Nabel [16]
Infection <i>ex vivo</i> de cellules sanguines déficientes pour le gène <i>ADA</i> (ADA-SCID)	Normalisation, voire arrêt du traitement PEG-ADA chez certains patients	4+	<i>ADA</i> (vecteur rétroviral)	Kohn [28]
		3		Hoogerbrugge [7]
		2+		Ferrari [8]
Infection <i>ex vivo</i> d'hépatocytes déficients pour le récepteur des LDL (hypercholestérolémie)	Correction partielle mais durable (18 mois) de l'hypercholestérolémie Stabilisation de la maladie coronarienne associée	1	<i>récepteur des LDL</i> (vecteur rétroviral)	Grossmann [29]
Infection <i>in situ</i> de l'épithélium nasal ou bronchial (mucoviscidose)	Faisabilité et sécurité Expression transitoire de la protéine (10 jours)	4	<i>CFTR</i> (vecteur adénoviral)	Crystal [19]
	Correction transitoire du voltage transépithélial anormal	3	<i>CFTR</i> (vecteur adénoviral)	Zabner [26]
	et d'anomalie de transport d'ion	15	<i>CFTR</i> (lipofection)	Caplen [6]
Infection <i>ex vivo</i> de fibroblastes cutanés autologues (hémophilie B)	Faisabilité et sécurité Expression durable (6 mois) de la protéine Amélioration clinique d'un patient	2	<i>facteur IX</i> (vecteur rétroviral)	Lu [10]
Injection intramusculaire de vecteur rétroviral (infection par VIH-1)	Faisabilité et sécurité Effet vaccinal pour l'instant non observé	16	VIH-1 III B <i>env</i> et <i>rev</i> (vecteur rétroviral)	Haubrich [30]

Intégralité des résultats publiés d'essais cliniques en Europe, en Amérique et en Asie [2], juin 1995. Les références individuelles figurent à la dernière colonne.

nèse n'est apparue, et la tumeur a régressé à 87 % au bout du premier mois.

L'idée de transférer dans les cellules cancéreuses un gène létal afin de les détruire a été formulée en 1986 par Moolten [24]. Le gène suicide choisi fut *th*, codant pour la thymidine kinase du virus de l'herpès HSV-1. Une cellule exprimant ce gène suicide périt à la double condition qu'elle incorpore du ganciclovir et qu'elle soit en division (*m/s n°7, vol. 8, p. 728*). En décembre 1994, Oldfield *et al.* [25] ont traité quinze adultes atteints de tumeurs cérébrales malignes (glioblastome, mélanome métastaté, ou carcinome du sein métastaté) dont les traitements antérieurs avaient échoué, qu'il s'agisse de chirurgie, de radiothérapie ou de chimiothérapie. Par injection stéréotaxique, un milliard de fibroblastes murins produisant un vecteur rétroviral de *th* ont été introduits dans les tumeurs. Après une semaine, l'analyse du tissu par hybridation *in situ* a révélé la transcription de *th* dans les cellules d'encapsidation et dans certaines des cellules tumorales. Le ganciclovir a été administré à cette date, par voie intraveineuse durant quatorze jours, afin de déclencher le suicide cellulaire. Hormis une inflammation transitoire notée chez quelques patients, aucune encéphalite, aucune toxicité n'ont été observées. Enfin, chez certains patients, le volume tumoral a visiblement diminué.

A Paris, Klatzmann *et al.* (UFR Pitié-Salpêtrière) mènent deux essais cliniques analogues, chez dix-sept patients atteints de mélanome malin ou de glioblastome inopérable, tandis que Tiberghien *et al.* (CRTS de Besançon) utilisent des lymphocytes T exprimant le gène *th* dans le cadre de greffes de moelle osseuse allogénique.

### Mucoviscidose

L'essai clinique de faisabilité a été lancé le 17 avril 1993 par Crystal *et al.* [19], chez dix patients souffrant de mucoviscidose. L'administration de 2 millions à 2 milliards de pfu (*plaque forming units*) d'un vecteur adénoviral de *CFTR* dans l'épithélium bronchial ou nasal a provoqué, dans les sept jours, l'expression transitoire de l'ARNm et de la protéine

*CFTR* (indécelable avant traitement), dans approximativement 14% des cellules chez un patient; et de l'ARNm seul chez un autre (parmi les quatre premiers évalués). Mais après le dixième jour, plus aucune expression n'a été détectée. De plus, le patient ayant reçu la plus forte dose a souffert d'un syndrome systémique et pulmonaire, amendé en deux semaines par traitement symptomatique. Dans un seul des prélèvements sur le pharynx, et chez un seul des patients, le vecteur adénoviral a été retrouvé par culture *ex vivo*.

Ni cet essai clinique ni ses successeurs, dont un en phase I/II (Welsh *et al.*, chez quatre patients), n'ont encore apporté d'amélioration durable, mais cette tentative initiale a établi la dose maximale de vecteur tolérée. De plus, parmi les patients ultérieurement traités par Crystal *et al.*, la correction transitoire partielle d'un signe biologique a été notée *in vivo*. Il s'agit du voltage transépithélial nasal, trop élevé avant traitement, et qui a décliné vers les valeurs normales. Des observations analogues avaient déjà été faites chez trois patients par Dorkin *et al.* [26]. Cependant, la méthodologie employée ne permettait pas de préciser la durée de la correction, et le peu de cellules prélevées n'a permis de détecter ni la protéine *CFTR* ni son ARNm dans les biopsies. En comparaison, il faut préciser qu'un autre essai similaire regroupant douze patients confirme l'expression de l'ARNm de *CFTR in vivo*, mais Boucher *et al.* [27] réservent leur opinion quant à l'origine de la variation de voltage qu'ils observent. Signalons que Bellon *et al.* (CH de Lyon Sud, en collaboration avec Transgène) emploient un protocole apparenté, chez deux malades. Enfin, un essai en double aveugle a été mené à Londres par Geddes *et al.* avec des méthodes d'administration et de mesure électrophysiologique originales [6]. Les quinze patients ont reçu l'administration intranasale d'un liposome cationique seul (placebo) ou complexé avec un plasmide codant pour *CFTR*. Aucune toxicité n'a été observée, et seuls les patients ayant reçu le plasmide ont bénéficié, trois jours plus tard, d'une correction partielle ou quasi totale dans certains

cas, des anomalies de transport d'ions et de voltage transépithélial. Cependant, comme dans les autres essais, cette correction s'estompait totalement, ici au bout d'une semaine post-traitement.

Au total, il est clair que les vecteurs Ad-*CFTR* actuels sont impuissants à traiter la mucoviscidose. Même si un premier pas a été franchi en démontrant la faisabilité de telles approches, elles devront être optimisées, la durabilité et l'efficacité clinique faisant encore défaut.

### Déficiences en adénosine désaminase (SCID-ADA)

La déficience en adénosine désaminase (ADA) est une maladie génétique rare (1/100 000) et fatale. Elle se manifeste par l'impossibilité de constituer un système immunitaire adéquat, le résultat étant la récurrence d'infections opportunistes graves entraînant la mort dès les premières années de l'enfance. Vingt-cinq pour cent des cas d'immunodéficiences sévères combinées (SCID) sont dus à une anomalie du gène codant pour l'enzyme ADA.

L'injection intraveineuse de l'enzyme manquante sous forme PEG-ADA (ADA liée au polyéthylène glycol) améliore l'état clinique et biologique des patients, mais la correction reste incomplète : le déficit en anticorps et le danger d'infections opportunistes persistent. L'allogreffe de moelle osseuse est un traitement envisageable dans moins d'un cas sur trois, faute de donneur compatible dans le système HLA. De plus, seul un tiers des patients greffés récupère un niveau d'anticorps satisfaisant, les autres étant mis en danger (mortalité de 10 % à 20 %) par l'ensemble de la thérapie qui accompagne la greffe.

La déficience génétique en ADA, malgré ses manifestations sévères et multiples est une maladie simple sur le plan génétique, au sens où la réparation du seul gène *ADA*, dans les seuls lymphocytes, devrait améliorer l'état clinique du patient. Le 14 septembre 1990, Culver, Blaese et Anderson ont débuté un essai clinique chez des enfants *ADA-* dont le traitement au PEG-ADA n'avait pu rétablir une constitution immunitaire



complète [14]. Historiquement, il s'agissait du premier essai clinique de thérapie génique. Il est actuellement en phase I/II et comporte plusieurs options (lymphocytes, cellules CD34<sup>+</sup>, cellules hématopoïétiques néonatales).

Après prélèvement veineux et culture *ex vivo* des lymphocytes, l'ADNc du gène *ADA* a été transféré par un vecteur rétroviral, sous le contrôle du promoteur de Mo-MuLV. Après neuf jours d'amplification, 700 millions de lymphocytes autologues par kilo ont été transfusés. L'opération a dû être répétée mensuellement, et les dernières perfusions ont eu lieu en octobre 1992. Depuis, les deux enfants ont des lymphocytes circulants ADA<sup>+</sup> (PCR, Southern et expression protéique). Parmi les deux fillettes traitées, la première possède plus de 50 % de lymphocytes ADA<sup>+</sup>. Son état immunologique est normalisé. La seconde ne bénéficie que de 0,1 à 1 % de lymphocytes ADA<sup>+</sup>, mais elle est en bon état clinique\*. Depuis, un essai apparenté, concernant un malade de 3 ans, est envisagé au Japon [11]. Trois enfants sont déjà traités par un protocole similaire [7] au sein d'une coopération européenne. En outre, Bordignon *et al.* rapportent les premiers résultats [8] obtenus en Italie, où deux vecteurs pratiquement identiques ont été simultanément utilisés *ex vivo*, l'un pour infecter les lymphocytes du sang périphérique, l'autre pour infecter les cellules de la moelle osseuse, avec réinjection. Ces vecteurs double-copie du minigène *ADA*, (différant uniquement par un site de restriction dans une région non fonctionnelle) ont permis par la suite de retracer l'origine des cellules récoltées jusqu'à deux ans post-traitement chez les patients. Il est ainsi apparu que les lymphocytes périphériques infectés participent surtout à l'efficacité du traitement durant la première année, puis disparaissent, progressivement remplacés par des lymphocytes T issus des cellules médullaires infectées. Les 5

ou 9 injections intraveineuses initiales de quelques centaines de millions de cellules de moelle infectées ont suffi à aboutir, 16 mois plus tard, à environ 20 % de progéniteurs médullaires produisant l'enzyme (BFU-E, CFU-GM et CFU-GEMM) ; et les lymphocytes, granulocytes et érythrocytes ADA<sup>+</sup> ont été mis en évidence. Les auteurs estiment que ce rendement exceptionnel est dû quantitativement à la sélection positive subie *in vivo* pour la fonction cellulaire ADA. Qualitativement, il est vraisemblable que leur protocole de transfert de gène qui minimise l'activation et la différenciation cellulaires, autorise la progénie variée obtenue *in vivo*. Sur le plan clinique, les deux patients (chez lesquels le PEG-ADA seul avait échoué) ont vu leurs fonctions immunes restaurées par l'intervention de la thérapie génique. Notamment, la normalisation des numérations lymphocytaires, des réponses humorales et cellulaires et du répertoire T ont permis de réduire de moitié les administrations de PEG-ADA.

En avril 1993, plusieurs interventions néonatales ont été autorisées aux États-Unis. Les nouveau-nés ont subi [28] une transfusion de cellules sanguines autologues issues du cordon ombilical et du placenta, infectées *ex vivo* par le vecteur du gène *ADA*. Contrairement au sang périphérique, le sang de ces organes est naturellement enrichi en cellules souches hématopoïétiques, ce qui motivait l'espoir qu'une intervention néonatale unique suffise à traiter définitivement l'affection. Pour l'instant, les auteurs ont rapporté que deux ans après ce traitement, de multiples lignées cellulaires portaient les séquences intégrées, et le gène *neoR*, également présent dans le vecteur, y était exprimé. Depuis, l'administration de PEG-ADA est précautionneusement et progressivement retirée, sous un suivi biomédical continu.

### Hémophilie B

Hormis l'essai clinique de Mao *et al.* en cours à Pékin (transfert rétroviral du gène codant pour l'IL2 dans les cas de carcinome pulmonaire), on peut noter la première publication de

résultats cliniques de thérapie génique en Asie (Lu *et al.*, Shanghai [10]). Après expérimentation préclinique, les fibroblastes cutanés de deux patients atteints d'hémophilie B ont été infectés *ex vivo* par un vecteur rétroviral de l'ADNc du facteur IX humain, puis emballés dans une matrice de collagène. Après réinjection sous-cutanée autologue, les niveaux de facteur IX des patients ont été multipliés par 2 ou 3, pour se stabiliser à 220 ng/ml, et ce durant les six mois du suivi. L'activité de coagulation a doublé chez un des deux malades pour atteindre 6,3 % des valeurs normales, et les auteurs rapportent que son état symptomatique a été visiblement amélioré. Enfin, ils ne notent aucune toxicité du traitement.

### Déficiences en récepteur des LDL (hypercholestérolémie)

L'hypercholestérolémie familiale est causée par une anomalie du gène codant pour le récepteur des lipoprotéines de basse densité (LDL). Elle se traduit par une maladie cardiovasculaire (notamment des coronaires) précoce, corrélée à une élévation anormale du rapport LDL/HDL (lipoprotéines de haute densité).

Une patiente âgée de 29 ans, homozygote pour une anomalie du gène codant pour le récepteur des LDL, a subi une résection hépatique. Après isolement, les hépatocytes ont été infectés *ex vivo* par un vecteur rétroviral exprimant l'ADNc du gène sauvage, sous le contrôle de l'amplificateur du cytomégalo virus et du promoteur de la  $\beta$ -actine de poulet. Trois jours plus tard, les hépatocytes ont été transfusés par la veine mésentérique inférieure [29]. L'ARNm du vecteur a été décelé quatre mois après cette unique administration, par hybridation *in situ* sur la biopsie hépatique effectuée. Aucune réponse immune contre l'autogreffe n'a été observée. L'hypercholestérolémie a été partiellement corrigée, de manière stable, sur les dix-huit mois d'observation, le rapport LDL/HDL ayant décliné de 10 (pré-traitement) à 5 (post-traitement). Sur le plan cardiovasculaire, Grossmann *et al.* ne peuvent qu'observer que la maladie coronarienne n'a pas progressé durant ces

\* Les deux patientes ont pu diminuer leur traitement par le PEG-ADA de plus de moitié, tandis que leurs fonctions immunes continuent de s'améliorer [31].

dix-huit mois, sans préjuger des bénéfices du traitement à terme. Wilson *et al.* mènent en phase I/II un essai clinique similaire chez 5 patients, mais n'ont pas encore publié leurs observations. Ce type de protocole devrait être poursuivi et éventuellement étendu à des affections métaboliques d'origine hépatique, telle la déficience en ornithine transcarbamylase.

## SIDA

Neuf protocoles américains concernant le SIDA emploient les vecteurs rétroviraux. Notons qu'ils rassemblent un tiers des patients recrutés sur la planète. Notamment, Viagene/Haubrich *et al.* (phase I/II en double aveugle) tentent l'immunothérapie d'adultes séropositifs par injections intramusculaires d'un placebo ou d'un vecteur rétroviral particulier, VIH-IT [30]. Ce vecteur, recombiné de façon multiple et produit en lignée canine afin de minimiser les possibilités de recombinaison, transporte des segments des gènes *env* et *rev* de VIH-1 IIIB. L'observation des 16 premiers patients n'a révélé aucune toxicité, ni pour l'instant de vaccination induite ou de chute de la charge virale. L'essai est clos ainsi que son prédécesseur de phase I (Galpin *et al.*) qui a également recruté tous ses patients autorisés [21]. Depuis début 1995, un successeur employant aussi VIH-IT est en cours : l'essai de phase II en double aveugle de Parenti *et al.*, qui a recruté 124 malades en quelques mois.

## Conclusion

Depuis les premiers essais cliniques, la thérapie génique connaît enfin quelques succès, les plus spectaculaires étant l'amélioration physiologique de patients ADA-. Cependant, elle découvre également ses limites actuelles : difficultés d'infecter les cellules souches, faibles taux de cellules transgéniques *in vivo*, restaurations génétiques et biologiques souvent transitoires (mucoviscidose), et toujours incomplètes, reprises tumorales... Ainsi qu'un défaut de jeunesse : il y a pour l'instant trop peu de patients observés pour pouvoir quantifier statistiquement les chances de réussite et les risques d'une thérapie

donnée. Gageons que la masse de protocoles actuellement en route, forts de l'expérience accumulée par les pionniers, éclaircira ces zones d'ombre. Probablement pour exclure certaines approches et éventuellement pour banaliser le recours à certaines autres ■

## T. Valère

Docteur en biologie moléculaire, Informatique scientifique, Institut Pasteur, 28, rue du Docteur-Roux, 75015 Paris, France.  
e-mail: valere at pasteur.fr

## RÉFÉRENCES

1. Clinical protocols (submitted to agencies that regulate gene transfer clinical studies). *Cancer Gene Ther* 1995 ; 2 : 225-34.
2. Tables d'information sur la transgénèse humaine en cours en France et à l'étranger. Accessible sur Internet. Serveur Web de l'Institut Pasteur, page « Thérapie génique », adresse <http://www.pasteur.fr/> ou [contacter@pasteur.fr](mailto:contacter@pasteur.fr).
3. TMC Development. The RAC report. Some notes and selected documentation on the meeting of June 8th and 9th, 1995.
4. Stewart AK, Dube ID, Kamel-Reid S, Keating A (Toronto Hospital TTH). A phase I study of autologous bone marrow transplantation with stem cell gene marking in multiple myeloma. *Hum Gene Ther* 1995 ; 6 : 107-19.
5. Cohen-Hagenauer O. Currently ongoing or planned (close to initiation) clinical trials in Europe. *EWGT Newsletter* 1995 ; 2.
6. Caplen NJ, Alton EFWF, Middleton PG, Dorin JR, Stevenson BJ, Gao X, Durham SR, Jeffery PK, Hodson ME, Coutelle C, Huang L, Porteous DJ, Williamson R, Geddes DM (St Mary's Hospital, London). Liposome-mediated CFTR gene transfer to the nasal epithelium of patients with cystic fibrosis. *Nature Med* 1995 ; 1 : 39-46.
7. Hoogerbrugge PM, Beusechem V, Valerio D, Moseley A, Harvey M, Fischer A, Debre M, Gaspar B, Morgan G, Levinsky R (Med Biol Lab, TNO, The Netherlands ; CHU Necker, Paris ; Inst Child Health, London). Gene therapy in 3 children with adenosine deaminase deficiency. *Blood* 1993 ; 82 (suppl 1) : 315a ; Abstract 1246. (l'article complet est actuellement soumis.)
8. Bordignon C, Notarangelo LD, Nobili N, Ferrari G, Casorati G, Panina P, Mazzaoli E, Maggini D, Rossi C, Servida P, Ugazio AG, Mavilio F. Gene therapy in peripheral blood lymphocytes and bone marrow for ADA-immunodeficient patients. *Science* 1995 ; 270 : 470-5.

9. Mackiewicz A, Gorny A, Laciak M, Maicki J, Murawa P, Nowak J (Great Poland Cancer Center, Poznan). Gene therapy of human melanoma. Immunisation of patients with autologous tumor cells admixed with allogeneic melanoma cells secreting IL-6 and soluble IL-6 receptor. *Hum Gene Ther* 1995 ; 6 : 805-11.

10. Lu DR, Zhou JM, Zheng B, Qiu XF, Xue JL, Wang JM, Meng PL, Han FL, Ming BH, Wang XP (Fudan University, Shanghai). Stage I clinical trial of gene therapy for hemophilia B. *Sci China B (China)* 1993 ; 36 : 1342-51.

11. Swinbanks D. Japan turns to US for help in launching gene therapy (news). *Nature* 1994 ; 371 : 6.

12. Rosenberg SA, Aebersold P, Cornetta C, Kasid A, Morgan R, Moen R, Karson E, Lotze M, Yang J, Topalian S, Merino M, Culver K, Miller D, Blaese R, Anderson F. Gene transfer into humans - immunotherapy of patients with advanced melanoma, using TIL modified by retroviral gene transduction. *N Engl J Med* 1990 ; 323 : 570-8.

13. Rosenberg SA, Spiess P, Lafreniere R. A new approach to the adoptive immunotherapy of cancer with TIL. *Science* 1986 ; 233 : 1318-21.

14. Anderson W, Blaese R, Culver K. The ADA human gene therapy protocol. *Hum Gene Ther* 1990 ; 1 : 331-62.

15. Yang Y, Trinchieri G, Wilson JM. Recombinant IL-12 prevents formation of blocking IgA antibodies to recombinant adenovirus and allows repeated gene therapy to mouse lung. *Nature Med* 1995 ; 1 : 890-3.

16. Nabel GJ, Nabel EG, Yang ZY, Fox BA, Plautz GE, Gao X, Huang L, Shu S, Gordon D. Direct gene transfer with DNA-liposome complexes in melanoma: expression, biologic activity, and lack of toxicity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993 ; 90 : 11307-11.

17. Donnelly JJ, Friedman A, Martinez D, Montgomery DL, Shiver JW, Motzel SL, Ulmer JB, Liu MA. Preclinical efficacy of a prototype DNA vaccine : enhanced protection against antigenic drift in influenza virus. *Nature Med* 1995 ; 1 : 583-7.

18. Wolff JA, Malone RW, Williams P, Chong W, Aescadi G, Jani A, Felgner P. Direct gene transfer into mouse muscle *in vivo*. *Science* 1990 ; 247 : 1465-8.

19. Crystal R, McElvaney M, Rosenfeld M, Chu C, Mastrangeli A, Hay J, Brody S, Jaffe H, Eissa N, Danel C. Administration of an adenovirus containing the human CFTR cDNA to the respiratory tract of individuals with cystic fibrosis. *Nature Genet* 1994 ; 8 : 42-50.

20. Aebersold P, Kasid A, Rosenberg SA. Selection of gene-marked TIL from post-treatment biopsies : a case study. *Hum Gene Ther* 1990 ; 1 : 373-84.

21. Brenner M, Rill D, Holladay M, Heslop H, Moen R, Buschle R, Krance R, Santana V, Andeson WF, Ihle J. Gene marking to determine whether autologous marrow infusion restores long-term haemopoiesis in cancer patients. *Lancet* 1993 ; 342 : 1134-7.

22. Rill D, Santana V, Roberts W, Nilson T, Bowman L, Krance R, Heslop H, Moen R, Ihle J, Brenner M. Direct demonstration that autologous bone marrow transplantation for solid tumors can return a multiplicity of tumorigenic cells. *Blood* 1994 ; 84 : 380-3.

23. Rubin J, Charboneau JW, Reading C, Kovach JS. Phase I study of immunotherapy of hepatic metastases of colorectal carcinoma by direct gene transfer. *Hum Gene Ther* 1994 ; 5 : 1385-99.

24. Moolten F. Tumor chemosensitivity conferred by inserted herpes thymidine kinase genes: paradigm for a prospective cancer control strategy. *Cancer Res* 1986 ; 46 : 5276-9.

25. Oldfield EH, Ram Z, Chiang Y, Blaese RM. Intrathecal gene therapy for the treatment of leptomeningeal carcinomatosis. GTI 0108. A phase I/II study. *Hum Gene Ther* 1995 ; 6 : 55-85.

26. Zabner J, Couture L, Gregory R, Graham S, Smith A, Welsh M. Adenovirus-mediated gene transfer transiently corrects the chloride transport defect in nasal epithelia of patients with cystic fibrosis. *Cell* 1993 ; 75 : 207-16.

27. Boucher RC, Knowles MR, Johnson LG, Olsen JC, Pickles R, Wilson JM, Engelhardt J, Yang Y, Grossman M. Gene therapy for cystic fibrosis using E1-deleted adenovirus: a phase I trial in the nasal cavity. The University of North Carolina at Chapel Hill. *Hum Gene Ther* 1994 ; 5 : 615-39.

28. Kohn D, Weinberg KI, Parkman P, Lenarsky C, Crooks GM, Shaw K, Hanley ME, Lawrence K, Anett G, Brooks JS, Wara D, Elder M, Bowen T, Hershfield MS, Berenson RI, Moen RC, Mullen CA, Blaese RM. Gene therapy for neonates with ADA-deficient SCID by retroviral-mediated transfer of the human ADA cDNA into umbilical cord CD34<sup>+</sup> cells. *Blood* 1993 ; 82 (suppl 1) : 315a (abstr 1245).

29. Grossman M, Raper S, Kozarsky K, Stein E, Engelhardt J, Muller D, Lupien P, Wilson J. Successful *ex vivo* gene therapy directed to liver in a patient with familial hypercholesterolemia. *Nature Genet* 1994 ; 6 : 335-41.

30. Viagene Inc, Haubrich R, McCutchan JA. An open-label, phase I/II clinical trial to evaluate the safety and biological activity of HIV-IT (V) (HIV-1 IIIB *env/rev* retroviral vector) in HIV-1-infected subjects. *Hum Gene Ther* 1995 ; 6 : 941-55.

31. Blaese RM, Culver KW, Miller AD, Carter CS, Fleisher T, Clerici M, Gene Shearer, Chang L, Chiang W, Tolstishev P, Greenblatt JJ, Rosenberg SA, Klein H, Berger M, Mullen CA, Ramsey WJ, Muul L, Morgan RA, Anderson WF. T Lymphocytes-directed gene therapy for ADA-SCID: initial trial results after 4 years. *Science* 1995 ; 270 : 475-80.

## TIRÉS À PART

T. Valère.

*m/s n° 1, vol. 12, janvier 96*

## Summary

### Clinical trials in human gene therapy. An overview

Six years after the first human somatic transgenesis, some 140 protocols are currently authorized, encompassing over 660 patients worldwide. Among a majority of phase I clinical trials, some phase I/II, and more recently double-blind phase II trials are under way. Nowadays, human gene therapy takes place on three continents. Mainly in the USA, but also in Canada, in nine European countries, as well as in China and possibly soon in Japan. Following preclinical experiments started mainly in the 80's, proof of principle has accumulated in various fields of human pathology accessible to gene therapy. Since then, the trend has moved on to human gene marking, addressing the safety and feasibility of gene transfer and *in vivo* transgene expression. And since the early 90's, actual human gene therapy has come of age, with several reports of transgene biological activity *in vivo*. Notably, ameliorations of pretreatment pathological signs have been reported in some individual cases, among various diseases and trials. Although, when observed, the amelioration was mostly transient, some investigators do report physiological corrections steadily established since treatment was completed, sometimes two years earlier (ADA-SCID). This review gives a worldwide picture of the medical indications of gene therapy: cancer, other acquired or inherited genetic disorders, and AIDS. These indications are listed along with a survey of the genes presently transferred, the vectors, their routes of administration, and lastly the number of treated patients and their countries. It concludes with an insight into the currently available clinical results of gene marking and gene therapy trials, focusing on the biological and medical issues. (English details on Internet at <http://www.pasteur.fr/>).

# PSYCHIATRIE BIOLOGIQUE ET CLINIQUE



## THE BIO-CLINICAL INTERFACE

Bio-clinical psychiatry  
Mapping brain function

J.-P. MACHER Septembre 1995  
M.-A. CROCC 508 pages, broché  
J.-F. NEDELEC ISBN : 2-7420-0110-7  
Prix : 300 FF

- Cet ouvrage contient une sélection d'articles présentés récemment lors des conférences scientifiques annuelles – dénommées « confrontations biologico-cliniques » ou, en anglais, « the bio-clinical interface » – qui se tiennent à Rouffach en Alsace. Ce recueil met résolument l'accent sur les aspects modernes et les problèmes contemporains de la psychiatrie.
- La première partie du livre aborde des domaines biologiques et cliniques.
- La deuxième moitié présente une vision quasi exhaustive des applications en psychiatrie de l'imagerie et de la Spectroscopie par Résonance Magnétique.

Docteur Marc-Antoine Crocq

Éditions John Libbey Eurotext :

127, avenue de la République – 92120 Montrouge – France

Tél. : 33 (1) 46 73 06 60

Fax : 33 (1) 40 84 09 99



## BON DE COMMANDE

A retourner aux : Éditions John Libbey Eurotext :  
127, avenue de la République – 92120 Montrouge – FRANCE

Je souhaite recevoir **THE BIO-CLINICAL INTERFACE**  
au prix de 300 FF + 30 FF de frais de port, soit 330 FF

### Paiement :

par chèque à l'ordre de John Libbey Eurotext

par carte bancaire :

Visa  Eurocard/Mastercard  American Express

Carte N°

Date d'expiration :

Signature :

Nom : .....

Adresse : .....

CP : ..... Ville : .....