

Thérapie génique et système nerveux

DORA HO • ROBERT SAPOLSKY

En introduisant des gènes dans les cellules du cerveau, les médecins cherchent à ralentir les dégénérescences cérébrales et à supprimer les lésions.

Les maladies neurologiques sont parmi les maladies chroniques les plus redoutées : la maladie de Parkinson ou la sclérose latérale amyotrophique privent progressivement le malade du contrôle de son organisme. De même, une lésion de la moelle épinière peut, en un instant, créer une atteinte irréparable. Quant à la maladie d'Alzheimer, qui touche 20 pour cent des personnes âgées de plus de 85 ans, elle détruit les capacités cérébrales.

La lutte contre ces maladies a peu progressé, principalement parce que le cerveau et la moelle épinière sont très vulnérables. Contrairement à de nombreux types de cellules, les cellules nerveuses, ou neurones, ne se divisent plus chez les adultes. C'est là l'origine du drame que constitue toute maladie ou lésion neurologique : les neurones qui sont touchés sont perdus, et aucune lésion du tissu nerveux cérébral ou médullaire ne se régénère spontanément.

Ce sombre tableau pourrait s'éclaircir. Des biologistes cherchent à remplacer les cellules perdues d'un tissu endommagé par transplantation de neurones ou par administration de facteurs de croissance : d'une part, ces composés stimulent les neurones survivants, de sorte qu'ils accroissent leur champ d'action et, d'autre part, ils redonnent aux cellules dormantes la capacité de se régénérer. Ces thérapies, très ambitieuses, ne seront probablement pas courantes avant de nombreuses années. À plus court terme, on souhaite empêcher la mort des neurones.

Ces dernières années, les neurobiologistes ont mieux compris com-

ment les neurones meurent à la suite d'accidents vasculaires cérébraux, de crises d'épilepsie, de lésions cérébrales, ou en raison de maladies évolutives telles que celles de Parkinson et d'Alzheimer. Les quelques essais menés pour tirer parti de ces découvertes montrent que certains médicaments protègent les neurones menacés, et qu'on parvient même, en refroidissant le cerveau, à prévenir la mort de cellules fragiles lors de crises neurologiques. En outre, l'étude de la dégénérescence des neurones, au cours des maladies, laisse entrevoir comment on pourrait protéger ces cellules en modifiant leurs gènes.

Reprogrammer pour survivre

Les gènes fournissent aux cellules des instructions pour fabriquer des protéines spécifiques, telles les enzymes qui catalysent des réactions biochimiques. Par exemple, les cellules nerveuses produisent des enzymes qui synthétisent des neuromédiateurs, substances qui assurent la communication entre neurones dans les zones où ceux-ci sont en contact (les synapses). Pour éviter la mort de ces cellules, on imagine de leur donner un gène qui coderait une protéine capable de les protéger.

Comment faire, en pratique ? La première question est de savoir quelle protéine serait utile. On pourrait augmenter la production d'une protéine cérébrale chez les personnes où cette protéine est anormale ou synthétisée en quantités inadaptées. Cependant, on pourrait aussi faire synthétiser

aux neurones une nouvelle protéine provenant d'un autre type de tissu ou même d'un organisme différent.

La stratégie « antisens » est une autre forme de thérapie génique : on fait entrer, dans le noyau cellulaire, une séquence de nucléotide qui bloque la fabrication d'une protéine spécifique. Une telle thérapeutique, qui limite la synthèse des protéines nuisibles, serait utile dans certaines formes de sclérose latérale amyotrophique ou d'autres maladies neurologiques qui résultent de l'activité destructrice d'une protéine normale ou de l'activité d'une protéine défectueuse, telle la maladie de Huntington. Les stratégies antisens pourraient aussi servir lorsque, pour des raisons encore inexpliquées, les neurones synthétisent des protéines qui déclenchent une violente crise neurologique. Ainsi, de nombreux biologistes cherchent à bloquer la fabrication des protéines dites « de mort », qui poussent les neurones lésés à se détruire.

Quand on comprend le mécanisme d'une maladie neurologique, on peut constituer une liste des gènes qui préserveraient les neurones, mais comment introduire ces gènes dans les neurones ? L'injection directe d'ADN nu dans le tissu cérébral ne conduit pas à l'assimilation de cet ADN par les neurones, alors que cette technique fonctionne avec d'autres cellules. Une meilleure technique consiste à insérer d'abord le gène dans une sphère, nommée liposome, dont la paroi est une double couche de molécules de lipides. En raison de la ressemblance chimique des molécules de lipides et des molécules qui constituent les

membranes cellulaires, ces minuscules conteneurs peuvent transporter l'ADN jusque dans les neurones cibles : ils fusionnent avec la membrane cellulaire et libèrent leur contenu dans le milieu intracellulaire. Les neurones incorporent alors une partie de ce matériel génétique dans leur noyau, là où se trouve leur propre ADN, puis ils utilisent les gènes introduits pour fabriquer la protéine thérapeutique codée par ces gènes.

Les virus sont des vecteurs de gènes encore plus efficaces. Lorsque les virus infectent des cellules, ils y introduisent leur matériel génétique : les gènes viraux commandent ensuite la synthèse des diverses molécules nécessaires à la fabrication de nouveaux virus. Bien que les virus naturels aient un redoutable pouvoir destructeur, les biologistes savent les transformer en de simples navettes inoffensives, qui se limitent à véhiculer des gènes thérapeutiques à l'intérieur des cellules. Afin d'effectuer une thérapie génique du système nerveux central, les biologistes concentrent leurs efforts sur quelques types de virus, dont les adénovirus et les virus de l'herpès.

Sur l'animal, les expériences menées avec ces virus ont confirmé la faisabilité de la thérapie génique du système nerveux. La recherche est particulièrement active en ce qui concerne la maladie de Parkinson, dont les ravages résultent de la dégénérescence

progressive d'une partie du cerveau, nommée substance noire. La destruction de cette région, qui commande en partie la motricité, perturbe la coordination du mouvement et provoque un tremblement caractéristique.

Le combat contre la maladie de Parkinson

La maladie de Parkinson survient à la mort des neurones de la substance noire qui sécrètent un neuromédiateur, la dopamine. Tous les dix ans, les adultes perdent quatre pour cent de ces neurones «dopaminergiques», mais la maladie de Parkinson résulte d'un mécanisme pathologique qui accélère la mort des neurones. Les symptômes apparaissent lorsque 70 pour cent de ces derniers sont détruits.

La cause initiale de cette maladie reste inconnue, mais les symptômes proviennent de l'insuffisance de production de dopamine. Un moyen direct de corriger ce déficit, du moins temporairement, est de stimuler la production de dopamine. En augmentant la production d'une enzyme essentielle à sa synthèse (la tyrosine hydroxylase), on augmente la concentration en dopamine, aussi longtemps que les cellules de la substance noire survivent.

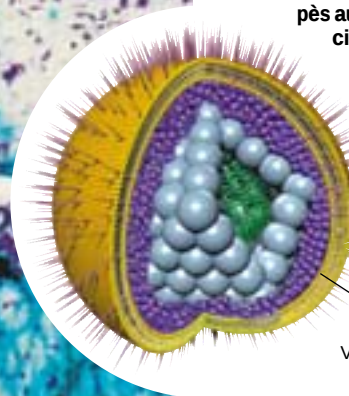
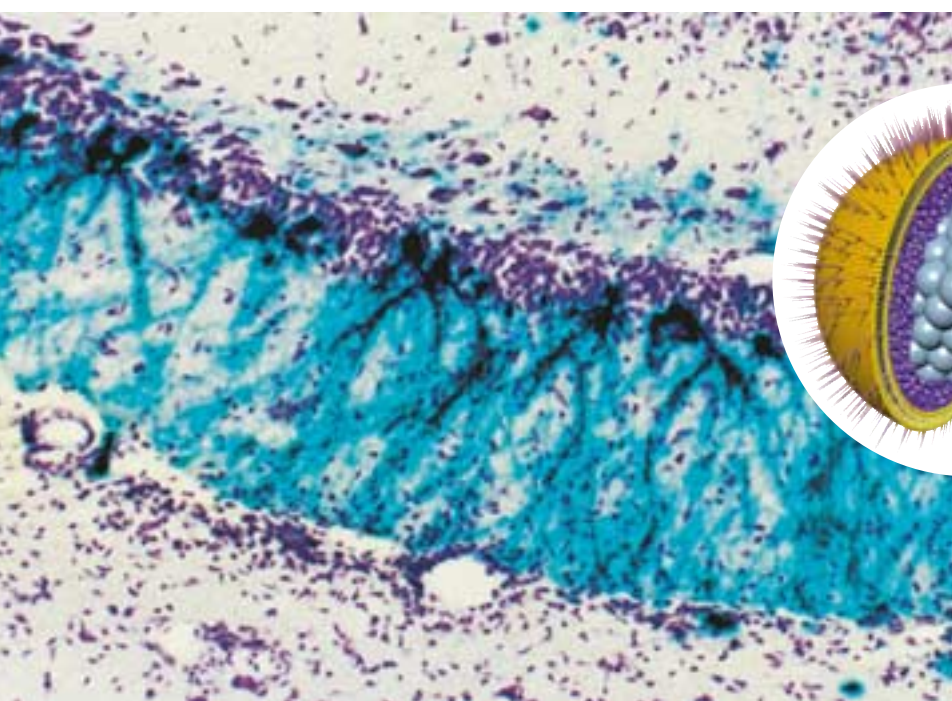
Bien que l'on sache augmenter la concentration cérébrale en dopamine à l'aide d'une substance nommée L-

dopa, ce médicament agit sur d'autres régions cérébrales et provoque parfois des effets secondaires. La thérapie génique agirait uniquement à l'intérieur de la substance noire.

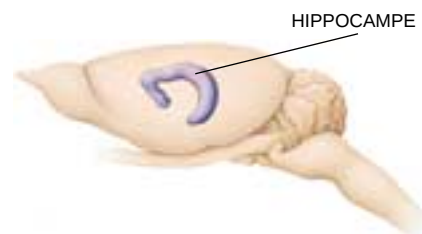
De nombreux biologistes étudient ce traitement. Plusieurs équipes de recherche ont récemment utilisé des virus de l'herpès et des adénovirus comme vecteurs géniques pour corriger les troubles provoqués chez des rats par un traitement chirurgical qui déclenchait des symptômes de la maladie de Parkinson. La mise en œuvre d'une thérapie génique a augmenté la production de l'enzyme correctrice, a accru la quantité de dopamine au voisinage des cellules qui en avaient été privées, et a partiellement éliminé les troubles de motricité des animaux.

Dale Bredesen et ses collègues de l'Institut Burnham, en Californie, ont étudié un traitement encore plus élaboré. Des biologistes avaient montré qu'une transplantation de neurones isolés de la substance noire de fœtus de rats corrigeait certains des symptômes parkinsoniens provoqués chez des rats adultes par voie chirurgicale : les neurones fœtaux libéraient de la dopamine dans la substance noire. Malheureusement, les neurones transplantés finissaient par s'autodétruire. Avant de transplanter les neurones fœtaux, D. Bredesen et ses collègues leur firent subir une thérapie génique :

1. DES NEURONES (en bleu clair sur la microphotographie) prélevés dans l'hippocampe d'un cerveau de rat ont intégré un virus d'herpès auquel on a ajouté un gène. Celui-ci code une protéine qui fait virer les cellules au bleu lorsqu'elles sont convenablement préparées pour une analyse microscopique.



VIRUS D'HERPÈS SIMPLEX



HIPPOCAMPE

Photo : R. Spolsky. Virus : Slim Films. Cerveau de rat : T. Narashima

ils leur ajoutèrent un gène qui code la protéine bcl-2, laquelle bloque le suicide cellulaire. Quatre semaines plus tard, l'état des rats qui avaient reçu les greffons normaux s'était à peine amélioré, tandis que les animaux dont les greffons portaient le gène supplémentaire se portaient mieux. Ce résultat est encourageant, mais le traitement de la maladie de Parkinson nécessitera une survie des greffons pendant plusieurs années. Pour soulager les malades, des médecins ont déjà réalisé des transplantations de cellules fœtales humaines, mais avec des résultats incertains. Des modifications génétiques des cellules fœtales humaines avant leur transplantation donneraient peut-être de meilleurs résultats.

Nouveaux traitements

Les succès déjà obtenus font espérer l'apparition prochaine de nouveaux traitements de la maladie de Parkinson et d'autres maladies résultant de dégénérescences progressives du cerveau. Ainsi la thérapie génique permettrait de limiter les lésions causées

par les troubles neurologiques aigus, telles les crises d'épilepsie.

Lors de ces crises, les cellules cérébrales les plus vulnérables sont les neurones sensibles à un neuromédiateur exciteur, le glutamate. Habituellement, le glutamate commande l'absorption de calcium par les neurones, ce qui modifie durablement l'excitabilité des synapses stimulées par ce neuromédiateur. Ce mécanisme serait le fondement cellulaire de la mémoire.

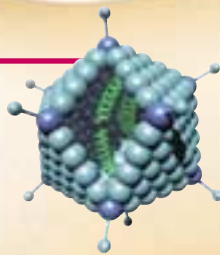
Toutefois, durant une crise d'épilepsie ou un accident vasculaire cérébral, les neurones deviennent incapables de réabsorber le glutamate libéré dans les synapses et d'éviter l'afflux excessif de calcium. Au lieu d'exciter légèrement les synapses, le glutamate et le calcium y font de graves dégâts : l'architecture cellulaire des neurones atteints se désagrège, et des radicaux libres oxygène (des molécules très réactives) renforcent l'effet dévastateur. Ces lésions tuent alors les cellules ou déclenchent les mécanismes internes de suicide cellulaire.

La thérapie génique interromprait-elle cette désastreuse succession d'événements ? Pour nos premières expériences, nous avons cultivé quelques cellules cérébrales prélevées sur un rat, et nous avons injecté dans ces neurones un virus de l'herpès que nous avons modifié génétiquement : nous lui avons ajouté un gène qui code une protéine capable de transporter des molécules de glucose à travers la membrane cellulaire. Nous espérons que ce type de thérapie augmenterait l'apport de glucose au moment précis où les neurones atteints ont besoin d'énergie supplémentaire (afin d'évacuer le calcium excédentaire).

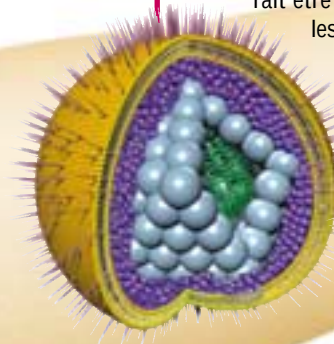
Les premières expériences ont montré que notre traitement augmente l'absorption du glucose et préserve le métabolisme des neurones soumis *in vitro* à des conditions équivalentes à celles d'une crise d'épilepsie ou d'un accident vasculaire cérébral. Puis d'autres expériences ont révélé une réduction des lésions provoquées par un accident cérébral chez des rats que l'on avait traités préventive-

Comment introduire des gènes dans les cellules nerveuses

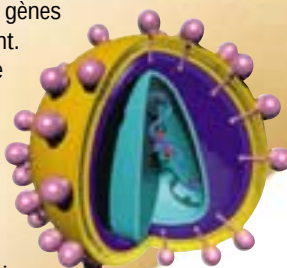
L'ADÉNOVIRUS, agent pathogène habituellement à l'origine de troubles respiratoires, peut modifier génétiquement les neurones. Sous sa forme normale, il endommage les cellules et déclenche une réaction immunitaire énergique ; aussi doit-on d'abord l'inactiver et réduire son immunogénicité.



LE VIRUS DE L'HERPÈS SIMPLEX de type 1, agent responsable des boutons de fièvre, pourrait être un vecteur de gènes. Entre les éruptions, il reste souvent à l'état dormant dans les neurones sensoriels. Toutefois, comme les adénovirus, les virus de l'herpès non modifiés endommagent les cellules et déclenchent une réaction immunitaire.



LES RÉTROVIRUS introduisent leurs gènes dans l'ADN des cellules qu'ils infectent. De nombreux rétrovirus n'infectent que les cellules qui se divisent régulièrement et ne peuvent donc être utilisés pour la modification génétique des neurones. D'autres virus (de la famille dite des lentivirus, à laquelle appartient le virus du SIDA) peuvent infecter les cellules qui ne se divisent pas et serviront peut-être un jour pour une thérapie génique du système nerveux.



LES VIRUS ASSOCIÉS AUX ADÉNOVIRUS, des virus défectueux qui nécessitent un adénovirus pour se répliquer, n'endommagent pas les cellules nerveuses qu'ils infectent et ne provoquent pas de réaction immunitaire. Bien plus petits que d'autres virus également étudiés pour la thérapie génique, ils pourraient traverser plus facilement les petits pores de la barrière hémato-encéphalique. En revanche, leur petite taille limite la quantité d'information génétique qu'ils peuvent introduire dans les cellules.



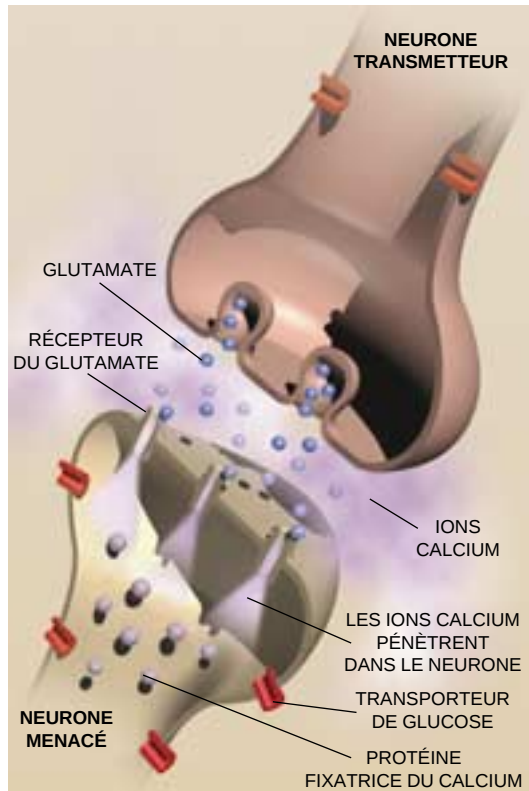
ment par le virus modifié. On ne sait pas prévoir le moment exact des crises d'épilepsie ou des accidents vasculaires cérébraux, mais, quelques heures après la crise, la thérapie génique protège encore les neurones.

Une autre forme de thérapie génique possible contre les attaques ou les traumatismes serait la désactivation des mécanismes d'apoptose (le suicide cellulaire). Howard Federoff et ses collègues de l'Université de Rochester, ainsi que Matthew Lawrence, dans notre équipe, ont introduit un gène inhibiteur de l'apoptose, *bcl-2*, dans des virus de l'herpès. Le traitement des cellules cérébrales de rats par ces vecteurs viraux protège contre les dégâts d'une crise, même lorsque le traitement commence après celle-ci.

Les neurobiologistes étudient également la prévention des maladies génétiques qui entraînent des altérations du métabolisme lipidique et qui conduisent à une accumulation létale de molécules de graisses dans le cerveau. À la recherche de thérapies géniques contre ces maladies, les biologistes ont produit des souris porteuses d'une mutation du gène qui code la bêta-glucuronidase. John Wolfe et ses collègues de l'Université de Pennsylvanie ont transplanté, chez une souris atteinte, des neurones fœtaux génétiquement modifiés pour fabriquer de la bêta-glucuronidase, et ils ont constaté que les implants supprimaient les lipides dévastateurs du cerveau de l'animal.

La fabrication des vecteurs viraux demeure difficile : quand on désactive trop le virus, il n'infecte plus suffisamment les neurones, mais, quand on le désactive trop peu, il endommage les neurones qu'il infecte. Aujourd'hui, tous les vecteurs viraux réalisés présentent l'un ou l'autre de ces défauts, et bien des perfectionnements seront nécessaires avant qu'on puisse tester en toute sécurité des thérapies géniques chez les personnes atteintes de maladies neurodégénératives.

De surcroît, le cerveau est enfermé dans la boîte crânienne, de sorte que l'injection d'un produit thérapeutique directement dans le tissu atteint est difficile. Lors des expériences sur les animaux, les neurobiologistes percent un orifice dans la boîte crânienne, afin d'in-



2. AU COURS D'UNE CRISE D'ÉPILEPSIE ou d'un accident vasculaire cérébral, un neuromédiateur (le glutamate) s'accumule excessivement (en bleu) dans la fente synaptique entre les neurones. Sur la cellule réceptrice (en bas), des molécules spécialisées, ou récepteurs de glutamate, permettent alors aux ions calcium (en violet) de pénétrer à l'intérieur de la cellule et d'y causer des dégâts irréversibles. Par thérapie génique, on voudrait augmenter la quantité de protéines fixant ces ions calcium (fixés, ils deviendraient inoffensifs) ou accroître le nombre de transporteurs de glucose, qui apporteraient alors au neurone menacé une énergie qui lui permettrait de résister aux lésions.

jecter le produit dans la partie du cerveau menacée ; chez l'homme, on cherche un traitement moins invasif. On pourrait injecter un virus par voie intraveineuse (si l'on mettait au point un virus qui limitait son action au tissu nerveux), mais le virus serait sans doute bloqué par la barrière hémato-encé-

phalique, ce réseau de capillaires qui ne laisse passer dans le tissu cérébral que les petites molécules.

D'autres obstacles existent. Si les vecteurs viraux atteignent le cerveau, seront-ils assez actifs ? Agiront-ils suffisamment longtemps ? Les biologistes devront améliorer le rayon d'action, l'efficacité et la persistance des modifications génétiques.

Les défis du cerveau

Quelles sont les possibilités réelles de la thérapie génique du cerveau ? Les travaux d'Anders Björklund et de ses collègues de l'Université de Lund en donnent un aperçu. Ces biologistes, les premiers à avoir exploré les méthodes de transplantation de neurones fœtaux, ont mis au point des greffons qui produisent de grandes quantités d'un facteur de croissance des nerfs. Ils ont greffé à des rats adultes quelques-unes de ces cellules transgéniques, en ciblant une région du cerveau essentielle pour l'apprentissage et la mémoire – région qui se dégrade lentement à mesure du vieillissement. Cette manipulation inversa le déclin des facultés cognitives chez les rats âgés.

Cette réussite laisse imaginer que la thérapie génique pourrait servir, non seulement à faire reculer la maladie, mais aussi à améliorer la mémoire et la coordination des personnes âgées. Les neurobiologistes auront beaucoup à faire avant qu'on puisse appliquer cette technique en gériatrie, mais, un jour, la thérapie génique constituera un outil médical efficace pour ralentir le vieillissement des cerveaux âgés.

Dora HO est biologiste et Robert SAPOLSKY est professeur de biologie et de neurosciences. Ils travaillent tous deux à l'Université Stanford.

M.J. DURING et al., *Long-Term Behavioral Recovery in Parkinsonian Rats by an HSV Vector Expressing Tyrosine Hydroxylase*, in *Science*, vol. 266, pp. 1399-1403, 25 novembre 1994.

Jack COHEN et Michael HOGAN, *Le blocage des gènes*, *Pour la Science*, février 1995.

D.Y. HO et al., *Use of Herpes Simplex Virus*

Vectors for Protection from Necrotic Neuron Death, in *Viral Vectors : Gene Therapy and Neuroscience Applications*, sous la direction de M. Kaplitt et A. Loewy, Academic Press, 1995.

D.J. FINK, N.A. DELUCA, W.F. GOINS et J.C. GLORIOSO, *Gene Transfer to Neurons Using Herpes Simplex Virus-Based Vectors*, in *Annual Review of Neuroscience*, vol. 19, pp. 245-287, 1996.

Moussa YOUSSEF et Peter RIEDERER, *La maladie de Parkinson*, *Pour la Science*, mars 1997.