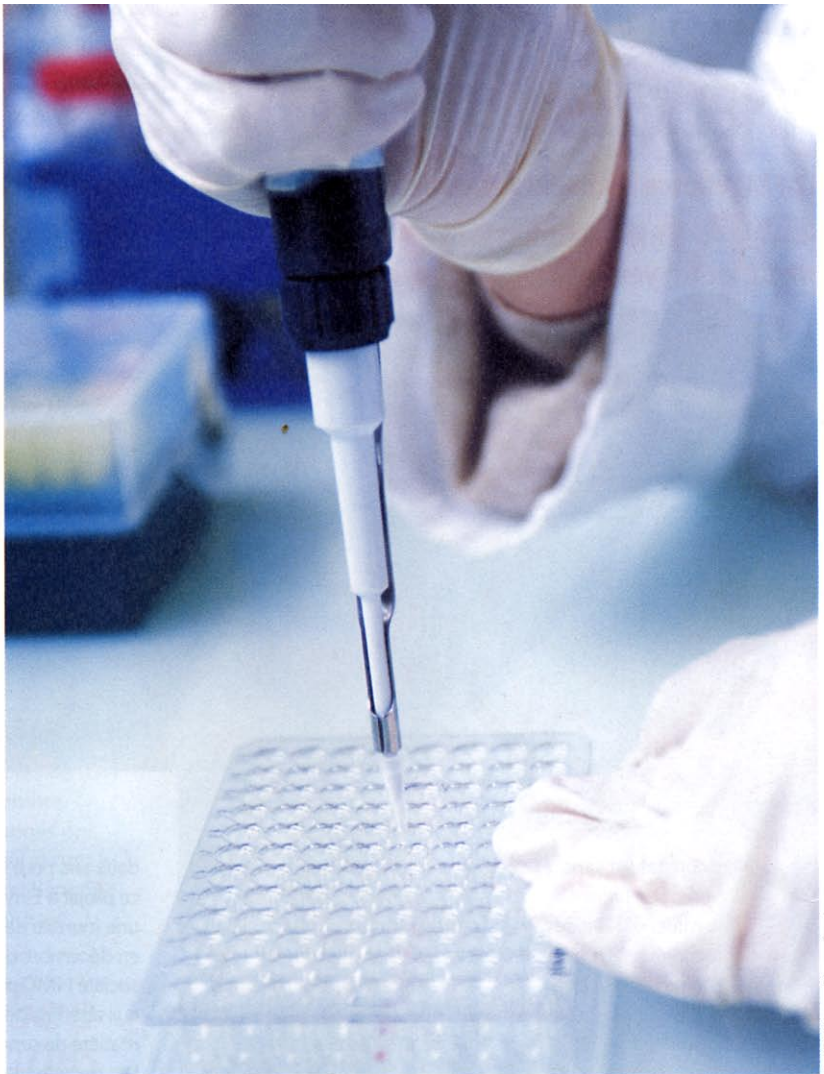


DYSTROPHIE FACIO-SCAPULO-HUMÉRALE

L'essai de thérapie cellulaire démontre

L'essai de thérapie cellulaire dans la dystrophie musculaire facio-scapulo-humérale (FSH) va débiter à l'hôpital l'Archet de Nice. Cette étude évaluera la faisabilité et la tolérance de la greffe de cellules «non dystrophiques» dans des muscles affectés par la FSH.

Le 5 octobre dernier, l'Afssaps a donné son accord pour le déroulement de l'essai de thérapie cellulaire dans la dystrophie musculaire facio-scapulo-humérale (FSH). Le principe de cette étude, coordonnée par Claude Desnuelle à Nice, et soutenue par l'AFM, s'appuie sur l'évolution même de la maladie. En effet, contrairement à d'autres myopathies où l'atteinte musculaire est généralisée, dans la FSH, seuls certains muscles sont «malades». Le traitement proposé par le médecin niçois consiste à prélever, dans les muscles épargnés, des myoblastes – des cellules capables de donner des fibres musculaires – porteurs de l'anomalie génétique mais ne l'exprimant pas, puis de les implanter dans les zones malades. En procédant de cette manière, les chercheurs espèrent guérir



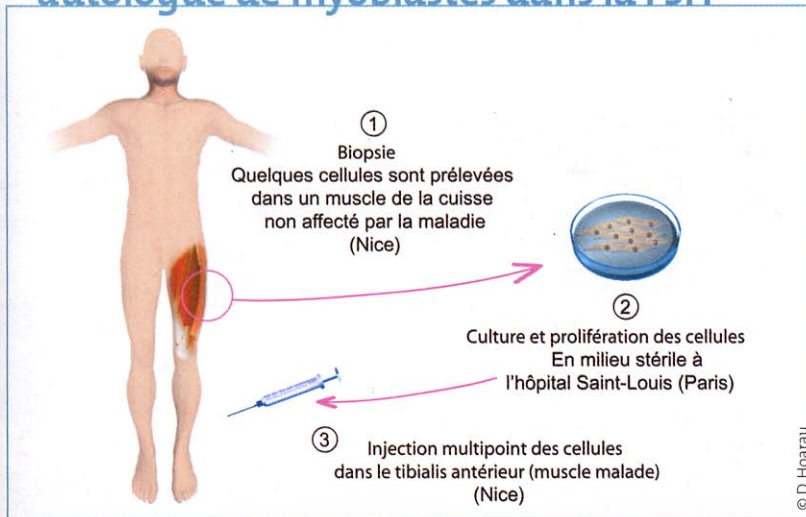
© AFM/Jean-Pierre Pouteau

Réguler le calcium

L'équipe de Doris L. Lefkowitz, de l'université de Tampa (États-Unis), a constaté que des personnes affectées par la FSH ayant suivi un traitement à base d'un médicament influant sur les taux de calcium dans l'organisme, le diltiazem, se portent mieux⁽¹⁾. D'après les chercheurs, cette observation serait cohérente avec les mécanismes moléculaires impliqués dans la maladie. En effet, ces derniers sont encore mal connus, mais différentes analyses montrent que certaines protéines – notamment ANT-1 – sont produites en plus grandes quantités dans les muscles malades. Or, il s'avère que ANT-1 est normalement régulée par le calcium. Par ailleurs, une dérégulation de ce dernier entraîne une augmentation des taux de TNF- α , une molécule impliquée dans la mort cellulaire. Forts de ces différents constats, les chercheurs supposent donc qu'inhiber le calcium grâce au diltiazem pourrait limiter l'action à la fois d'ANT-1 et de TNF- α , entraînant ainsi un ralentissement de la progression de la maladie.

(1) Fascioscapulohumeral muscular dystrophy: a progressive degenerative disease that responds to diltiazem, *Med Hypotheses*. 2005. Vol. 65, pp. 716-21

Les différentes étapes de l'essai de greffe autologue de myoblastes dans la FSH



les muscles traités, tout en n'exposant pas les patients à un rejet de la greffe, car ils utilisent les propres cellules du malade. «*Toutefois, avant de parler d'un bénéfice éventuel, nous devons évaluer la faisabilité et la tolérance de cette greffe autologue, tient à souligner Claude Desnuelle. Ce sont donc les deux objectifs principaux de notre essai.*»

800 MILLIONS DE CELLULES

En pratique, ce dernier inclura neuf patients affectés par la FSH, âgés entre 18 et 65 ans. Dans un premier temps, le médecin prélèvera un gramme d'un muscle de la cuisse. Ce prélèvement sera envoyé à l'unité de thérapie cellulaire de l'hôpital Saint-Louis où sera assurée la prolifération des myoblastes. «*L'objectif de cette étape est d'obtenir 800 millions de cellules, ce qui correspond à la quantité que nous avons jugée suffisante pour la greffe lors des études précliniques*», indique Claude Desnuelle. Trois semaines après la biopsie, les cellules obtenues seront injectées directement dans environ 40 cm³ de muscle tibial. Les trois premiers patients recevront 64 injections espacées d'un demi-centimètre. Les trois suivants en auront 100, soit une tous les 4 mm. Enfin les trois derniers recevront 189 injections séparées de 3 mm. En revanche, la quantité totale de cellules greffées ne changera pas. «*Ce nombre croissant d'injections complique un peu l'essai, car il faudra attendre les résultats du premier groupe greffé avant de passer au suivant, reconnaît Claude Desnuelle. Toutefois, cela nous permettra de voir si les patients tolèrent bien des piqûres très proches les unes des autres, car nous avons*



© AFM/Bruno Thomas

constaté lors des études précliniques que la greffe prend d'autant mieux que la densité des injections est importante.»

DES EXAMENS NON INVASIFS

Une fois la greffe effectuée, le patient restera hospitalisé pendant huit jours. Les médecins lui feront alors tous les jours des évaluations biologiques et cliniques. Ensuite, ces examens auront lieu toutes les semaines durant le premier mois, puis une fois par mois jusqu'au sixième. «*Le début du traitement sera assez lourd et contraignant pour les patients, reconnaît le médecin niçois. C'est pourquoi, pour le suivi, nous avons choisi des évaluations les moins agressives possible.*» Ainsi, l'analyse morphologique du muscle se fera grâce à l'IRM. Le PET-Scan permettra quant à lui d'observer le devenir des cellules greffées, notamment de déterminer si elles ont survécu et sont fonctionnelles. Dans les deux cas, ces examens sont non invasifs. Enfin, si l'essai est dit sans bénéfice direct, celui-ci n'est pas totalement exclu d'autant que le volume de muscle traité, 40 cm³, est loin d'être négligeable. Les médecins évalueront donc la force et la fatigue musculaires au niveau des chevilles. «*Bien sûr, nous espérons noter une amélioration induite par la greffe, reconnaît Claude Desnuelle. Toutefois, du strict point de vue de l'essai, cet objectif reste secondaire.*» En d'autres termes, il ne faut pas brûler les étapes. Ce n'est que lorsque l'étude actuelle aura montré que la greffe autologue de myoblastes est faisable et bien tolérée, que les médecins pourront envisager d'évaluer son efficacité sur un plus grand nombre de malades. ■

Françoise Dupuy-Maury

FENÊTRE SUR

Des cellules génétiquement anormales mais fonctionnelles

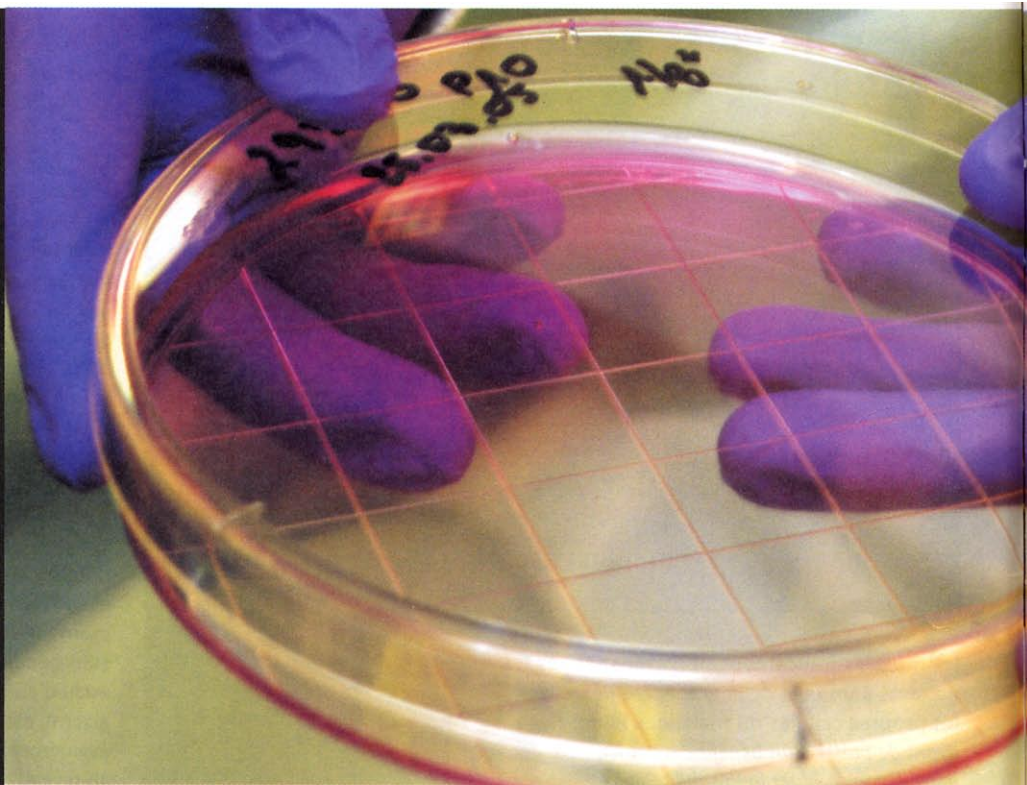
En juin dernier, Claude Desnuelle et Sabrina Sacconi, du CHU de Nice, Jean-Thomas Vilquin, de l'institut de Myologie (Paris), et Jean-Pierre Marolleau, de l'hôpital Saint-Louis (Paris), ont publié⁽¹⁾ les résultats de leur étude sur des myoblastes prélevés dans des muscles «non

dystrophiques» de patients affectés par la FSH. En les comparant à des cellules équivalentes de personnes saines, les chercheurs ont constaté que même si les myoblastes des malades sont porteurs de l'anomalie génétique induisant la FSH, ils ont gardé des capacités

de croissance et de différenciation équivalentes à leurs homologues non atteints. D'où l'intérêt de la greffe autologue de myoblastes pour les patients FSH qui sera à l'essai à Nice.

(1) Normal growth and regenerating ability of myoblasts from unaffected muscles of facioscapulohumeral muscular dystrophy patients, *Gene Therapy* (2005), Vol. 12, pp. 1651-1662

Le dernier congrès annuel de la Société européenne de thérapie génique, qui s'est déroulé à Prague à l'automne dernier, a essentiellement porté sur les différents vecteurs actuellement à l'étude.



CONGRÈS DE THÉRAPIE GÉNIQUE

Les vecteurs, le nerf de la

Du 29 octobre au 1^{er} novembre 2005 s'est tenu le 13^e congrès annuel de la Société européenne de thérapie génique (ESGT), à Prague (République tchèque) ; un congrès organisé par David Klatzmann⁽¹⁾, président de l'ESGT, et soutenu par l'AFM. Les vecteurs – viraux ou non – y ont eu une place privilégiée, mais il a aussi été question de « chirurgie » du gène et d'essais précliniques et cliniques. Si les présentations sur les vecteurs ont été si nombreuses, c'est parce qu'ils sont le nerf de la guerre en matière de thérapie génique. Sans eux, pas question d'apporter le gène-médicament jusqu'aux cellules. Adeno-Associated Virus (ou AAV), rétrovirus, lentivirus, plasmide c'est-à-dire de l'ADN nu..., aujourd'hui, les chercheurs ont plus d'une corde à leur arc. Toutefois, chaque vecteur présente des spécificités, au niveau des cellules ciblées et en matière

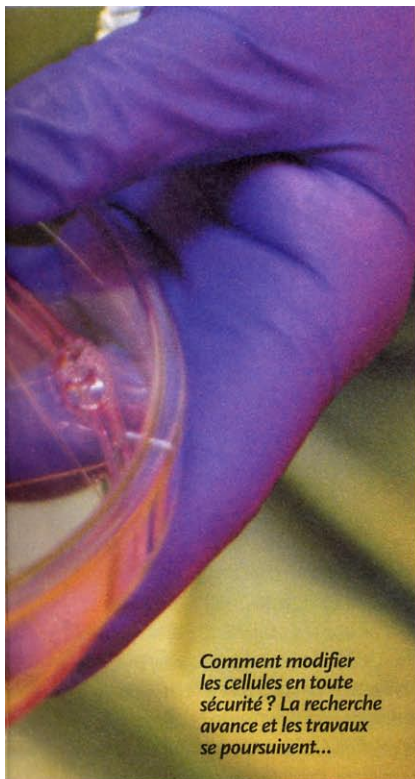


Jean-Michel Heard, de l'Institut Pasteur, travaille sur un projet de thérapie génique pour le syndrome de Hurler.

de sécurité et d'efficacité. Par exemple, « Thierry Vandendriessche⁽²⁾ a indiqué qu'en plus des cellules du foie, l'AAVg cible efficacement celles du cœur », relatent Nathalie Loux et Thierry Tournel, chefs de projet du département Recherche et développement des thérapeutiques de l'AFM présents au congrès de Prague.

UNE PALETTE DE VECTEURS TRÈS ÉTENDUE

Plus largement, les interventions se sont fait l'écho d'approches de thérapie génique utilisant des vecteurs AAV différents selon les organes ciblés, dans des modèles animaux de maladies rares : AAV2 pour les cellules rénales dans la polykystose rénale, AAV 5 pour cibler le cerveau dans la leucodystrophie métabolique ou le syndrome de Hurler, AAV8 afin d'atteindre les cellules hépatiques (du foie) dans la phénylcétonurie... La palette des vecteurs AAV est très large



Comment modifier les cellules en toute sécurité ? La recherche avance et les travaux se poursuivent...

© AFM/Laurent Audinet

guerre

d'autant que, comme l'indiquent les chefs de projets de l'AFM, «Luk H. Vandenberghe et James Wilson (3) ont présenté un travail de développement et d'optimisation de nouveaux vecteurs AAV, issus de primates, qu'ils se proposent de calibrer [c'est-à-dire de tester tous de la même façon, ndlr.] afin de déterminer quels sont ceux qui seront les plus efficaces selon les tissus visés.» L'autre point important du congrès a porté sur la sécurité des vecteurs rétroviraux ; des virus dont l'ADN s'intègre dans celui de leurs cellules cibles. En effet, depuis les incidents survenus chez trois bébés-bulles en France, une attention toute particulière est portée sur les risques de survenue de cancers, lorsque ce type de vecteurs est utilisé. «De ce point de vue, le travail de MH Brugman (4) pour la mise au point d'un test sur les souris, permettant d'évaluer les risques de "mauvaises" insertions des

rétrovirus associés à un risque de leucémie est intéressant», précise Nathalie Loux. Enfin, toujours en matière de sécurité, certaines présentations ont porté sur des vecteurs rétroviraux de type SIN (pour *Self Inactivating*) ; des virus modifiés de manière à ce qu'ils n'influencent pas des gènes voisins de leur insertion dont ceux responsables de cancers.

UNE INTERVENTION CIBLÉE AU CŒUR DES GÈNES MALADES

Depuis quelque temps, par «thérapie génique», on n'entend plus seulement «transfert d'un gène sain» pour pallier celui qui est déficient, mais aussi intervention ciblée au cœur des gènes malades. Le congrès a donc été l'occasion de faire un point sur ces «chirurgies» du gène, dont celle utilisant les siRNA. Ces petits bouts d'ARN détruisent spécifiquement des ARN messagers, bloquant ainsi la production de la protéine correspondante. Par exemple, grâce à cette technique, les chercheurs ont mis au point des modèles cellulaires dans lesquels la quantité de dystrophine exprimée varie proportionnellement à la quantité de siRNA introduite. De son côté, Olivier Danos (5) a présenté la technique du saut d'exon. Dans ce cas, ce sont des ARN dits «antisens» qui, lors de la transcription du gène en protéine, obligent la machinerie cellulaire à sauter des bouts spécifiques d'ADN, afin qu'une protéine plus petite que la normale mais fonctionnelle soit produite. Au fil des présentations, le congrès a permis également de constater que, pour certaines pathologies, les recherches étaient passées à la vitesse supérieure en matière d'études précliniques, avec des essais sur de gros animaux. «Ainsi, le travail de Jean-Michel Heard (6) sur des

“ Les recherches sont passées à la vitesse supérieure en matière d'essais précliniques. ”

chiens modèles du syndrome de Hurler, une maladie lysosomale, a permis de démontrer qu'une thérapie génique chez l'homme devrait être accompagnée d'un traitement immunosuppresseur [pour éviter les réactions immunitaires, ndlr.]», indique Nathalie Loux. Enfin, Philippe Leboulch (7) a annoncé un essai sur l'homme dans deux maladies génétiques du sang (cf. encadré). La thérapie génétique continue son avancée. Le prochain congrès de l'ESGT, en novembre 2006 à Athènes, devrait s'annoncer riche en nouvelles percées. ■

Françoise Dupuy-Maury

- (1) Hôpital de La Pitié-Salpêtrière (Paris).
- (2) Université catholique de Louvain (Belgique).
- (3) Université de Pennsylvanie (États-Unis).
- (4) Erasmus University Medical Center, Rotterdam (Pays-Bas).
- (5) CNRS - Évry (France).
- (6) Institut Pasteur (Paris).
- (7) Université d'Harvard (États-Unis) et Inserm (Paris).

FENÊTRE SUR

Essai clinique de thérapie génique dans deux maladies du sang

L'équipe d'Éliane Gluckman, de l'hôpital Saint-Louis (Paris), en collaboration avec Philippe Leboulch, de l'université d'Harvard (États-Unis), va débiter un essai de thérapie génique chez cinq patients affectés par la drépanocytose et cinq autres concernés par la β -thalassémie, deux maladies génétiques de l'hémoglobine. L'objectif de cet essai est d'évaluer la faisabilité et la tolérance de l'apport du gène de la β -globine dans des cellules souches sanguines. Chaque malade recevra le même traitement. Les médecins prélèveront des cellules souches sanguines dans la moelle osseuse du patient. Ces cellules, mises en contact avec un lentivirus qui transporte le gène-médicament, seront réinjectées au malade. Les médecins espèrent que les cellules ainsi modifiées exprimeront le gène fonctionnel et permettront la synthèse d'une hémoglobine efficace ; un effet observé chez les souris lors d'études précliniques, certaines ayant été soutenues par l'AFM.