

Thérapie génique per-opératoire

Pr. Jean-Louis Merlin

Unité de Biologie des Tumeurs
Centre Alexis Vautrin



Cancer = Maladie génétique

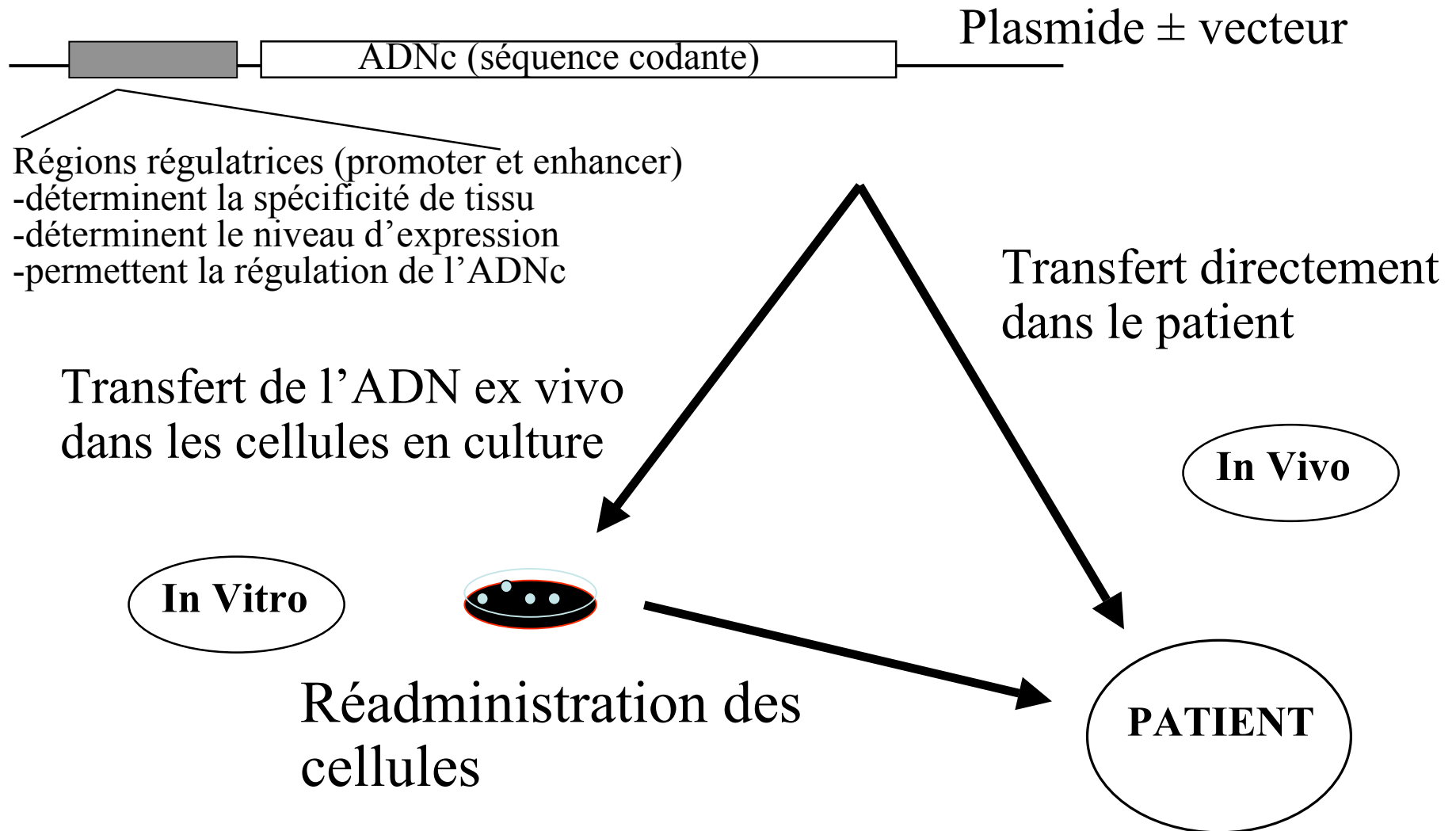
Environ 4000 maladies génétiques héréditaires
(maladies « orphelines »)

Maladies acquises : maladies neurodégénératives, cancer

⇒ Concept de thérapie génique :

« Insertion délibérée de matériel génétique dans l'organisme d'un patient pour corriger un défaut précis à l'origine d'une pathologie, que ce soit à titre curatif ou préventif »

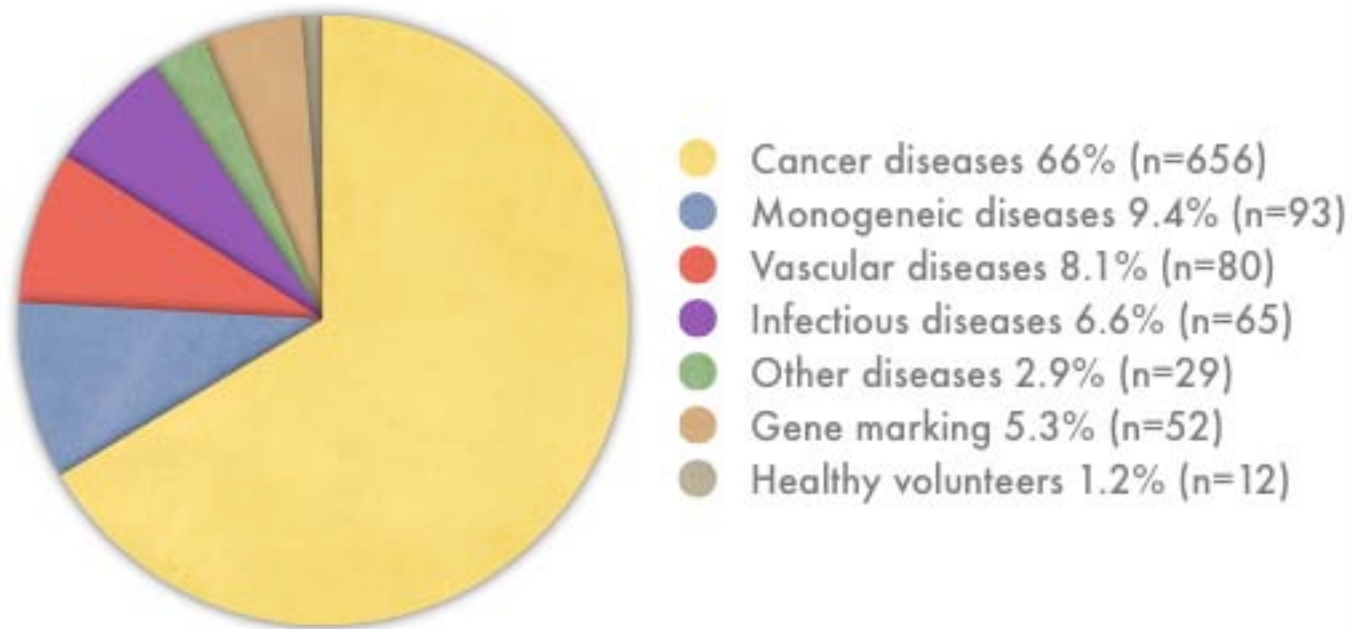
Stratégies de transfert de gène



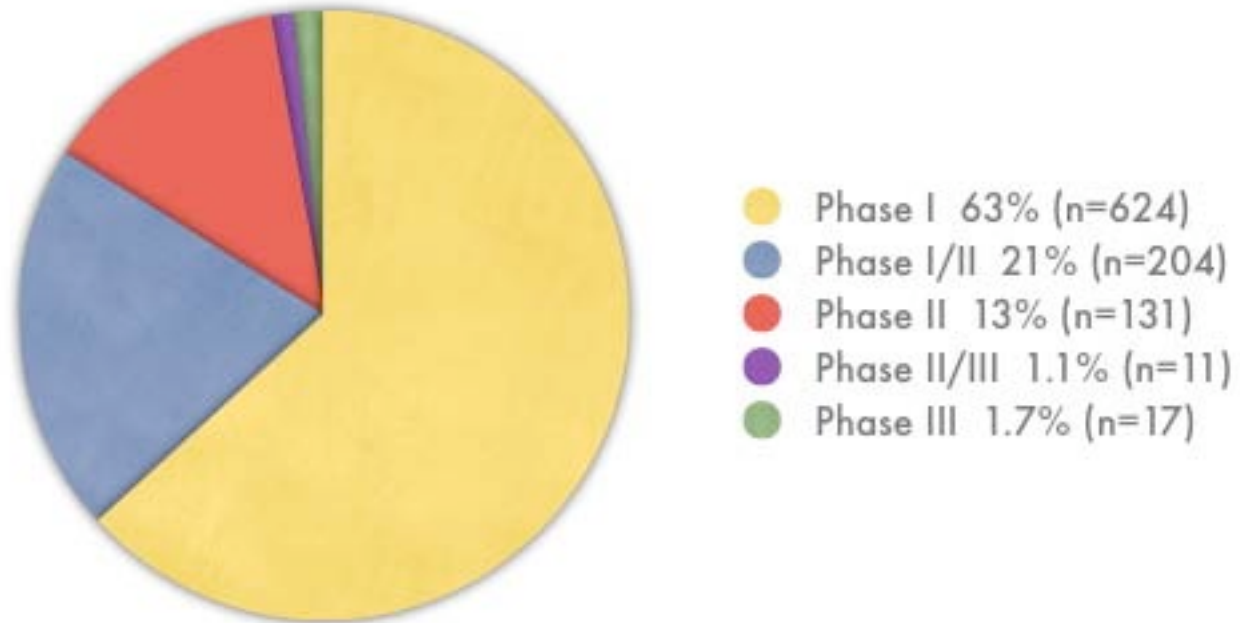
Dates -Clés

- 1973 : Premières expériences de transfert de gènes.
- 1980 : Première expérience de thérapie génique par Cline (Etats-Unis).
- 1986 : Identification du gène de la myopathie de Duchenne sur le chromosome X par le généticien américain A Monaco
- 1987 : Lancement du Téléthon par l'Association française contre les myopathies
- 1990 : Fondation du Généthon par l'Association française contre les myopathies et le centre d'étude du polymorphisme humain
- 1990 : Premier succès partiel de la thérapie génique chez une fillette de 4 ans atteinte de déficit immunitaire en ADA (adénosine déaminase), par l'équipe du Pr M Blaese à Bethesda aux Etats-Unis.
- 2000 : Premier véritable succès de la thérapie génique chez deux nourrissons atteints d'un déficit immunitaire combiné sévère (SCID) par le Pr A Fischer et M Cavazzana-Calvo à Necker-Enfants Malades - Paris.
- 2006 : Essai ONYX (p53 vecteur viral) en cancérologie
- 2008 : Thérapie génique du SCID agréée ? (Pr MG Roncarolo - HSR-TIGET Milan)

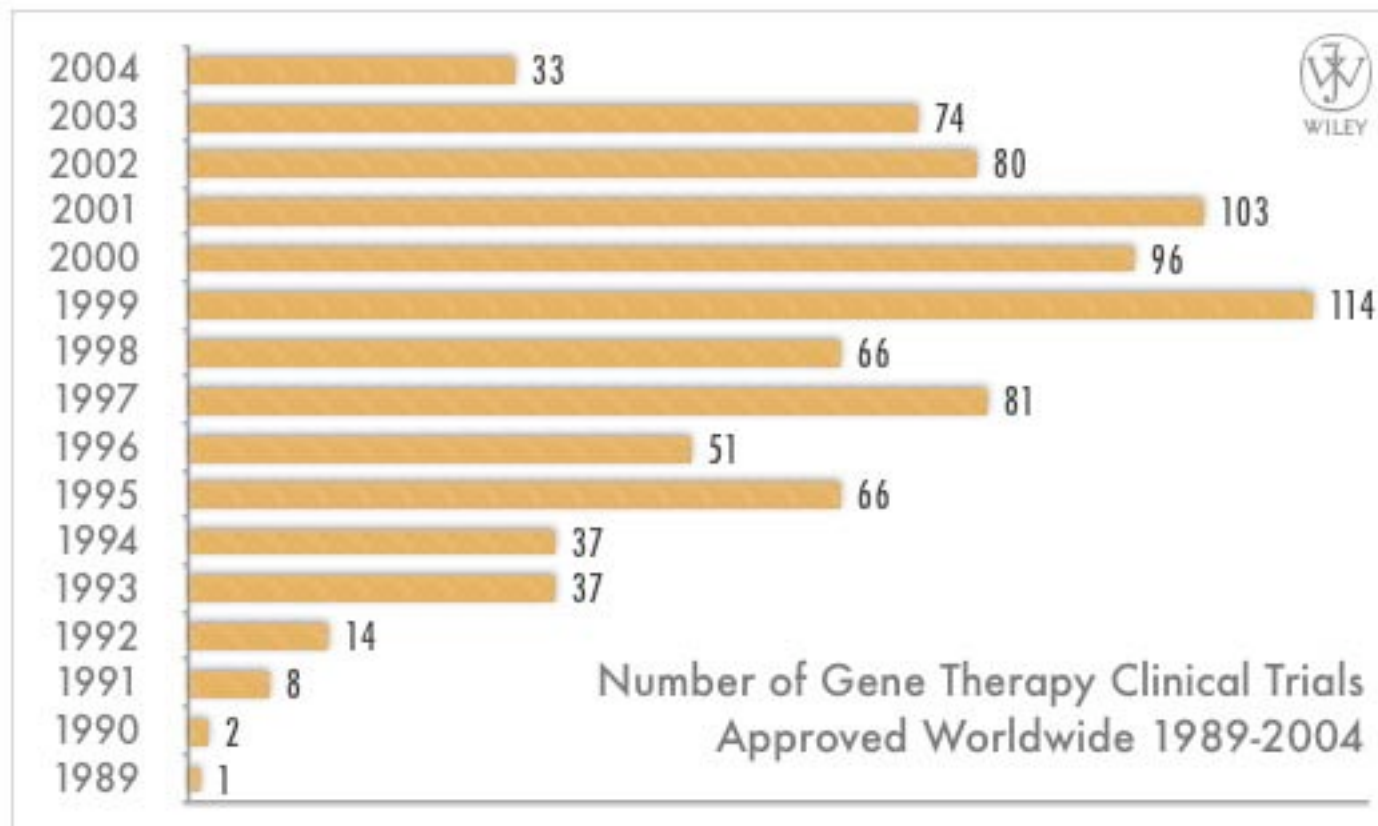
Répartition des protocoles



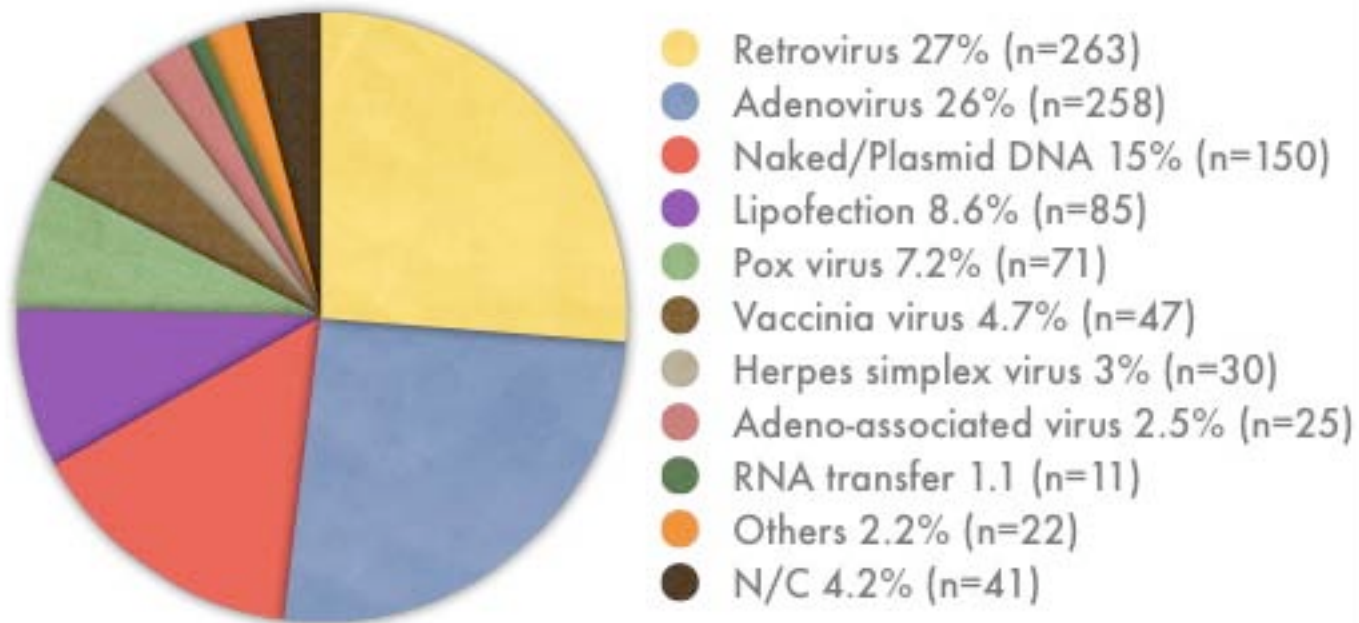
Phases cliniques



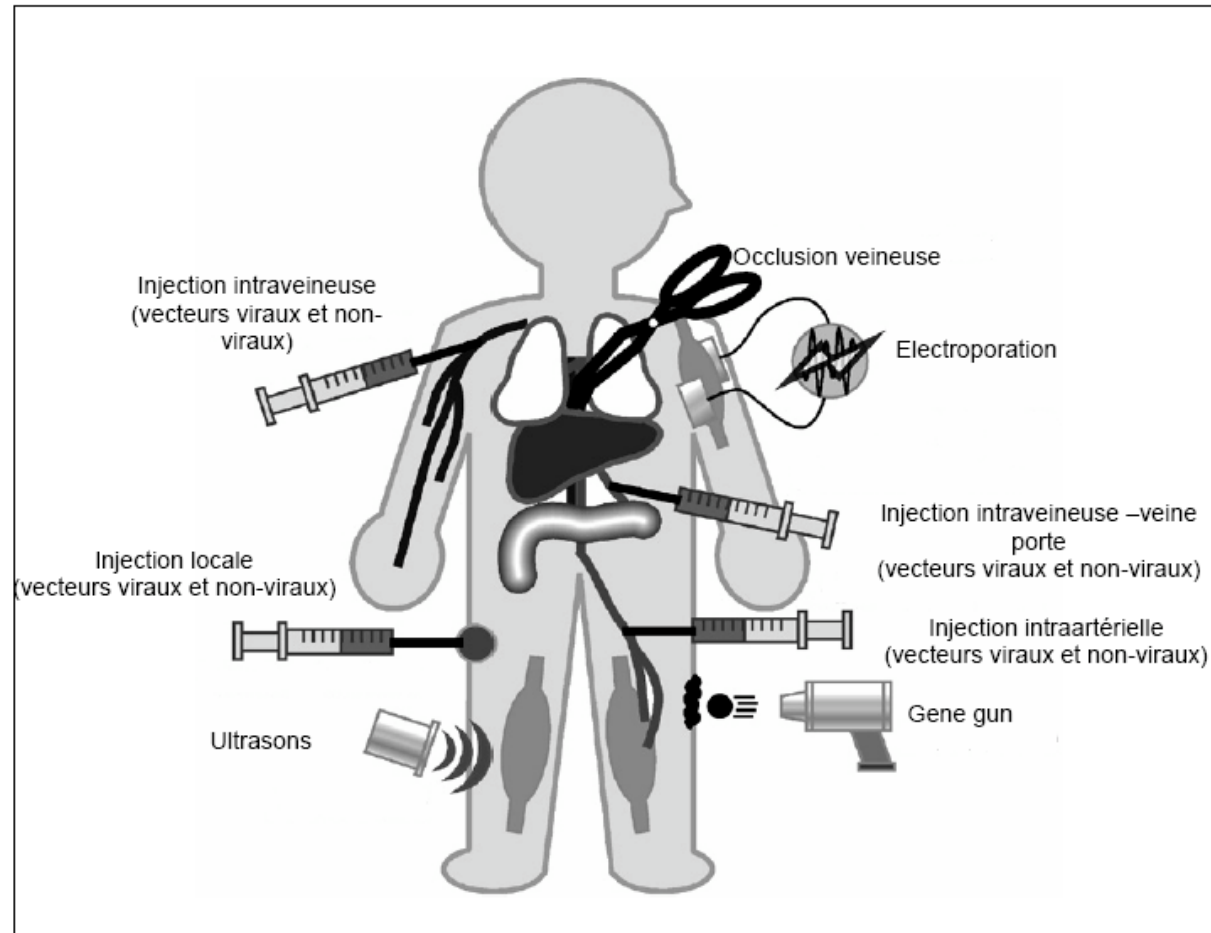
Nombre d'essais cliniques



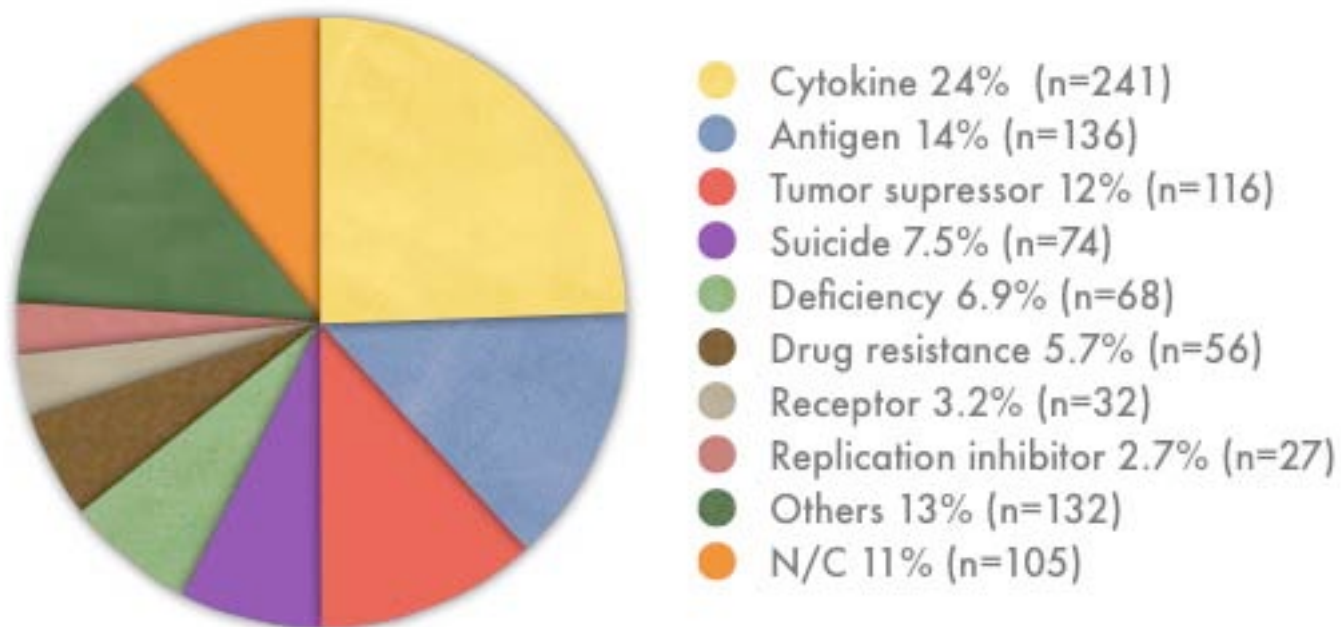
Vecteurs utilisés



Modes d'administration



Gènes-cibles



Thérapie génique et cancer

Correction de mutations

- inhibition d'oncogène

- réactivation de gènes suppresseurs

Chimiothérapie « moléculaire »

- gène suicide

- chimioprotection de tissus sains

- gène antiangiogénique

Immunothérapie génique

- in vitro (TIL, cellules dendritiques)

- in vivo (cytokines, molécules immunomodulatrices)

Thérapie génique immunomodulatrice

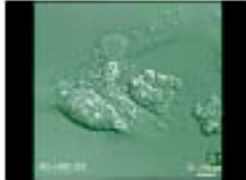


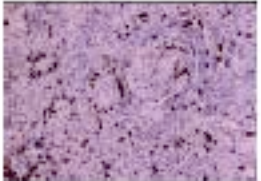
Modification des cellules tumorales

transfert de médiateurs (cytokines ex IL2, IFN, GMCSF, etc...)

Modification de cellules immunocompétentes

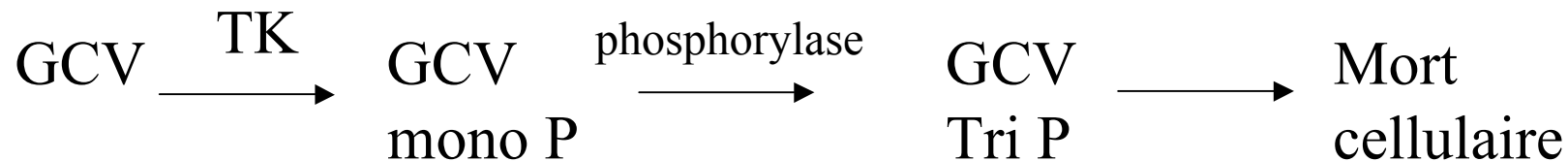
TIL , fibroblastes transfectés (IL12)
cellules dendritiques

Résultats cliniques / précliniques

Mechanisms	Basic Study	Clinical Study
Apoptosis	 Apoptotic cells ↑	 ApopTag-positive cells ↑
Cytokine mixture	IFN- β , IL-1 β , IL-6, TNF- α	IFN- β , IL-1 β , IL-6, TNF- α
CTL induction	 CD8-positive cells in GL261 glioma ↑	 CD8-positive cells in patient glioma ↑
Chemotactic factors & other	MCP-1, IP-10, HSP	MCP-1, IP-10

Transfert de gène suicide

HSV – Thymidine kinase - Ganciclovir

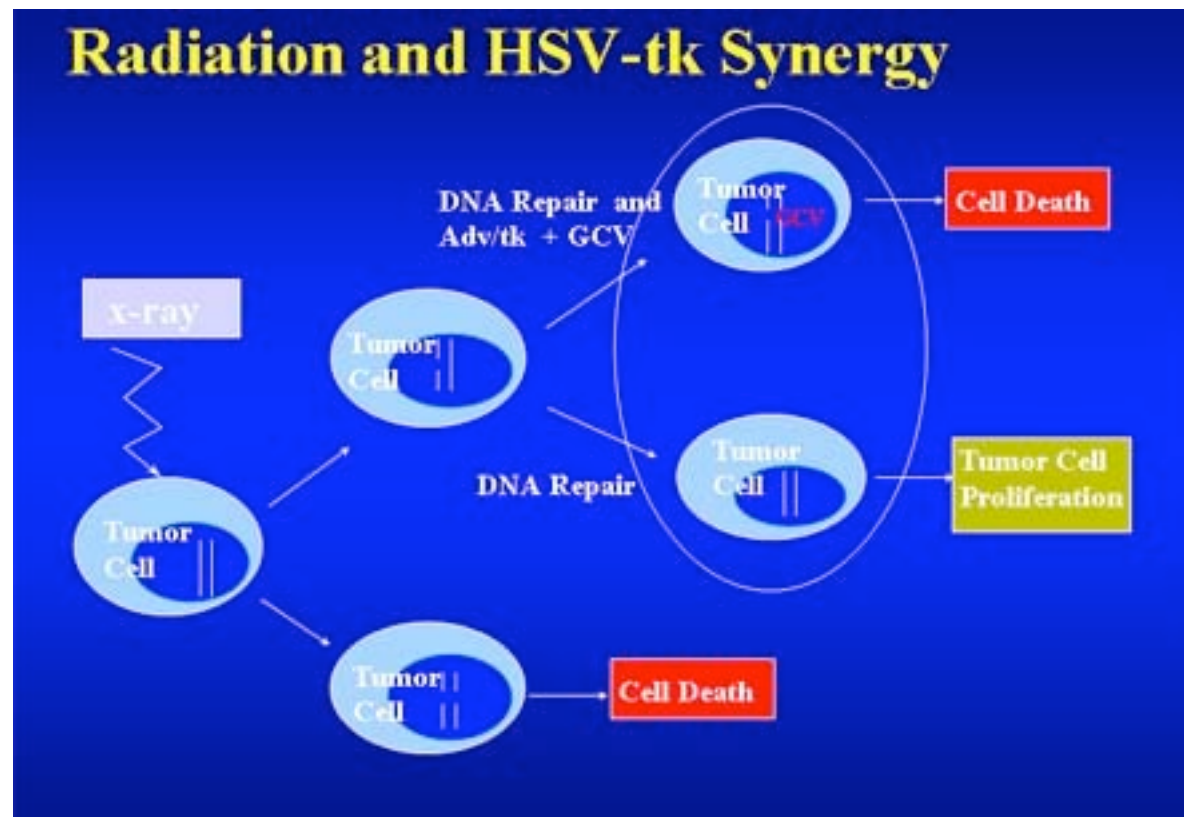


Thymidine kinase non toxique chez l'homme
Pas de substrat

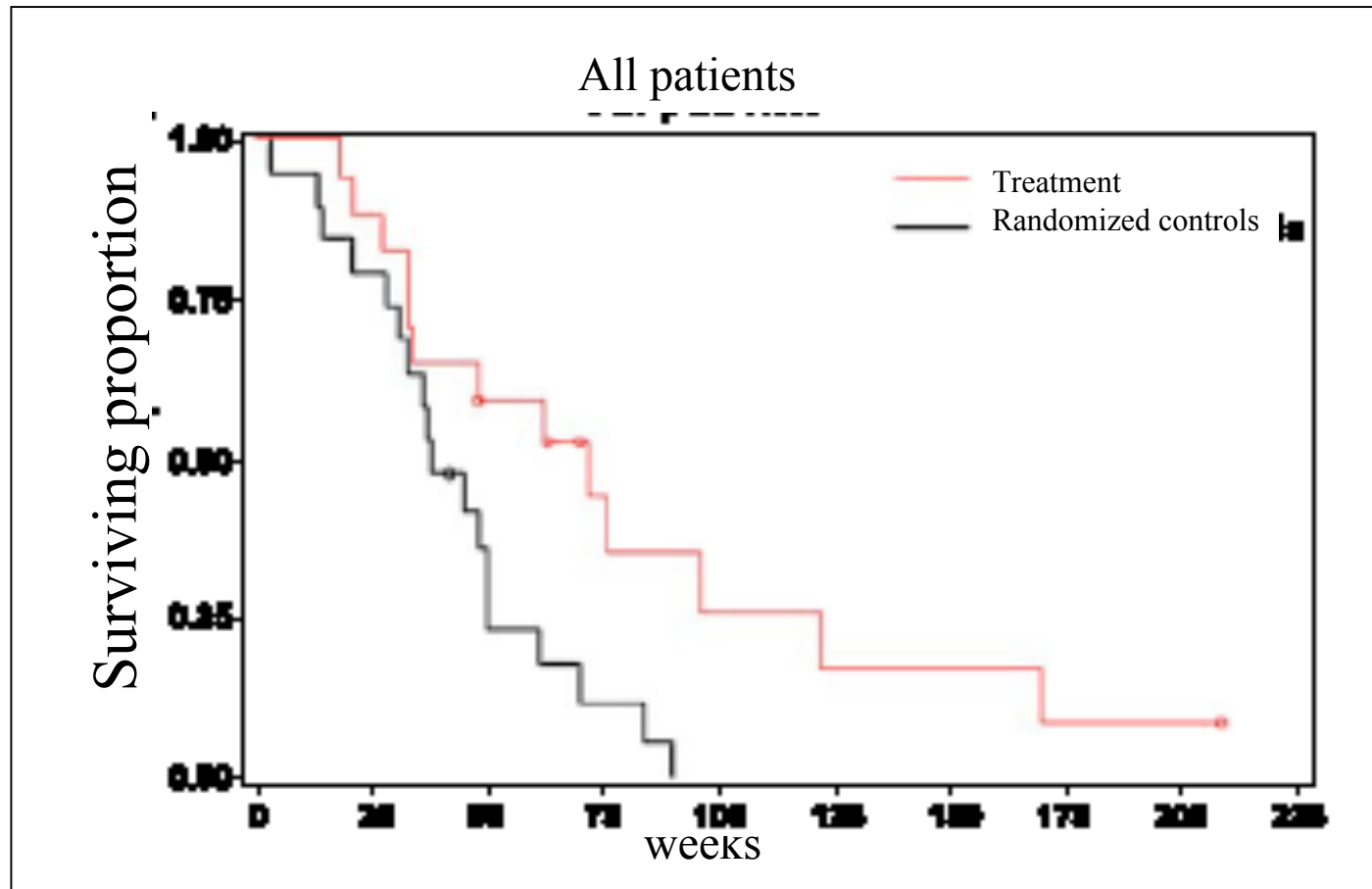
Transforme le ganciclovir en composé toxique incorporé dans l'ADN

Idem pour cytosine désaminase / 5-fluorocytosine

Association avec radiothérapie



Résultats cliniques (gliomes malins)



Immonen et al, 2004

Correction de mutations oncogènes et suppresseurs

Cible	Stratégie	Vecteur	Type de cancer
p53	Remplacement	AdénoV	Nombreux
RB	Remplacement	AdénoV	vessie
BRCA-1	Remplacement	RetroV	ovaire
IGF1	Blocage	Lipide	Glioblastome
K-ras	Blocage	RetroV	NSCLC
cmyc, cfos	Blocage	RetroV	sein et prostate
TGF b	Blocage	Plasmide	Glioblastome

Transfert de gène suppresseur

Principalement p53

De nombreux essais cliniques en cours

- cancers des VADS
- cancers du poumon
- métastases hépatiques
- cancer de l'ovaire

Différentes voies d'administration

- intratumorale
- intraartérielle
- intracavitaire (péritoine, plèvre....)

Bases précliniques

MD Anderson (Gary Clayman et coll.)

Liu *et al*, Cancer Res, 1994

Clayman *et al*, Cancer Res, 1995

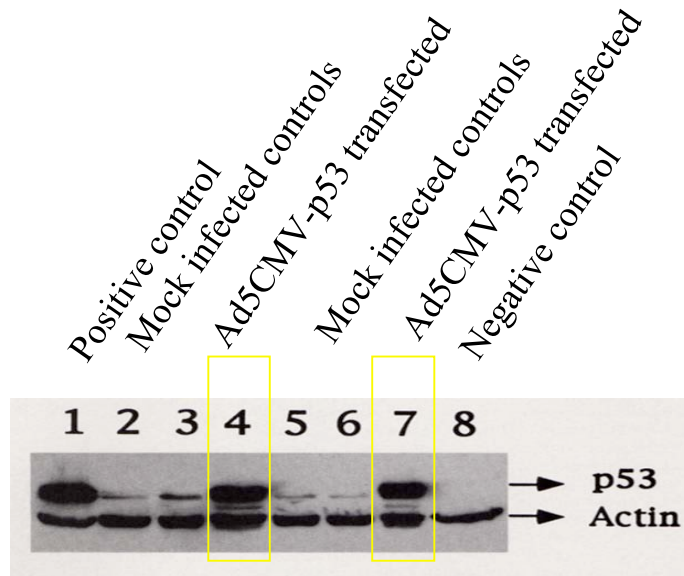
Liu *et al*, Cancer Res, 1995

Lignées cellulaires de HNSCC *in vitro* and *in vivo*

Adenovirus

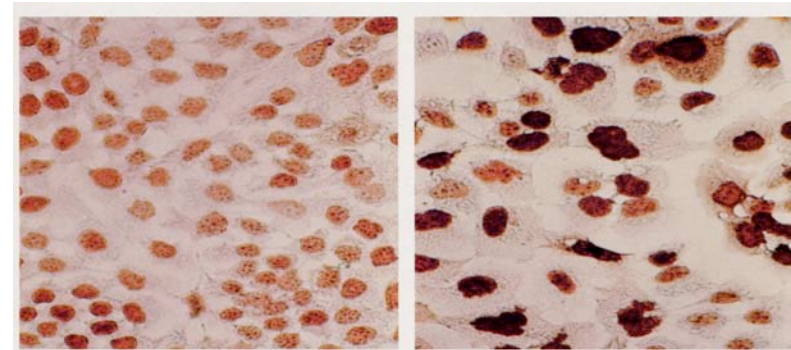
Expression de P53

Western blot



Lignées Tu-177 et Tu-138 (HNSCC)

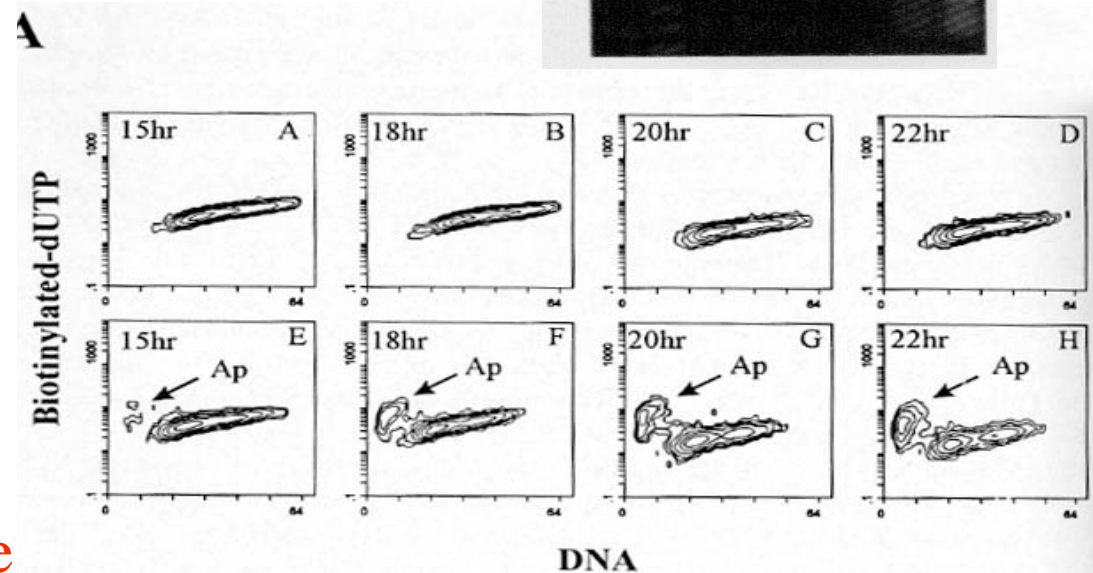
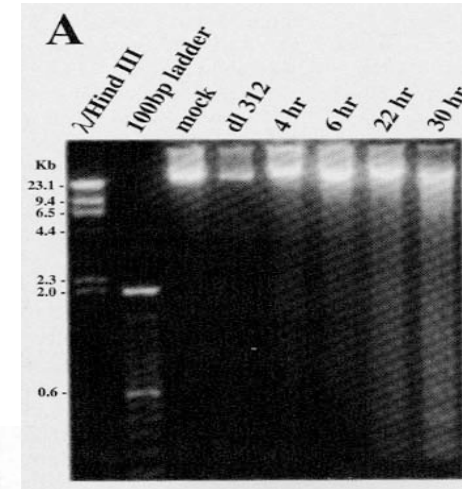
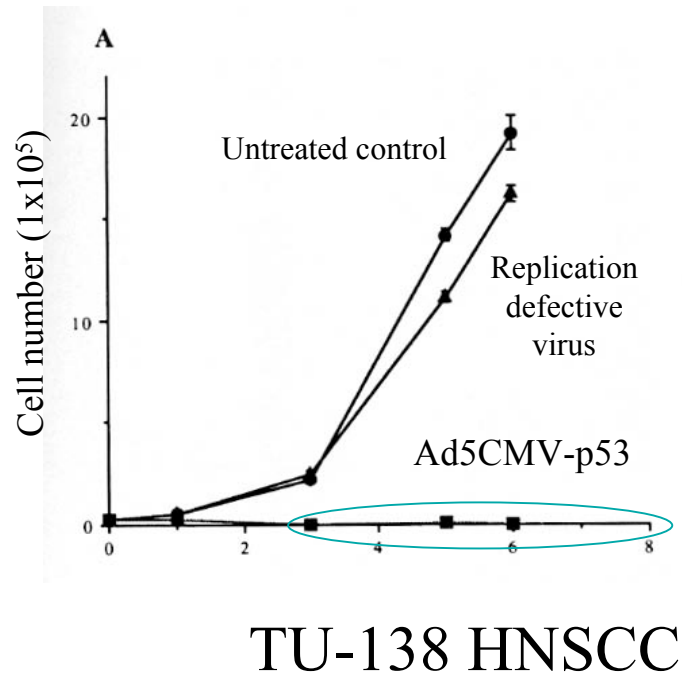
Immunocytochimie



Lignée Tu-138 (HNSCC)

Forte augmentation de l'expression de P53 dans les cellules transfectées

Inhibition de croissance cellulaire



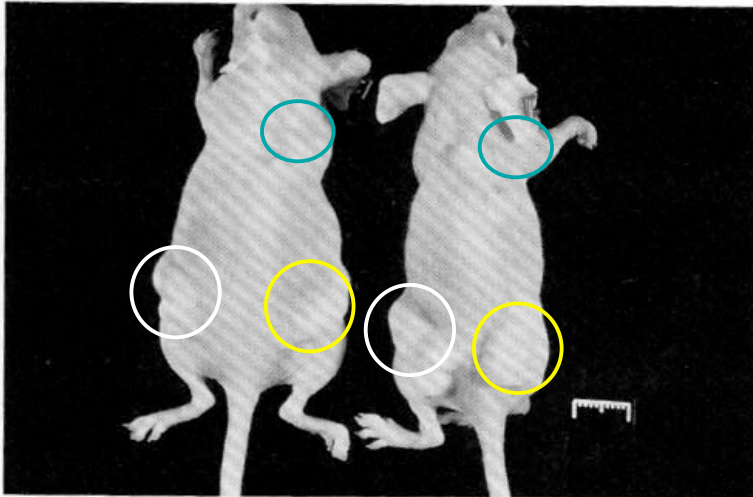
Inhibition de la croissance
et induction d'apoptose spontanée après transfert de p53

Liu *et al.*, Cancer Res, 1994

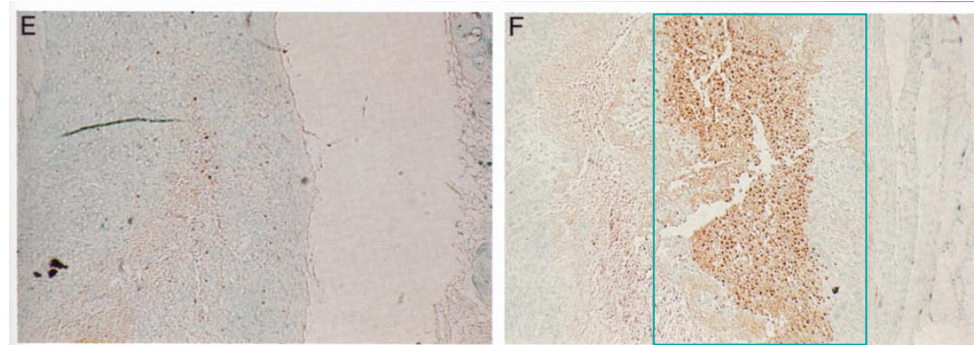
Liu *et al.*, Cancer Res, 1995

Inhibition de croissance tumorale

TU-138 HNSCC



In situ end-labeling (TUNEL) analysis
tumor bearing mice



Ad5CMV-p53

Replication
defective
virus

Untreated
control

Inhibition significative de la croissance tumorale
et induction d'apoptose (tissus tumoral
uniquement) chez les animaux transfectés

Liu *et al.*, Cancer Res, 1994

Liu *et al.*, Cancer Res, 1995

Essais cliniques en cours en 2008

51 essais référencés au NCI-PDQ

Dont 21 en immunothérapie

3 gène suicide + RT

3 p53 (Onyx®)

3 TNF + RT (TNFerade®)

+ de 15 types tumoraux différents

(10 mélanome, 6 prostate, 5 B-CLL, 4 vessie, 4 pancreas, 3 ORL, 3 sein, ...)

Majorité vecteurs viraux (adénovirus ++), 1 PEI

Thérapie génique per-opératoire

Aucun essai référencé actuellement

Intérêt potentiel :

carcinomatose péritonéale ?

berges ?

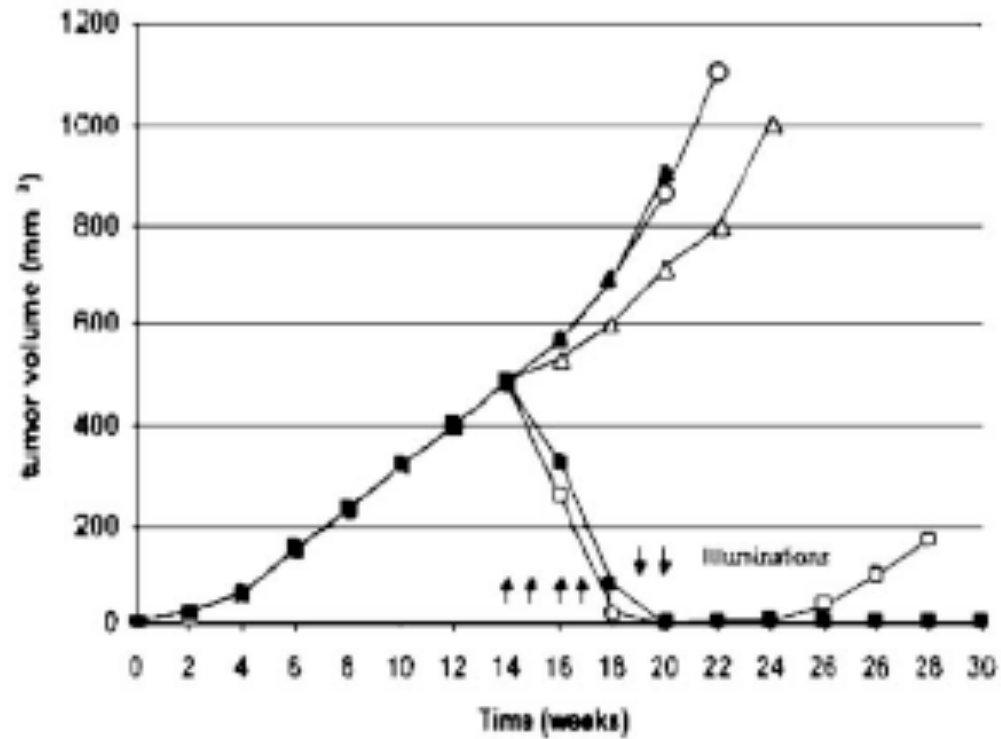
cellules circulantes ?

réhabilitation tissus ?

Innovation technologique

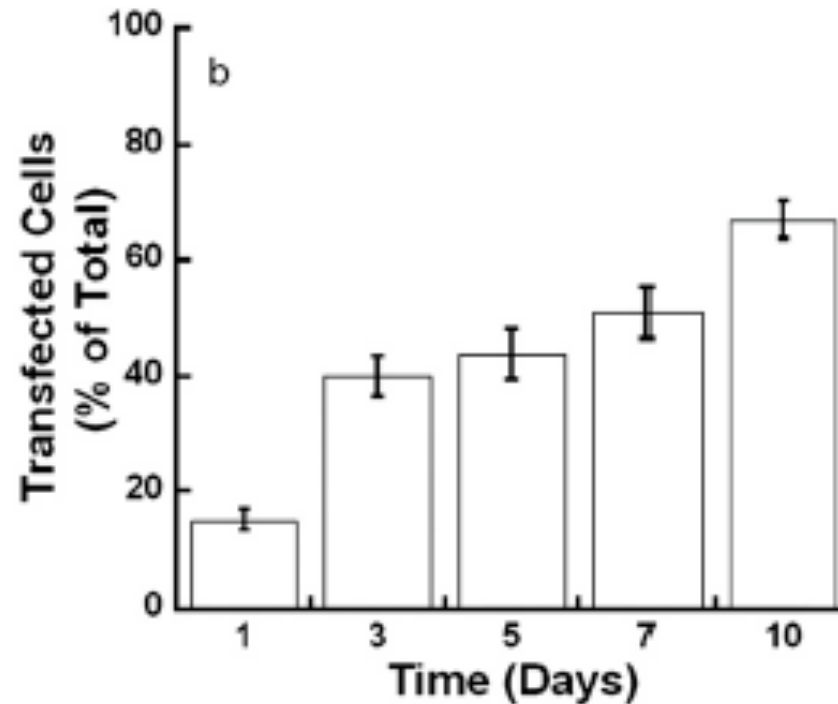
- Nouveaux vecteurs non viraux
(PEI, chitosan, PLA, PEG-HA, Eudragit®)
- Nouvelles formulations (hydrogels)
- Nouvelles voies d'administration
(trans-artériel, oculaire, topique)
- Relargage localisé, « programmé » (PCI)

Internalisation photochimique (PCI)



NDoye et al, 2006

Polymères PEG-HA (hydrogels)



In vitro

« Thérapie génique locale à libération prolongée »

Wieland et al, 2007

Hydrogel « tissu-colle »

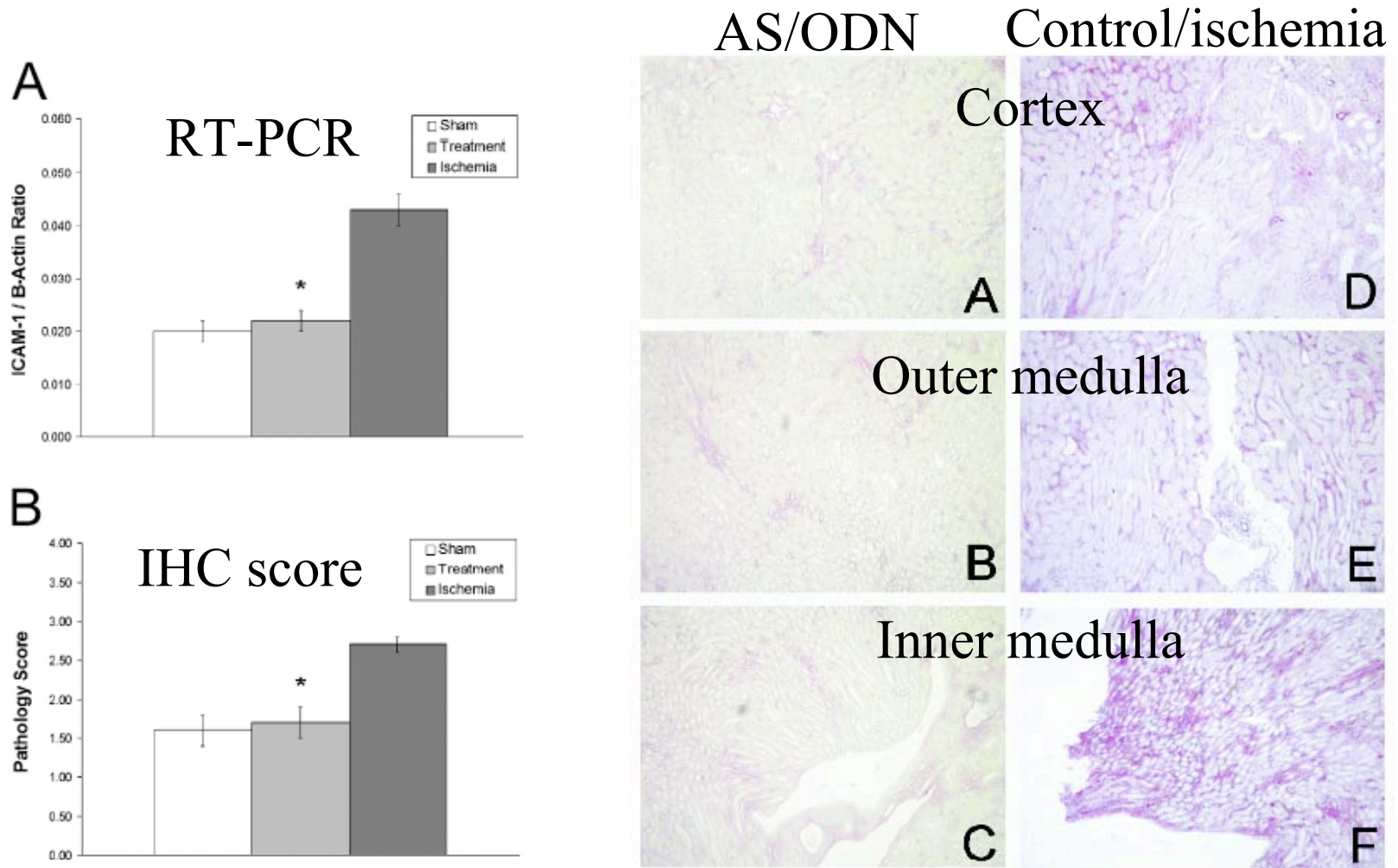
Polymère à base de PEG photopolymérisé

« Thérapie génique topique per-opératoire »

Oligonucléotides-antisens anti-ICAM1

Modèle murin de néphrectomie/ischémie

« Suppression » de l'expression d'ICAM1 dans les tissus traités



Phull et al, 2008

Conclusion

Rationalisation de la thérapie génique en cancérologie

Différentes approches

(immuno, gène suppresseur, ARNi, ODN/AS)

Vectorisation majoritairement virale

Développement de vecteurs non viraux performants

Approche « gène-médicament »

Perspectives d'application en per-opératoire

Attente de validation préclinique et d'essais cliniques structurés

