

## VIH, l'agresseur, le vecteur

*L'affaire est entendue depuis maintenant un peu plus d'une année: la répllication du VIH chez les sujets infectés est intense, associée à une très importante mortalité de lymphocytes T CD4<sup>+</sup> qui est longtemps compensée par un renouvellement continu et rapide de cette population. Quels que soient les mécanismes de cette mortalité cellulaire (réponse immunitaire, apoptose, toxicité virale...), elle marque bien la virulence du virus du SIDA, un lentivirus capable d'infecter non seulement les cellules en division rapide, tels les lymphocytes en cours de régénération, mais aussi des cellules quiescentes à durée de vie longue. C'est cette dernière propriété qui est utilisée pour tenter de développer de nouveaux vecteurs rétroviraux de thérapie génique. Reste à faire en sorte que ces vecteurs ne puissent en aucun cas récupérer la virulence du VIH !*

## Thérapie génique: des vecteurs rétroviraux dérivés du VIH

Les vecteurs rétroviraux sont parmi les plus utilisés dans les tentatives passées et actuelles de thérapie génique [1]. Cependant, les vecteurs actuels dérivés du rétrovirus murin de Moloney ne peuvent transférer leur matériel génétique dans les noyaux des cellules interphasiques, et ne peuvent donc intégrer l'ADN proviral que dans des cellules en mitose. Or, de nombreuses cellules qui sont des cibles naturelles de la thérapie génique ne se divisent pas, par exemple les cellules nerveuses et musculaires. Pour celles-ci, l'adénovirus semblait jusqu'à il y a peu être l'un des seuls vecteurs plausibles. Cependant, on savait que certains rétrovirus sont parfaitement infectieux pour des cellules au repos; tel est le cas des lentivirus, et notamment du VIH qui peut infecter des macrophages quiescents. Plusieurs équipes se sont donc lancées depuis un certain temps dans le développement de vecteurs rétroviraux utilisant certains constituants du VIH. La protéine de matrice MA et Vpr semblent toutes deux essentielles à l'aptitude du VIH à infecter des cellules quiescentes; elles interagiraient avec la machinerie de transport nucléaire des cellules et permettraient ainsi le passage du complexe de préintégration du VIH dans le noyau à travers le nucléopore. L'efficacité *ex vivo* et *in vivo* d'un vecteur rétroviral fondé sur le VIH vient d'être démontrée par les chercheurs associés de deux équipes, celles de Richard Mulligan (Cambridge, MA, USA) et de Inder Verma (La Jolla, CA, USA) [2]. L'encapsidation et la formation des particules déficientes ont été obtenues grâce à la complémentation *in trans* entre trois constructions, l'une codant pour les constituants du VIH, une seconde pour le transgène et

une troisième pour la protéine d'enveloppe. La construction dérivée de VIH est dépourvue des LTR (*long terminal repeat*), de la séquence d'encapsidation, et est incapable de produire les protéines Env et Vpu. L'expression est assurée par des séquences de régulation du virus CMV (cytomégalo-virus) et le transcrit primaire ainsi obtenu est polyadénylé. La construction contenant le transgène comporte les deux LTR, la séquence d'encapsidation et l'élément RRE (*Rev response element*). Le troisième vecteur commande la synthèse d'une protéine d'enveloppe, soit celle du virus amphotropique de la leucémie murine de Moloney, soit celle du virus de la stomatite vésiculaire (VSV). Des cellules de rein 293 ont été transfectées à l'aide de ces trois constructions: des particules rétrovirales sont formées grâce à la complémentation *in trans* du génome défectueux de la construction contenant le transgène par le vecteur d'expression VIH et celui codant pour la protéine d'enveloppe. La présence de la séquence RRE dans la construction du transgène permet de conditionner une maturation normale des transcrits à la présence de la protéine rétrovirale Rev [3]. Les titres de particules rétrovirales recombinantes obtenues ont varié de 1 à 5. 10<sup>5</sup>/ml, les titres les plus élevés étant obtenus avec la glycoprotéine d'enveloppe du VSV. Les deux vecteurs commandant la synthèse d'une protéine d'enveloppe se révélèrent efficaces pour infecter diverses cellules en culture bloquées dans leur répllication, mais la transcription inverse, et donc l'intégration dans le noyau étaient sévèrement réduites dans les cellules quiescentes par rapport à des cellules en division. Cependant, les cellules quiescentes infectées semblent contenir un com-

plexe intermédiaire de transduction qui peut être réactivé et conduire à une intégration de l'ADN proviral dans l'ADN chromosomique lorsque la cellule quiescente infectée est stimulée à proliférer. Le vecteur utilisant la glycoprotéine d'enveloppe du VSV est capable de transcrire son génome et d'intégrer l'ADN proviral dans des macrophages humains en culture primaire. Ce même vecteur, appliqué par stéréotaxie dans le cerveau de rats adultes, permet d'obtenir une expression stable du transgène (jusqu'à 30 jours) dans un petit nombre de neurones. Naturellement, ces expériences restent très préliminaires et de fortes raisons de sécurité militeraient contre l'utilisation des vecteurs utilisés aujourd'hui: la recombinaison *in vivo* pourrait en effet aboutir à la production de particules virales VIH ! Le but de l'article de Naldini *et al.* [2] est cependant de démontrer la validité du concept selon lequel un vecteur rétroviral utilisant des constituants de lentivirus peut, en effet, permettre d'intégrer un ADN proviral étranger dans le génome d'une cellule quiescente, *ex vivo* et *in vivo*. Une telle intégration d'un ADN non répliatif, ne codant pratiquement que pour le transgène, pourrait permettre d'assurer des expressions de transgènes thérapeutiques beaucoup plus prolongées qu'en utilisant des vecteurs de type adénoviraux; rappelons que ceux-ci restent extrachromosomiques et qu'on en connaît le potentiel immunogène, même si ce dernier pourrait être diminué dans des vecteurs de nouvelles générations.

**A.K.**

1. Lehn P. Vecteurs rétroviraux pour le transfert de gènes dans le tissu hématopoïétique *in vivo*. *médecine/sciences* 1990; 6: 791-9.
2. Naldini L, Blömer U, Gallay P, Ory D, Mulligan R, Gage FH, Verma IM, Trono D. *In vivo* gene delivery and stable transduction of nondividing cells by a lentiviral vector. *Science* 1996; 272: 263-7
3. Diaz J, Duc Dodon M, Schaerer-Uthurralt N, Simonin D, Kindbeiter K, Gazzolo L, Madjar J. Une protéine du virus de l'herpès simplex active, à la place de Rev et de Rex, le transport nucléocytoplasmique des messagers qui codent pour les glycoprotéines d'enveloppe des rétrovirus humains. *médecine/sciences* 1996; 12: 499-502.