

La thérapie génique : nouvelle arme contre le VIH ?

Un patient séropositif guéri du VIH met en lumière les avancées d'une nouvelle approche thérapeutique contre le virus. De quoi rêver à une possible éradication. Décryptage.

À la Une du *New York Times*, Timothy Ray Brown peut doublement sourire. Cet américain de 45 ans vivant à San Francisco a été guéri de deux maladies : d'une leucémie et du VIH contracté il y a plus de quinze ans. Et cela grâce à une greffe de moelle osseuse ! En 2007, le Dr Gero Hütter, de l'hôpital universitaire de la Charité (Berlin), qui le traitait pour sa leucémie, a eu l'idée de lui transférer des globules blancs porteurs d'une double mutation génétique, appelée « delta 32 ». Cette mutation, qui touche moins de 1% de la population européenne, empêche les cellules immunitaires d'exprimer à leur surface le corécepteur CCR5, l'une des portes d'entrée du VIH dans la cellule CD4. La greffe a été un succès et le système immunitaire de Timothy Brown s'est entièrement reconstitué, totalement résistant au VIH. Depuis six ans, il a même complètement éliminé le virus de son organisme. C'est le premier cas de guérison du VIH !

Premiers essais chez l'homme. Celui que l'on a dénommé « le patient de Berlin » suscite évidemment beaucoup d'espoir. Mais ce cas restera quasiment unique. Toutes les personnes vivant avec le VIH ne pourront pas bénéficier d'une telle greffe. D'abord en raison du risque élevé de

rejet. Ensuite du nombre insuffisant de donneurs porteurs de la mutation delta 32. Ce qui ne décourage pas les scientifiques qui misent sur la thérapie génique. Le principe : remplacer tous les lymphocytes CD4 du patient par des cellules immunitaires résistantes au VIH. Comment ? En insérant dans l'ADN de ces cellules un gène capable de bloquer l'entrée ou la réplication du virus. Les cellules sont prélevées sur le patient, modifiées, puis réinjectées dans son sang. On parle alors d'autogreffe. On est ainsi sûr qu'il n'y aura aucun risque de rejet.

La thérapie génique est explorée depuis une quinzaine d'années pour traiter l'infection par le VIH, mais elle était un peu délaissée au vu des résultats spectaculaires de la trithérapie. Les résultats du patient de Berlin lui ont donné un regain d'intérêt. Le premier essai chez l'homme date de 2009¹. Dans cet essai de phase II, le traitement reposait sur le transfert d'un gène qui bloque la réplication du VIH. Trente-sept volontaires séropositifs ont reçu des cellules souches sanguines² porteuses d'un gène bloquant deux protéines du virus nécessaires à sa prolifération, TAT et VPR. La charge virale a été peu affectée, mais le traitement a été bien toléré. Preuve des faibles risques de cette stratégie thérapeutique.

Un appel pour éradiquer le virus

Pour Françoise Barré-Sinoussi, guérir du VIH « n'est plus un rêve ». Pour preuves, la guérison quasi miraculeuse de Timothy Brown et ce que l'on sait des « contrôleurs VIH », ces très rares séropositifs qui, sans aucun traitement, présentent une charge virale indétectable, certains depuis plus de quinze ans. Chez ces personnes, la taille du réservoir est beaucoup plus faible que chez les autres, car elles contrôlent naturellement l'infection par le VIH. Selon Françoise Barré-Sinoussi, « la recherche scientifique devrait donc arriver à élaborer de nouveaux schémas thérapeutiques permet-

tant d'induire ces mécanismes de contrôle afin d'éradiquer le virus ». Pour relever ce défi d'arriver à une guérison tout au moins fonctionnelle de l'infection, la chercheuse a lancé l'appel « Vers un traitement curatif contre le VIH » (Towards an HIV cure) en juillet 2011 lors de la conférence de l'International AIDS Society. Un comité scientifique, réunissant divers experts du VIH ainsi que d'autres pathologies chroniques, travaille à élaborer une stratégie scientifique globale. Propositions attendues lors de la prochaine Conférence internationale sur le sida, à Washington en juillet prochain.



Des ciseaux moléculaires comme thérapie. En 2007, la société de biotechnologie américaine Sangamo BioSciences a donné un grand coup de pouce à tous ceux qui voulaient mimer ce qui a été pratiqué chez Timothy Brown. Elle a développé des ciseaux moléculaires appelés « nucléases à doigts de zinc » ou « ZFN », capables de couper dans l'ADN le gène CCR5. Plus de gène, plus d'expression possible ! Trois ans plus tard, Paula Cannon, de l'université de Californie du Sud, les a utilisés pour rendre résistantes des cellules souches sanguines humaines³. Les cellules modifiées ont ensuite été transfusées à des souris dépourvues de système immunitaire. Le pourcentage de ces cellules est certes très modeste – moins de 4%, mais, comme l'explique la chercheuse, « le VIH détruit exclusivement les lymphocytes CD4 exprimant CCR5, il finira donc par sélectionner les lymphocytes résistants pour ensuite disparaître ». Au bout d'une douzaine de semaines, la charge virale était en effet quasi indétectable dans les lymphocytes intestinaux, cibles privilégiées du VIH (la charge virale dans le sang n'a pas été mesurée dans le cadre de cette étude). Au regard de ces résultats, Sangamo BioSciences s'est lancé dans un essai clinique de phase I chez l'homme avec l'aide d'un expert de la thérapie génique, le Dr Carl June, de l'université de Pennsylvanie (Philadelphie). Nom de code de l'essai : SB-728-T. Le gène CCR5 a été supprimé dans les lymphocytes CD4 de six patients séropositifs traités et ayant une charge virale indétectable. Une fois modifiés, les lymphocytes ont été transfusés aux patients qui ont interrompu leur trithérapie quelques semaines plus tard. Dans l'ensemble, les perfusions ont été bien tolérées et sans effets secondaires majeurs. Chez cinq patients, le nombre de CD4 est remonté. Les cellules modifiées ont été retrouvées jusqu'à un an après l'injection, montrant qu'elles étaient capables de se multiplier au sein de l'organisme, notamment dans la muqueuse intestinale, principal réservoir du virus. La

charge virale a un peu baissé chez trois patients. Un seul a conservé une charge virale indétectable, avec le meilleur taux de CD4. Il était en fait porteur d'une simple mutation delta 32 – une seule sur les deux copies que compte le gène –, ce qui diminue le taux de CCR5 et confère une protection partielle contre l'infection par le VIH. Sûrs de « la faisabilité de cette stratégie pour lutter contre le VIH », Carl June et Jacob Lalezari, directeur du Quest Clinical Research (San Francisco) et autre investigateur de SB-728-T, se sont déjà lancés dans d'autres essais de phase I et de phase II. Toujours avec l'aide de Sangamo BioSciences. Les résultats sont très attendus lors de la prochaine Conférence internationale sur les rétrovirus et les infections opportunistes (CROI) en 2013.

Alternatives aux ciseaux et autres cibles. Les doigts de zinc n'opèrent cependant pas avec des doigts de fée. Les ZFN peuvent en effet induire de – rares – délétions dans l'ADN, sources de cancers comme les leucémies. C'est pourquoi d'autres équipes proposent des alternatives aux ciseaux moléculaires. Comme le font Gilles Marodon, chercheur au laboratoire d'immunologie-immunopathologie-immunothérapie du Pr Klatzmann à l'hôpital de La Pitié-Salpêtrière (Paris), et son étudiant en thèse, Nicolas Petit. « Il est possible d'inhiber CCR5 un peu avant qu'il ne vienne s'exprimer à la surface du lymphocyte, sans avoir à découper l'ADN », indiquent les deux chercheurs. Leur arme ? « Une protéine appelée "intrakine" qui se fixe sur CCR5 peu après qu'il ait été synthétisé dans la cellule. Une fois inhibé, le corécepteur est détruit. » Les résultats sont encore préliminaires : les chercheurs travaillent à valider leur modèle. Ils ont inséré le gène de cette intrakine, développée par l'équipe du Pr Gorochov à La Pitié, dans des cellules souches humaines de sang de cordon. Celles-ci ont été transférées dans des souris immunodéficientes, pour donner naissance à des souris dites « humanisées », c'est-à-dire porteuses d'un système immunitaire humain, en particulier des lymphocytes CD4 humains. Reste à savoir si les cellules modifiées réussiront à protéger les souris de l'infection par le VIH. Le corécepteur CCR5 n'est cependant pas la seule cible privilégiée. À l'université de Pennsylvanie, Craig Wilen tente de bloquer une autre porte d'entrée du virus : le corécepteur CXCR4. Pour cela, il utilise une nucléase doigt de zinc anti-CXCR4. Pour le moment, la stratégie montre une efficacité partielle sur des souris humanisées. À terme, l'objectif est de supprimer à la fois CCR5 et CXCR4. Ainsi, on multiplie les chances d'empêcher le virus d'entrer, même si en mutant il réussit à s'adapter à l'absence de l'un des récepteurs. Plutôt que de cibler la porte d'entrée du virus, d'autres équipes tentent de redynamiser les cellules immunitaires.

À l'institut de recherche biomédicale Henri-Mondor (Créteil), Clarisse Benne s'intéresse à une molécule dont on connaît le rôle depuis un an : SAMHD1. Cette protéine intracellulaire protège naturellement les cellules dendritiques de l'infection par le VIH-1 en bloquant sa répllication. L'idée développée par la chercheuse est de faire surexprimer SAMHD1 en insérant son gène dans les cellules souches sanguines qui se différencieront ensuite en CD4. Les travaux n'en sont qu'à leurs débuts.

Autre stratégie développée : faire exprimer par les lymphocytes B, cellules productrices d'anticorps, des anticorps neutralisants particuliers. En décembre dernier, l'équipe du prix Nobel de médecine [1975] David Baltimore, du California Institute of Technology, a réussi à faire produire à des souris deux anticorps neutralisants, b12 et VRC01, capables de bloquer toutes les variantes connues du VIH⁴. Les chercheurs avaient injecté dans la patte du rongeur un virus inoffensif équipé d'un morceau d'ADN codant pour les deux anticorps. Les taux d'anticorps exprimés étaient suffisamment élevés pour prévenir une infection par le VIH. Des essais chez l'homme doivent être lancés.

Des limites à dépasser. Les stratégies sont donc diverses et semblent pour certaines prometteuses. Les premiers essais cliniques de phase I et II montrent la faisabilité et l'apparente innocuité de la thérapie génique. Mais il convient d'être prudent sur les limites de cette approche. Le nombre insuffisant de cellules souches génétiquement modifiées et réinjectées aux patients empêche souvent d'observer un réel bénéfice de cette thérapie sur la charge virale. Combiner les cibles dans une même thérapie pour-



rait peut être s'avérer payant. Reste que la tâche risque d'être lourde et difficile à mettre en œuvre. Et si la thérapie génique est aujourd'hui une réalité comme stratégie d'éradication du virus, elle ne pourrait pour l'heure s'adresser qu'à une infime proportion de patients qui devraient bénéficier d'une greffe de moelle osseuse. Le coût peut sembler élevé, de l'ordre de 15 000 dollars pour une injection, mais cela représente presque le prix moyen d'un an de trithérapie au Nord. Finalement, une guérison en une seule injection, bien que coûteuse, le serait probablement moins qu'un traitement à vie. ●

¹ R. T. Mitsuyasu *et al.*, *Nature Medicine*, 15, 285, 2009.

² Cellules à l'origine de toutes les cellules immunitaires, dont les lymphocytes CD4, et que l'on trouve dans la moelle osseuse.

³ N. Holt *et al.*, *Nature Biotechnology*, 28, 839, 2010.

⁴ A. Balazs *et al.*, *Nature*, 481, 81, 2011.

La stratégie du gène-médicament

En avril 2000, à l'hôpital Necker (Paris), deux enfants privés de système immunitaire depuis leur naissance sortaient de la bulle stérile dans laquelle ils vivaient afin d'éviter les infections. Une sortie possible après que des scientifiques ont corrigé la maladie en remplaçant le gène défectueux, responsable de leur pathologie, par sa copie normale. D'où le nom de thérapie génique. Le principe ? Les chercheurs créent un vecteur, un virus rendu inoffensif après avoir supprimé une grande partie de son génome. Ils y insèrent une copie normale du gène à remplacer ou un gène « médicament » ou encore un gène inhibant l'expression d'un autre. Ce vecteur est ensuite mis en culture avec les cellules cibles du patient que l'on veut corriger. Par exemple, les cellules souches de la moelle osseuse. L'ADN du

vecteur s'intègre aléatoirement au génome des cellules souches, leur apportant ainsi le gène correcteur. Les cellules modifiées sont réinjectées au patient par voie intraveineuse. Elles se divisent et finissent par remplacer les cellules défaillantes. Les premiers succès de thérapie génique, il y a une dizaine d'années, ont été très médiatisés, mais ils ont rapidement été entachés d'effets secondaires graves, comme des leucémies. Le rétrovirus de souris utilisé comme vecteur avait tendance à s'insérer en amont d'un gène connu pour être un initiateur de tumeur, un proto-oncogène. Depuis, des progrès majeurs ont été réalisés. Les scientifiques ont développé d'autres vecteurs, moins à risque de s'insérer à proximité d'un proto-oncogène, comme les lentivirus, des rétrovirus de la même famille que le VIH.

Afrique : Sidaction s'exporte

La première antenne de Sidaction vient de voir le jour à Ouagadougou, au Burkina Faso. Son ambition est d'apporter une assistance technique aux associations locales, à commencer par la gestion administrative et comptable.

Avec une prévalence estimée à 1,7 %, le Burkina Faso est régulièrement présenté comme un pays sinon modèle au moins impliqué dans une lutte contre le VIH sérieuse et volontaire. Pour preuve, en l'espace d'une décennie, la proportion de personnes séropositives est passée de plus de 7 % à moins de 2 %. Certes, la surveillance épidémiologique s'est depuis améliorée et les chiffres sont certainement plus justes aujourd'hui, mais la tendance à l'amélioration est réelle. Elle a notamment été possible par un engagement des pouvoirs publics et, surtout, de la société civile, traditionnellement très active au « pays des hommes intègres ». Très tôt, elle a su s'organiser et se mobiliser afin d'assurer plaidoyer, soutien, prise en charge et prévention. De nombreux programmes ont été créés, dont l'ingéniosité, la pertinence et l'efficacité ont permis aux instigateurs de bénéficier de financements internationaux.

Répondre à l'exigence des bailleurs. Parmi ces bailleurs, Sidaction, au sein de laquelle les projets associatifs burkinabés ont progressivement occupé un espace conséquent. Naturellement, en vertu d'analyses d'efficacité et d'économie, s'est donc imposée l'idée d'ouvrir à Ouagadougou, la capitale, la première antenne de Sidaction. Car ces financements attribués, et tous ceux auxquels peuvent prétendre les structures associatives et de formation, nécessitent un suivi de gestion comptable et financière du niveau d'une entreprise du secteur privé. Ce dont ne disposent pas toujours ces associations nées dans l'urgence et constituées de personnels engagés et volontaires mais pas toujours formés. Confrontées à une offre exigeante répondant à une demande exsangue, les associations se doivent de garantir aux bailleurs un niveau élevé de compétences administratives et sociales. Patrick Kaboré, chargé de mission « Gestion finance » à Sidaction, explique qu'il est primordial d'apporter « un appui à la structuration et à la professionnalisation des associations ». « En effet, poursuit-il, ces structures ne perçoivent pas toujours l'enjeu de disposer d'un manuel de procédures, de fiches de poste, d'inventaire des biens et d'un logiciel comptable. » Des éléments aujourd'hui primordiaux afin d'être en mesure de certifier les comptes et, par ricochet, de se placer au niveau d'exigence des bailleurs internationaux. « Ainsi, souligne Patrick Kaboré, avec l'appui sur le terrain de Sidaction, certaines associations

parviennent à obtenir une certification des comptes. Pour les autres, encore en formation, même en l'absence d'une certification officielle, la capacité à produire des comptes de qualité dans un délai raisonnable est un atout majeur. »

Formation à la gestion informatisée. Concrètement, l'intervention du représentant de Sidaction débute par un état des lieux, réalisé au cours d'une mission (une à deux semaines) visant à recenser les conditions préalables à l'installation d'un système de gestion informatisée, choisi en concertation avec les associations. Pour débiter une formation à la gestion informatisée, les structures doivent disposer d'un manuel de procédures administratives et financières, d'un état global des paies pour les intervenants et les salariés, d'un dossier pour le suivi de chacun et des contrats à jour. Concernant les biens, un inventaire de tout ce dont elles disposent doit être établi. Enfin, pour l'utilisation du logiciel, un plan des activités comptables, budgétaires et géographiques sera élaboré, ainsi qu'un recensement des bailleurs. « Une fois ces conditions réunies, les associations sont à même de débiter l'apprentissage à l'utilisation du logiciel. » Patrick Kaboré intervient d'abord en formation, puis en suivi, « l'utilisation effective du logiciel impliquant une grosse charge de travail ». À ce jour, cinq structures burkinabés ont été équipées et formées : Revs+, Alavi, le Rame, la MAS et AAS. Revs+ devrait être en mesure de faire certifier ses comptes pour l'année 2011 grâce au logiciel et à la formation inhérente (avec l'appui conjoint de Coalition Plus). Les autres pourront produire des états financiers annuels globaux fin 2012. Patrick Kaboré se réjouit de témoigner « d'une volonté indéniable des premiers responsables, ainsi que des comptables ». Il souligne également que les interventions en direct, au sein de chaque structure, « réveillent les compétences ».

En intégrant le logiciel au sein des structures associatives, Sidaction participe à leur développement et à leur indépendance, indispensables à la sollicitation de budgets internationaux. « Une structure à même de certifier ses comptes et de produire un audit global sera perçue comme « propre » par les bailleurs. Une force incontestable à un moment où la crise se fait ressentir fortement, tant par les bénéficiaires que par les bailleurs », conclut Patrick Kaboré. ●