

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'enseignement supérieur
et de la recherche scientifique

MB. 10/07

Université de Jijel



01
-04

FACULTE DES SCIENCES

FACULTE DES SCIENCES

Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire

Mémoire

de fin d'études en vue de l'obtention du Diplôme d'Etudes Supérieures

(D.E.S.)

option: **Microbiologie**

Thème

La thérapie génique et cancer du foie

MEMBRE DU JURY:

- Encadreur: Mr AICHOUR Ridha
- Examineur: Dr RECHRECHE Hocine

REALISE PAR:

- MOUDAA Hicham
- CHETOUANE Fayssal
- BENDAOU A.Hakim

Promotion : juin 2007

Sommaire

Introduction	01
Chapitre I: Mécanisme du processus cancéreux	
1- De la cellule saine vers la cellule maligne.....	03
1-1- Activation des signaux de croissance et des oncogènes.....	03
1-2- Inhibition des signaux antiprolifératifs.....	04
1-3- Inhibition de l'apoptose.....	06
1-4- L'immortalisation cellulaire.....	06
1-5- Activation de l'angiogénèse.....	07
1-6- Invasion métastatique.....	07
2- Cancer du foie ou carcinome hépatocellulaire (HCC).....	09
2-1- Stades du HCC.....	09
2-2- Traitement du HCC.....	09
3- Virus oncogènes.....	11
3-1- Mécanisme d'oncogénèse.....	11
Chapitre II: La thérapie génique	
4-1- Principe.....	12
4-2- Thérapie génique chez l'homme.....	12
4-3- Thérapie génique germinale.....	12
4-4- Thérapie génique somatique.....	13
5- Stratégie de thérapie génique dans le cas de cancer.....	14
6- Vecteurs de Thérapie génique.....	15
6-1- Rétrovirus.....	16
6-2- Lentivirus.....	16
6-3- Virus Herpes Simplex.....	17
6-4- Virus associés aux adénovirus (VAA).....	17
6-5- Adénovirus.....	17
7- Thérapie génique du (HCC).....	21
7-1- Thérapie génique anti-angiogénique.....	21
7-2- Thérapie génique immunitaire.....	21
7-3- Thérapie génique de résistance aux drogues.....	23
7-4- Thérapie utilisant les suppresseurs de tumeur.....	24
7-5- Thérapie génique par les virus oncolytiques.....	24
7-6- Thérapie génique par les gènes suicides.....	24
Discussion et conclusion	28
Bibliographie	29

Introduction

Le cancer est une maladie génétique résultant d'événements multiples de mutations. Ces mutations affectent le fonctionnement normal d'une cellule de sorte qu'elle devient immortelle c'est-à-dire qu'elle est capable de se diviser de façon illimitée et indépendante des régulations cellulaires normales qui limitent la croissance et la division cellulaire.

Elle devient invasive en se propageant à d'autres tissus et forme des métastases. La division clonale en masse des cellules cancéreuses donne naissance à une tumeur. Les tumeurs ne mettent pas nécessairement la vie en danger et peuvent se produire chez les plantes et les animaux. Les cancer chez les animaux, cependant, sont des maladies caractérisées par la prolifération et la division cellulaires non contrôlées des cellules anormales dans l'autre tissu. L'oncogenèse est le processus par lequel une cellule normale devient cancéreuse. L'oncologie est l'étude du cancer. Un néoplasme est une population des cellules potentiellement cancéreuses se divisant de façon incontrôlée. Si le néoplasme est confiné à son point d'origine et n'a pas tendance à se reproduire après déplacement, c'est néoplasme un bénin. S'ils provoquent des métastases à partir de son emplacement d'origine, cela devient un néoplasme malin dangereux, certaines mutations oncogène peuvent être héréditaires et/ou induites par exposition environnement aux agents mutagènes qui endommagent l'ADN. Les mutations oncogènes peuvent également se produire spontanément. Un carcinogène est n'importe quel agent (par exemple, les produits chimiques mutagènes, et certains virus) qui peut favoriser un état cancéreux. Tous les carcinogènes sont supposés être mutagènes, mais tous les agents mutagènes ne sont pas carcinogènes (1).

Le cancer du foie est le cinquième cancer en importance au monde et le troisième cancer le plus meurtrier après le cancer du poumon et de l'estomac. Toutefois, il atteint le tout premier rang de mortalité tumorale en Asie où l'incidence de ce cancer pour un homme de l'Asie de l'Est est de 35,4 cas sur 100 000 alors qu'en Amérique du Nord, il est de 4,1 cas sur 100 000.

Le traitement classique Provoque beaucoup d'effets secondaires causés, entre autres, par la destruction de tissus sains, il a fallu penser à de nouvelles stratégies anti-tumorales plus spécifiques et pouvant s'attaquer aux métastases. Puisque le cancer est principalement relié Les traitements habituels contre le cancer n'étant pas toujours efficaces et à des instabilités génétiques dues aux dérèglements des gènes contrôlant le cycle cellulaire, un traitement permettant le transfert de gènes dans les cellules saines ou cancéreuses pourrait être une alternative à considérer. La thérapie génique peut donc être définie comme l'utilisation de matériel génétique pour obtenir un effet thérapeutique (19).

L'application de la transgenèse sans doute la plus séduisante et la plus controversée se trouve dans la thérapie génique humaine, le traitement des maladies génétique humaines par l'addition de gène exogène de type sauvage pour corriger des fonctions déficientes dues a des mutations.

Chapitre I

Mécanisme du processus cancéreux

1. De la cellule saine vers la cellule maligne

La cellule est régie par une multitude de gènes dont le rôle principal est de maintenir l'intégrité du génome et de contrôler la prolifération. La mutation de certains de ces gènes entraîne une instabilité génétique menant à la dysfonction de la cellule et à sa transformation en cellule tumorale. Plusieurs facteurs peuvent être impliqués dans le passage d'une cellule saine vers un état malin. On peut les regrouper en 6 catégories soit l'activation de signaux de croissance et des oncogènes, l'inhibition des signaux anti-prolifératifs, l'inhibition de l'apoptose, l'immortalisation cellulaire, l'activation de l'angiogenèse et l'invasion des tissus par les métastases (2). Tous ces facteurs contribuent à la transformation maligne de la cellule. Toutefois, pris séparément, ces facteurs ne sont pas suffisants pour transformer une cellule saine en cellule cancéreuse. C'est l'accumulation de transformations génétiques qui entraîne progressivement la cellule vers un état malin. Nous allons voir ici en quoi consistent ces six catégories d'altérations génétiques et comment elles constituent un pas de plus vers la transformation maligne (3).

1.1. Activation des signaux de croissance et des oncogènes

Les cellules normales dépendent de la présence de signaux de croissance pour passer du stade de quiescence à la prolifération. Ces signaux sont captés par les récepteurs transmembranaires et proviennent soit de facteurs de croissance, soit des composantes de la matrice extracellulaire, soit de molécules d'interaction et d'adhésion entre les cellules. Pour entrer dans un stade de prolifération, la cellule doit donc recevoir des signaux exogènes (2). Les cellules cancéreuses quant à elles ont acquis une certaine indépendance face aux signaux extérieurs. En effet, elles produisent leurs propres signaux de croissance pour lesquels elles sont sensibles créant ainsi une stimulation autocrine(3). Il a d'ailleurs été démontré que plusieurs oncogènes pouvaient imiter ces signaux, promouvant ainsi la prolifération cellulaire (2). Les cellules malignes peuvent agir également à deux autres niveaux pour acquérir une autonomie face aux signaux de croissance, soit au niveau des récepteurs liant ces signaux, soit sur le cheminement de ces signaux à l'intérieur de la cellule. Concernant les récepteurs membranaires, ils peuvent être la cible de la dérégulation par leur surexpression. En effet, en augmentant le nombre des récepteurs des signaux de croissance, on augmente par le fait même le nombre de signaux captés par la cellule favorisant ainsi la prolifération cellulaire (3). Les cellules cancéreuses peuvent aussi changer le type de récepteurs pour la matrice extracellulaire qu'elles expriment privilégiant ainsi ceux qui transmettent les signaux de croissance (4). Par exemple, l'augmentation des intégrines stimule la prolifération puisque la liaison de ces récepteurs à la matrice extracellulaire permet de transmettre des signaux au cytoplasme qui favorisent la division cellulaire, la résistance à l'apoptose et l'entrée de la cellule en cycle actif (5). Les cellules cancéreuses peuvent également agir au niveau des voies signalétiques à l'intérieur de la cellule. Par exemple, les récepteurs des facteurs de croissance ainsi que les intégrines peuvent activer la voie SOS-Ras-Raf-MAP kinase

menant à la prolifération cellulaire (3,4). Pour terminer, tout comme les cellules normales, les cellules cancéreuses peuvent aussi transmettre leurs signaux de croissance aux cellules voisines normales favorisant ainsi la dérégulation de leur prolifération et par le fait même permettre l'expansion de la tumeur (2).

1.2. Inhibition des signaux anti-prolifératifs

Une autre façon pour la cellule cancéreuse d'activer la prolifération est par l'inactivation des facteurs suppresseurs de tumeur. Ces signaux anti-prolifératifs ont, entre autres, la fonction de maintenir les cellules en phase quiescente et l'homéostasie dans les tissus. Ces signaux proviennent généralement soit de la cellule elle-même, soit des cellules environnantes ou de la matrice extracellulaire et sont transmis à la cellule par les récepteurs membranaires qui les transmettent à leur tour aux circuits intracellulaires. Il existe deux façons par lesquelles les signaux anti-prolifératifs peuvent empêcher la multiplication cellulaire. Tout d'abord en maintenant la cellule en G_0 dans un stade quiescent ou en forçant sa différenciation. La première méthode peut être réversible alors que la différenciation est permanente. Pour pouvoir proliférer, les cellules cancéreuses peuvent s'attaquer directement aux constituants moléculaires contrôlant le cycle cellulaire comme par exemple, la voie impliquant la protéine du rétinoblastome (pRB). Cette protéine, lorsqu'elle n'est pas phosphorylée, séquestre le facteur de transcription E2A qui contrôle l'expression des gènes impliqués dans le passage de la cellule de la phase G_1 à la phase S (7). La phosphorylation de pRB libérera E2A permettant ainsi la prolifération des cellules. Cette phosphorylation peut être prévenue par le signal soluble $TGF\beta$ qui active la synthèse des protéines p15 et p21 qui, quant à elles, inhibent les complexes cycline:CDK responsables de la phosphorylation de pRB (Figure 1) (8,9).

Cette voie de contrôle du cycle cellulaire peut être interrompue à plusieurs niveaux. Tout d'abord, une dysfonction des récepteurs des signaux du $TGF\beta$ peut être observée dans certains types de tumeurs. L'expression de la protéine cytoplasmique Smad4 qui transmet le signal du récepteur $TGF\beta$ aux cibles subséquentes peut être inhibée par la mutation de son gène tout comme la protéine p15 alors qu'une mutation dans le gène de CDK4 peut rendre cette protéine insensible à l'action de p15 lui permettant ainsi d'inactiver pRB. Finalement, le gène de pRB peut être muté l'empêchant ainsi de lier E2A ce qui permet l'entrée de la cellule en phase S et donc sa prolifération (11, 12,13).

Un deuxième constituant moléculaire contrôlant le cycle cellulaire auquel les cellules tumorales peuvent s'attaquer est la protéine p53. Cette phosphoprotéine nucléaire agit comme un facteur de transcription qui contrôle l'expression des protéines impliquées dans le cycle cellulaire. Lorsque des dommages à l'ADN sont détectés, p53 commence à s'accumuler dans le noyau et entraîne l'arrêt du cycle cellulaire par la voie p21/WAF1/CIP1 donnant ainsi la chance à la cellule de réparer ces dommages. S'il s'avère que les dommages à l'ADN soient trop importants, p53 induira l'apoptose, ou mort cellulaire programmée, par une voie indépendante de la transcription ou dépendante impliquant Bax et Fas. La perte de p53 permet la prolifération des cellules contenant des anomalies engageant ainsi ces dernières vers la voie menant au développement d'un cancer. L'inactivation de p53 peut être reliée à plusieurs mécanismes comme des mutations directement dans son gène, sa séquestration par des onco-protéines virales ou

des facteurs cellulaires comme mdm2 ou des modifications de l'emplacement cellulaire de la protéine. Il a d'ailleurs été rapporté que la fonction de p53 était altérée dans 50% des cancers humains. La deuxième façon pour favoriser la prolifération cellulaire est d'empêcher la différenciation cellulaire. Dans une cellule normale, cette différenciation est contrôlée par deux complexes soit l'oncogène Myc associé au facteur Max qui promeuvent la croissance alors que le complexe Mad-Max induit la différenciation. Si le complexe Mad-Max est plus abondant, il y aura différenciation (Figure 1). Dans plusieurs cancers, on retrouve une surexpression de l'oncogène Myc ce qui fait pencher la balance en faveur du complexe Myc-Max et ainsi favorise la prolifération (2).

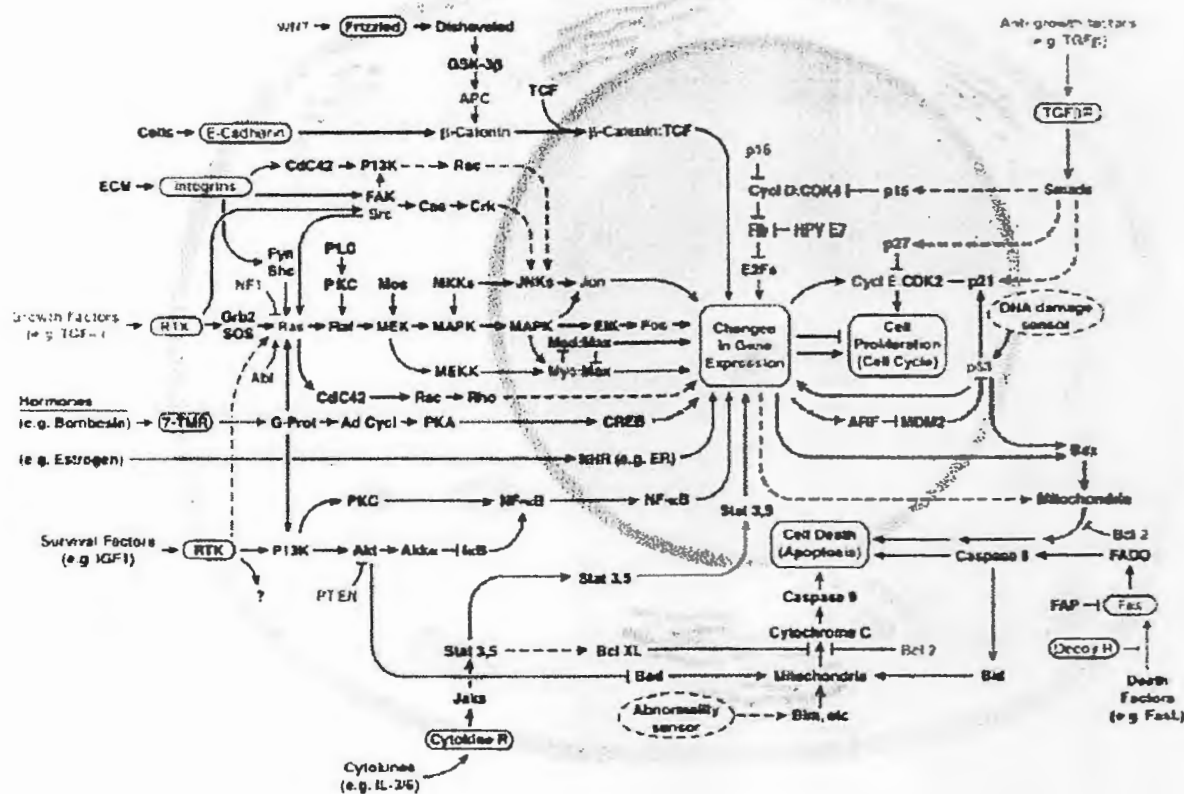


Figure 1. Signalisation cellulaire.

Circuit des signaux de croissance couplés à une gamme de signaux extracellulaires et circuits transmettant les signaux anti-prolifératifs et de différenciation ou les signaux contrôlant l'apoptose. Les gènes reconnus pour être altérés dans les cellules cancéreuses sont marqués en rouge (2).

1.3. Inhibition de l'apoptose

L'apoptose, ou mort cellulaire programmée, est un autre moyen de contrôle prolifératif de l'organisme. Elle permet entre autres d'éliminer les cellules avec des anomalies génétiques évitant ainsi la réplication de cellules anormales ou mutantes qui est une étape préliminaire à la formation d'un cancer. La machinerie apoptotique a donc un rôle de surveillance et de maintien de la stabilité génétique. L'apoptose d'une cellule commence par la rupture de la membrane cellulaire suivie du bris du squelette

cytoplasmique et du noyau. Le cytosol est alors libéré, les chromosomes sont dégradés, le noyau est fragmenté et, pour finir, les débris cellulaires sont engloutis par les cellules voisines. Plusieurs composantes sont impliquées dans la machinerie apoptotique. Tout d'abord, il y a les récepteurs membranaires qui lient les facteurs de survie ou de mort cellulaire. Ensuite, il y a des senseurs intracellulaires qui détectent la moindre anomalie dans la cellule comme les dommages à l'ADN, le déséquilibre des signaux provoqués par les oncogènes, le manque de facteurs de survie ou l'hypoxie. Un des éléments importants de la machinerie apoptotique est la mitochondrie qui libère des cytochromes c sous l'influence de plusieurs signaux apoptotiques. Plusieurs membres de la famille de Bcl-2 font partie de ces facteurs pro-apoptotiques comme Bax, Bak, Bid et Bim. Toutefois, certains membres des Bcl-2 sont plutôt anti-apoptotiques comme Bcl-2, Bcl-XL ou Bcl-W. Le suppresseur de tumeur p53 fait aussi partie des facteurs pro-apoptotiques en régulant positivement l'expression de Bax comme il a été mentionné précédemment. Finalement, font aussi partie de la machinerie apoptotique les caspases qui sont des protéases intracellulaires; principalement la caspase 8 qui est activée par des récepteurs de mort cellulaire comme FAS ou la caspase 9 activée par le cytochrome c et libérée par la mitochondrie. Les caspases 8 et 9 activent plusieurs autres caspases qui vont participer à la destruction de la cellule (Figure 1).

On peut donc dire que l'apoptose est un excellent mécanisme de défense de la cellule pour protéger l'organisme contre le cancer. Par conséquent, des modifications d'un ou de plusieurs éléments de la machinerie apoptotique augmentent énormément les risques de développer une tumeur. Par exemple, l'inactivation de p53 qui est un facteur très important de la surveillance cellulaire est retrouvée dans plus de 50% des cancers chez l'humain (14).

1.4. Immortalisation cellulaire

Cycle cellulaire, les télomères à l'extrémité des chromosomes perdent 50 à 100 paires de bases. Ceci est dû au fait que les ADN La cellule normale a une durée de vie limitée. En effet, elle ne peut se diviser qu'un nombre limité de fois. Ce phénomène est expliqué par le fait qu'à chaque polymérase sont incapables de répliquer complètement l'extrémité 3' de l'ADN chromosomique. Puisque le rôle du télomère est de protéger les extrémités du chromosome, sa disparition progressive finit par mettre à nu les extrémités chromosomiques leur permettant ainsi de fusionner entre elles ce qui provoque la mort de la cellule. Donc, l'immortalisation d'une cellule doit naturellement passer par le maintien des télomères. En effet, 90% des cellules malignes régulent positivement la télomérase qui allonge les télomères par l'ajout de répétitions d'hexanucléotides alors que les 10-15% restant permettent le maintien des télomères par recombinaison entre les chromosomes (15).

Un autre phénomène observé en culture est la sénescence des cellules. En effet, après un certain nombre de divisions, les cellules cessent de se multiplier. Si on force leur division, elles entrent dans un stade de "crise" caractérisé par une mortalité massive. Les cellules qui survivent à cette étape acquièrent le pouvoir de se multiplier indéfiniment; elles sont devenues immortelles. La majorité des cellules cancéreuses ont acquis cette

immortalité suggérant que ce phénomène est une étape cruciale et essentielle au développement de tumeurs (16).

1.5. Activation de l'angiogenèse

L'angiogenèse, qui est l'élaboration de nouveaux vaisseaux sanguins, est un processus normal de la formation des organes. Elle implique l'activation des cellules endothéliales d'un vaisseau mature, la dégradation de la membrane basale environnante, le mouvement des cellules endothéliales vers la brèche pour ensuite se diriger vers le tissu où elles prolifèrent pour former un nouveau vaisseau sanguin. L'angiogenèse est essentielle à la survie des organes puisque le sang transporte l'oxygène ainsi que les nutriments nécessaires aux cellules. En effet, aucune cellule ne peut survivre à plus de 100 μm d'un vaisseau sanguin. Il en est de même pour les cellules malignes. La viabilité d'une tumeur dépend donc de sa capacité à induire les signaux pro-angiogéniques ou à inhiber les signaux anti-angiogéniques. En effet, dans plusieurs tumeurs, on peut observer l'augmentation de l'expression du facteur de croissance vasculaire endothélial (VEGF) ou du facteur de croissance de fibroblaste (FGF) se liant aux récepteurs membranaires tyrosines kinase. L'activation de l'oncogène ras peut également induire l'angiogenèse par sa régulation positive sur l'expression de VEGF. Il arrive aussi que l'expression des inhibiteurs angiogéniques comme la thrombospondine-1 soit régulée négativement favorisant ainsi la formation de vaisseaux sanguins. Encore une fois, p53 a un rôle important à jouer ici puisqu'il régule positivement la thrombospondine-1; son inactivation favorise donc l'angiogenèse. Les protéases sont également impliquées dans l'angiogenèse puisqu'elles contrôlent la disponibilité des activateurs ou des inhibiteurs d'angiogenèse comme par exemple en libérant FGF de la matrice extracellulaire ou en clivant des facteurs pro-angiogéniques les transformant ainsi en facteurs anti-angiogéniques. L'angiogenèse est donc un processus modulé par l'équilibre entre les facteurs pro et anti-angiogéniques et son déclenchement est essentiel à la survie de la tumeur (16).

1.6. Invasion métastatique

La dernière étape de l'évolution d'un cancer est la capacité des cellules malignes à s'échapper de la tumeur primaire pour aller envahir de nouveaux tissus et former une nouvelle tumeur. Ces nouveaux foyers sont appelés métastases. On a pu constater que les métastases étaient la cause de la majorité des décès reliés au cancer. Pour que la cellule cancéreuse puisse s'échapper de son lieu d'origine, elle doit tout d'abord modifier ses interactions avec son environnement. Les principales cibles de la cellule tumorale sont les molécules d'adhésion cellule-cellule (CAMs) comme les cadhérines ou les intégrines qui lient la matrice extracellulaire. Par exemple, les E-cadhérines ont la propriété de se lier entre elles d'une cellule à l'autre et de se transmettre ainsi des signaux anti-prolifératifs. Cette propriété est perdue dans la majorité des cancers épithéliaux permettant ainsi leur prolifération et leur libération de la tumeur primaire. Quant aux intégrines, leur fonction étant de lier la matrice extracellulaire, des altérations dans ces récepteurs cellulaires peuvent avoir un impact important concernant l'invasion des tissus voisins. Pour ce faire, la cellule apporte plusieurs changements aux sous-unités α et β permettant ainsi à la cellule de se détacher de la matrice et de s'évader de son site primaire pour ensuite

effectuer de nouveaux changements dans ses intégrines lui permettant de s'attacher un peu plus loin (2). Un autre type de molécules impliquées dans la migration des cellules cancéreuses sont les protéases extracellulaires. En effet, la cellule cancéreuse active les protéases dégradant la matrice extracellulaire et régule négativement les inhibiteurs de protéases facilitant ainsi son évvasion dans les vaisseaux sanguins et à travers la couche de cellules épithéliales (2).

2. Le cancer du foie ou carcinome hépatocellulaire (HCC)

Le développement de ce cancer débute généralement par une inflammation chronique du foie et par des fibroses hépatiques suivies par les étapes normales de la formation d'un cancer tel que mentionnées plus haut. Les principaux facteurs de risque du développement d'un HCC sont les cirrhoses, les infections par le virus de l'hépatite B ou C, la consommation exagérée d'alcool et l'exposition à l'aflatoxine B. En effet, une personne ayant une infection chronique du virus de l'hépatite B risque, dans 11% des cas, de développer un cancer du foie dans les 10 ans suivant l'apparition de la maladie. Concernant la cirrhose, les personnes atteintes ont une incidence de 2 à 6,6% de développer un HCC. En ce qui a trait à l'aflatoxine B, elle augmente les risques de développer un HCC de trois fois entre autres dû au fait que ce carcinogène provoque une mutation dans le gène suppresseur de tumeur p53 (18).

2.1. Stades du HCC

Le développement d'une tumeur hépatique peut être classé en différents stades soit le stade très précoce, précoce, intermédiaire, avancé et terminal. Le stade très précoce est associé au carcinome *in situ* qui est un HCC bien différencié contenant un conduit biliaire, des veines portes, une apparence de nodules et qui n'a pas envahi les tissus avoisinants. Ce stade est caractérisé par un HCC d'une grosseur inférieure à deux centimètres, des fonctions hépatiques conservées et un diagnostic de carcinome *in situ*. Le stade précoce quant à lui concerne une tumeur de moins de cinq centimètres de diamètre ou trois nodules inférieurs à trois centimètres. Ce stade est très varié et couvre différents comportements biologiques. Le stade intermédiaire correspond à une tumeur multinodale, mais sans invasion des tissus alors que pour le stade avancé, on peut observer une invasion portale. Finalement, le stade terminal concerne les patients dont l'état physique s'est beaucoup détérioré causé par un grand nombre de tumeurs et l'envahissement de tissus voisins (19).

2.2. Traitements du HCC

Il existe plusieurs traitements disponibles pour tenter de guérir le cancer du foie. Le choix d'un traitement dépend du stade de la tumeur. Les différents traitements se divisent en deux catégories soit les traitements curatifs comprenant la résection, la transplantation du foie et les traitements percutanés, où on observe une réponse complète au traitement dans une grande proportion des cas, et les traitements palliatifs qui ne visent pas la guérison, mais le soulagement des symptômes (19).

La résection est le traitement de choix pour les patients à un stade très précoce ou précoce possédant une seule tumeur, absence d'hypertension de la veine porte, un taux normal de bilirubine et sans cirrhose du foie. Cette méthode assure un taux de survie de 50% après cinq ans. Toutefois, on observe une récurrence de la tumeur dans 70% des cas après cinq ans due à une invasion microvasculaire, à une différenciation histologique pauvre et à la présence de tumeurs satellites.

La transplantation du foie est effectuée pour les patients ayant trois nodules plus petits que trois centimètres ou une tumeur inférieure à cinq centimètres avec une détérioration des fonctions du foie. De plus, avec la transplantation, on peut faire d'une pierre deux coups pour les patients souffrant d'une cirrhose du foie. Ces patients

démontrent un taux de survie de 70% après cinq ans et une récurrence de 15% dont la principale cause est l'invasion vasculaire. Toutefois, pour avoir une bonne réponse à ce traitement, la transplantation doit être faite dans les six mois suivant le diagnostic. Pendant cette période d'attente, des traitements adjuvants sont donnés pour prévenir la progression de la tumeur. Une autre possibilité est d'effectuer une transplantation à partir d'un donneur vivant. Dans ce cas, on prélève le lobe droit du foie. Cette procédure est toutefois très complexe: on peut observer des complications post-chirurgicales chez 20% des donneurs, la mortalité des donneurs est de 0,3-0,5% et l'applicabilité de cette procédure est faible (20).

Concernant les traitements percutanés, ils sont appliqués aux tumeurs du stade précoce ne pouvant être enlevées par chirurgie. Les plus utilisés sont les injections percutanées à l'éthanol pour les tumeurs inférieures à trois centimètres et l'ablation par radiofréquence. Les patients traités par injection d'éthanol percutané démontrant une réponse complète au traitement ont un taux de survie de 50% après cinq ans alors que pour l'ablation par radiofréquence, ce taux descend à 33-40% (22).

L'embolisation artérielle, considérée plutôt comme un traitement palliatif que curatif, est appliquée aux patients au stade intermédiaire ou avancé asymptomatiques ayant conservé leur fonction hépatique et possédant des tumeurs multinodales non invasives. Elle consiste en l'obstruction de l'artère hépatique menant à la nécrose intense de la tumeur vascularisée. Elle peut être associée à une chimiothérapie intra-artérielle nommée chimio-embolisation. Cette méthode permet de diminuer la progression de la tumeur et de l'invasion vasculaire. Elle démontre un taux de survie qui passe de 63% après un an à 27% après deux ans (21).

Finalement, pour les patients ayant des tumeurs à un stade avancé avec invasion vasculaire et détérioration physique, ils pourraient participer à des essais cliniques de nouveaux traitements aux agents anti-tumoraux alors que pour les patients en phase terminale ayant une grande détérioration physique et un envahissement tumoral important, ils ne recevront que des traitements visant à soulager leurs symptômes (20).

3. virus oncogènes

Certain virus sont connus pour porter des oncogène qui déclenchent la transformation néoplasgique; ce sont les virus oncogènes. Chez les vertébrés. Environ 50 virus à ARN oncogène ont été isolés. Plusieurs familles de virus d'ADN contiennent les virus oncogène, mais parmi les virus d'ARN seulement certains rétrovirus produisent des tumeurs. Les rétrovirus sont appelés ainsi parce qu'ils contiennent une enzyme, la transcriptase inverse. Qui synthétise l'ADN partir d'une matrice d'ARN. Cette activité est p) eu commune du fait que la plupart des cellules synthétisent seulement l'ADN à partir d'ADN et pas de l'ARN. Le tableau montre les différences principales entre les virus oncogènes à ADN et à ARN.

3.1. Mécanismes de oncogenèse

Les virus oncogènes causent le cancer par deux mécanismes généraux

1-l'inactivation par insertion.

2-l'inactivation par les oncogènes.

Dans la mutagène d'insertion, l'ADN viral cause simplement une mutation en devenant intégré dans l'ADN des hotes. Certaines de ces mutations pourraient inactiver des gènes de suppression du cancer. Alternativement, par l'insertion près d'un gène de l'hôte impliqué dans le déclenchement du cycle cellulaire normal, l'activité de ce gène pourrait être stimulée à la surproduction de son produit.

Beaucoup de rétrovirus contiennent des oncogène qui sont identique ou très semblables aux gènes cellulaires normaux impliqués dans le contrôle du cycle cellulaire.

On croit généralement que des rétrovirus, au cours de leur évolution, ont acquis leurs oncogènes de ces contre-parties cellulaires normales, les protooncogènes. Ces anciens protooncogènes cellulaires peuvent devenir les oncogènes viraux par intégration dans le génome viral de façon à la réguler par un initiation viral puissant, entraînant la surproduction d'un facteur de croissance normal ou presque normal, et résultant dans la prolifération excessive de cellule. Alternativement, une partie de ces oncogène rétrovirus code pour les enzymes kinase de phosphorylation d'acide aminé spécifique de protéines. Les kinases de cellule hôte normales phosphorylent les protéines à leur résidus sérine ou thréonine. Les kinases de rétrovirus, cependant, phosphorylent les résidus tyrosine. Certain facteurs de croissance de cellule hôte stimulent normalement la division des cellules en causant la phosphorylation de la tyrosine dans les mêmes protéines activées par les kinases rétrovirales. D'autres oncogènes codent pour les protéines de liaisons à l'ADN et les récepteurs de facteur de croissance, la surproduction ou la production inappropriée peut mener à la division non contrôlée des cellules.

Chapitre II

La thérapie génique

1. Principe

L'approche générale de la thérapie génique n'est rien de plus qu'une extension de la technique de sélection des clones par complémentarité fonctionnelle. Les fonctions absentes chez le receveur à cause d'un gène déficient sont introduites dans un vecteur qui s'insère dans l'un des chromosomes du receveur, produisant ainsi un animal transgénique (guéri) génétiquement. Cette technique offre des perspectives très intéressantes pour l'homme car elle donne des guérir des maladies héréditaires (24). Toutefois, la thérapie génique s'applique également aux autres mammifères.

2. La thérapie génique chez l'homme

Nous avons vu que le premier cas de thérapie génique chez des mammifères consistait à "guérir" un œuf de souris fécondé, génétiquement nain, en injectant l'allèle de type sauvage approprié pour conduire à une croissance normale. Cette technique a peu d'application chez l'homme car il est actuellement impossible d'établir si le génotype d'une cellule d'œuf fécondé est déficient sans la détruire. Deux grands types de thérapie génique peuvent être appliqués à l'homme: germinale et somatique.

3. Thérapie génique germinale

Le but de la thérapie génique germinale est le plus ambitieux : introduire des cellules transgéniques dans la lignée germinale et dans la population des cellules somatiques. Cette thérapie devrait non seulement guérir la personne traitée mais certains de ses gamètes devraient également présenter le génotype corrigé. La thérapie germinale a été réalisée par des injections dans des œufs fécondés de souris. Toutes fois, le protocole qui pourrait convenir également pour l'homme consiste à retirer d'une souris pleine, un embryon à un stade précoce du développement qui présente le génotype déficient et à lui injecter des cellules transgéniques contenant l'allèle de type sauvage. Ces cellules forment alors des parties de nombreux tissus de l'organisme, y compris souvent de la lignée germinale, qui donnera naissance aux gonades.

Le gène pourra ensuite être transmis à toute ou partie de la descendance, selon la taille du clone des cellules transgéniques présentes dans la zone germinale néanmoins, aucune thérapie génique germinale n'a été réalisée chez l'homme à ce jour.

Nous avons vu que la plupart des fragments subissent une insertion ectopique au hasard dans le génome. C'est un inconvénient pour la thérapie génique humaine non seulement parce que l'insert ectopique peut perturber un gène, mais également parce que même si le phénotype de la maladie est inversé, l'allèle déficient est toujours présent et peut se séparer du transgène lors de ségrégation dans des générations futures. Pour une thérapie génique germinale efficace, le remplacement véritable d'un gène cible sera nécessaire, auquel cas le transgène de type sauvage remplacera la copie déficiente en place par un double crossing-over.

4. La thérapie génique somatique

Se concentre exclusivement sur le corps. L'approche consiste à essayer de corriger un phénotype de maladie en traitant quelques cellules somatiques chez la personne atteinte. Actuellement, il n'est pas possible de rendre un organisme entièrement transgénique.

Cette technique s'applique donc aux maladies dont le phénotype est dû à des gènes exprimés de façon prédominante dans un tissu. Dans ce cas, il n'est probablement pas nécessaire que toutes les cellules rendues transgéniques puissent atténuer les symptômes de la maladie.

La technique consiste à prélever des cellules d'un malade présentant le génotype déficient et à rendre ces cellules transgéniques grâce à l'introduction de copies du gène cloné de type sauvage. Les cellules transgéniques sont ensuite réintroduites dans le corps du malade et la fonction normale du gène s'y exerce.

Il existe actuellement deux façons d'introduire le transgène dans les cellules somatiques déficientes. Ces deux techniques utilisent des virus. La technique la plus ancienne fait appel à un rétrovirus inactivé, dans le génome duquel le transgène est épissé et remplace la plupart des gènes viraux. Le cycle naturel des rétrovirus comprend l'intégration du génome viral en un endroit de l'un des chromosomes. Ce type de vecteur pose un problème potentiel, car l'insertion du virus peut également être mutagène et inactiver un gène résidant inconnu. Un autre problème posé par ce type de vecteurs est qu'un rétrovirus attaque seulement les cellules qui prolifèrent. Comme les de sang. Cette procédure a été utilisée pour la thérapie génique somatique d'une immunodéficience combinée grave.

L'autre vecteur utilisé en thérapie génique humaine est l'adénovirus. En temps normal ce virus attaque l'épithélium respiratoire en injectant son génome dans les cellules de celui-ci. Le génome viral ne s'intègre pas dans un chromosome mais reste à l'état libre dans les cellules, ce qui supprime le risque de mutagenèse lors de l'insertion du vecteur. Un autre avantage de l'utilisation de l'adénovirus comme vecteur est qu'il attaque les cellules qui ne se divisent pas, ce qui rend en principe la plupart des l'épithélium respiratoire, l'adénovirus est un bon choix de vecteur pour traiter la maladie (24).

5. Stratégie de thérapie génique dans le cas de cancer

La thérapie génique des cancers était, au départ, un prolongement des premières expériences de marquage de gène. Les lymphocytes infiltrant les tumeurs ont été transformés avec un gène de TNF en plus de celui de la résistance à la néomycine, dans le but d'augmenter l'efficacité de ces cellules à.

Tuer des tumeurs en augmentant la quantité de TNF qu'elles sécrètent. Bien que le TNF soit fortement toxique chez l'homme à un taux aussi faible que $10\mu\text{g}/\text{kg}$ de masse corporelle, la thérapie génique n'a eu aucun effet secondaire et il n'y a apparemment aucun effet de toxicité du TNF sécrété sur les organes (Hwu et al.1993). Une autre stratégie consiste à transformer les cellules tumorales elles-mêmes, en les rendant plus sensibles au système immunitaire grâce à l'expression de cytokines ou d'un antigène étranger. Une autre stratégie encore, consiste à transformer des fibroblastes, qui sont plus faciles à cultiver, puis à les injecter en même temps que les cellules tumorales pour provoquer une réponse immunitaire dirigée contre la tumeur. Un certain nombre de stratégie de "mise à mort assistée" de ce type ont reçu l'approbation pour des essais cliniques.

Une intervention directe pour corriger des gènes responsables d'un cancer est également possible. Les gènes agissant de façon dominant (oncogène) ont été ciblés grâce à la technologie anti-sens, soit des oligonucléotides, soit des ribozymes (25).

6. Vecteurs de thérapie génique

Une fois que la stratégie de thérapie génique a été choisie, l'étape suivante est de décider par quel moyen le gène d'intérêt sera transmis aux cellules cibles. Un vecteur idéal devrait pouvoir contenir une grande quantité d'ADN, avoir une grande efficacité de transduction, être sécuritaire et pour le patient et pour l'environnement et être produit à un titre élevé. Le choix du vecteur dépend également du but visé par la thérapie génique.

Il existe différents types de vecteurs pouvant être utilisés, les principaux étant l'ADN nu, les liposomes et les virus à ADN ou à ARN. Les principales caractéristiques de tous les vecteurs mentionnés ici sont résumées dans le tableau 2.

Concernant l'ADN nu, le gène d'intérêt est inséré dans un plasmide bactérien qui est directement injecté dans le patient. Les principales caractéristiques de ce vecteur sont qu'il n'y a pas d'intégration de l'ADN dans le génome, il n'y a aucune limite quant à la taille du transgène, l'efficacité de la transfection est faible (10-30%) due à la dégradation rapide par les nucléases cellulaires. Toutefois, pour l'ADN qui réussit à pénétrer la cellule, l'expression est stable et persiste jusqu'à la mort de la cellule. Finalement, ce vecteur n'induit aucune réponse immunitaire (26).

Pour ce qui est des liposomes, l'ADN contenu dans ces compartiments lipidiques est transmis aux cellules cibles par fusion avec la membrane cellulaire et par endocytose. Ce qui définit ce vecteur est qu'il peut contenir de grandes quantités d'ADN; qu'il provoque peu de réaction immunitaire donc qu'il permet les injections répétées; qu'il ne provoque aucun risque d'infection mais que l'expression du transgène est faible et transitoire.

Vecteurs	Titre(v.i./ml)	Inflammation	Persistance	Intégration	Transgène
ADN nu	NA	Non	Non	Non	> 50kb
Liposome	NA	Non	Non	Non	> 50kb
Rétrovirus	$10^5 - 10^5$	Non	Oui	Oui	7kb
Lentivirus	$10^5 - 10^5$	nd	Non	Oui	7-8kb
Herpes	$10^8 - 10^9$	Oui	Oui	Non	30-40kb
VAA	10^{11}	Non	Oui/Non	Oui/ Non	3,5-4kb
Adénovirus	$10^{11} *$	Oui	Non	Non	7-8kb

Tableau 2. Caractéristiques des différents vecteurs utilisés en thérapie génique.

NA : Ne s'applique pas.

nd: Non disponible.

* Valeur équivalente à 10^{13} particules de vecteur/ml.

Passons maintenant aux vecteurs viraux qui nous intéressent plus particulièrement. Un vecteur viral est défini comme un virus défectueux où les portions du génome pour la réplication virale ont été remplacées par le transgène d'intérêt.

Les vecteurs viraux font partie d'une très grande famille contenant plusieurs membres dont les rétrovirus, les lentivirus, le virus Herpes Simplex, les virus associés aux adénovirus (VAA), et les adénovirus. Les principales caractéristiques des ces vecteurs seront décrites ici.

6.1. Rétrovirus

Les rétrovirus sont des virus à ARN monocaténaire enveloppés dont la taille du génome est de sept à onze kilobases. Une fois qu'il est entré dans la cellule cible, son ARN est transcrit en ADN bicaténaire pour ensuite être intégré dans la chromatine de l'hôte. Ces virus causent des maladies chroniques qui peuvent être latentes pendant un certain temps. Le génome des rétrovirus contient deux régions appelées Long Terminal Repeat (LTR) séparées par les gènes *gag*, *pol*, et *env* codant respectivement pour les protéines structurales, les polymérases et les intégrases ainsi que pour les glycoprotéines de surface. Lorsqu'ils sont utilisés comme vecteur, ils peuvent emmagasiner jusqu'à huit kilobases d'ADN. Plusieurs avantages sont rattachés à utilisation de ce vecteur (27).

Tout d'abord, il infecte seulement les cellules en division ce qui procure une certaine sécurité pour les cellules quiescentes entourant une tumeur. Aussi, l'ADN transporté par le rétrovirus est intégré dans le génome de l'hôte ce qui permet une expression prolongée du transgène. Les inconvénients reliés à l'utilisation de ce vecteur sont toutefois nombreux: les titres obtenus sont bas, 10^5 à 10^7 vi/ml; le virus peut se recombinaison lui permettant ainsi de redevenir de type sauvage et retrouver son pouvoir de réplication; l'intégration de l'ADN dans le génome se fait de façon aléatoire risquant ainsi d'activer des oncogènes ou d'inhiber des gènes suppresseurs de tumeur; le virus est inactivé par le complément et il n'est pas spécifique à un tissu en particulier donc il risque d'infecter des cellules non visées par le traitement. Malgré tout, le rétrovirus est le plus utilisé jusqu'à présent dans les études cliniques de thérapie génique, surtout pour celles *ex vivo* où les cellules sont infectées en culture avant d'être réintroduites chez le patient ou pour infecter les cellules en division rapide comme dans le cas des tumeurs (28).

6.2. Lentivirus

Les lentivirus sont des virus à ARN monocaténaire dérivés des virus de l'immunodéficience humaine (VIH). Le génome des lentivirus, en plus de contenir les gènes de base des rétrovirus, contient deux gènes de régulation, *tat* et *rev* qui sont essentiels pour l'expression du génome ainsi que des gènes accessoires (27).

Les avantages des lentivirus sont les suivants: l'intégration de l'ADN des lentivirus dans le génome de l'hôte ne nécessite pas la division cellulaire, ils utilisent plutôt le transport actif de la machinerie nucléaire de la cellule à travers les nucléopores; l'expression du transgène est longue et stable, sans conséquence pathologique détectable. L'inconvénient majeur de ce vecteur est qu'étant donné qu'il dérive du VIH, il peut être potentiellement très dangereux. Donc, avant de l'utiliser en thérapie génique, on doit s'assurer sans l'ombre d'un doute que le vecteur ne puisse se recombinaison et ainsi se répliquer (27).

6.3. Virus Herpes-Simplex

Le virus Herpes simplex de type 1 (HSV-1) est le virus herpes le plus utilisé en thérapie génique. Il est composé d'un ADN linéaire bicaténaire de 152 kilobases contenant au moins 84 gènes dont la moitié ne sont pas essentiels pour la réplication virale en culture cellulaire. Cela permet à ce vecteur de pouvoir emmagasiner une très grande quantité d'ADN étranger. De plus, il peut infecter les cellules quiescentes et être produit à de très bons titres. Aussi, il peut produire un effet cytotoxique pour les cellules tumorales tout en étant incapable de se répliquer dans les tissus humains normaux. De plus, le HSV-1 a un pouvoir infectieux très efficace pour plusieurs types cellulaires différents et donc une bonne capacité de transduction ce qui permet l'administration répétée de ce vecteur même dans un hôte immunisé. Un très grand avantage du HSV-1 est sa persistance après l'infection primaire à un stade latent. Toutefois, la persistance de l'expression du transgène peut devenir nuisible dans certains tissus comme le cerveau. Un autre problème associé aux vecteurs HSV-1 est sa toxicité pour plusieurs types cellulaires. Toutefois, la construction de vecteurs contenant des délétions dans plusieurs des gènes précoces a pu diminuer cet effet nuisible (27,28).

6.4. Virus associés aux adénovirus (VAA)

Les VAA sont des parvovirus humains nécessitant un virus "helper" comme un adénovirus ou un HSV-1 pour permettre sa réplication. Il existe six différents sérotypes ayant des tropismes différents. Le VAA est un virus à ADN monocaténaire contenant deux gènes pouvant produire plusieurs polypeptides: *rep* pour la réplication virale et *cap* pour l'encapsidation. Ces deux gènes sont entourés de régions ITR (inverted terminal repeat) de 145 nucléotides. Ce virus peut emmagasiner seulement cinq kilobases ce qui n'est pas énorme. Un avantage très important de ce virus est qu'on ne lui connaît aucune maladie associée ce qui fait de ce vecteur un choix de premier ordre quant à sa sécurité. De plus, puisque le génome du vecteur ne contient pas les séquences virales, ce vecteur n'est associé à aucune toxicité ni à aucune réponse inflammatoire. Toutefois, il y a production d'anticorps neutralisants ce qui limite l'administration répétée. (27,28).

Finalement, le VAA peut transduire efficacement les cellules qui ne se divisent pas.

6.5. Adénovirus

Les adénovirus sont des virus à ADN bicaténaire de 36 kilobases codant pour plus de 50 polypeptides. Leur ADN est entouré d'une capsidie icosahédrale composée de trois protéines majeures soit les hexons, les pentons et les fibres. Puisque les adénovirus ont une large gamme d'hôtes et qu'ils livrent leur ADN au noyau se répliquant ainsi de façon très efficace, ils sont de bons candidats pour la thérapie génique.

Le cycle d'infection de l'adénovirus se divise en deux phases : une phase plus précoce qui concerne l'entrée du virus dans la cellule hôte, le passage du génome viral au noyau cellulaire suivi par la transcription des gènes précoces et une phase plus tardive (Figure 3A). L'adsorption du virus à la cellule cible se fait par la liaison de la partie Knob des fibres aux récepteurs adénovirus/coxsackie (CAR). Par la suite, son internalisation se

produit par endocytose médiée par les clathrines. Elle est déclenchée par la reconnaissance d'un motif RGD sur le penton qui interagit avec les intégrines cellulaires $\alpha\beta 3$ et $\alpha\beta 5$. Ces intégrines ainsi que les récepteurs CAR joueraient un rôle important dans le tropisme de l'adénovirus pour certains tissus.

Une fois que le virus est à l'intérieur de la cellule, ses protéases virales altèrent la capsid permettant ainsi à son génome de pénétrer dans le noyau cellulaire par les pores nucléaires où débute la transcription primaire des gènes précoces des régions E1 à E4 (Figure 3B). Les protéines E1 sont divisées en deux groupes soit E1A et E1B. E1A module le métabolisme cellulaire pour rendre la cellule plus susceptible à la réplication virale alors que E1B promeut l'oncogénèse en empêchant l'apoptose entre autres par l'inactivation de la protéine p53. Les protéines E2A et E2B fournissent la machinerie pour la réplication de l'ADN virale et la transcription des gènes tardifs alors que les protéines E3 suppriment les mécanismes de défense de l'hôte. Pour ce qui est des produits géniques de E4, ils promeuvent la réplication de leur ADN, l'expression des gènes tardifs et empêche la synthèse des protéines cellulaires.

La transcription tardive du génome viral donnera, quant à elle, les protéines L1 à L5 impliquées dans la production des composés structuraux ainsi que dans l'encapsidation et la maturation des particules virales dans le noyau. Finalement, l'encapsidation est suivie par la perméabilisation du noyau et la désintégration de la membrane cellulaire permettant la libération des virions.

Les sérotypes 2 et 5 sont les deux plus utilisés pour la thérapie génique contre le cancer. Dans les vecteurs adénoviraux, la région E1 a été déléetée permettant d'emmagasiner environ huit kilobases d'ADN étranger et de prévenir la transcription des gènes viraux nécessaires à la réplication (Figure 3C). Toutefois, même en absence de la région E1, le vecteur exprime un léger niveau d'antigènes viraux et de transcription des gènes stimulant ainsi la réponse immunitaire et la perte de l'expression du transgène. Pour remédier à cette situation, un vecteur adénoviral où tous les gènes viraux ont été enlevés à l'exception des régions ITR et des séquences d'encapsidation a été construit (Figure 3D) (30).

des facteurs de l'hôte seraient également responsables puisque les deux autres patients ayant reçu la même dose de vecteur n'ont pas subi ces conséquences désastreuses.

Il existe plusieurs moyens de contrer ces inconvénients. Par exemple, on peut utiliser des sérotypes animaux comme l'adénovirus canin de type 2 (CAV-2) , diminuer la réponse immunitaire en supprimant les macrophages par l'utilisation d'agents immunosuppresseurs ou les cytokines, utiliser des sérotypes différents lors d'injections subséquentes, utiliser les vecteurs adénoviraux contre des maladies où l'expression transitoire du transgène est suffisante comme dans le cas des vaccins, des maladies cardio-vasculaires ou du cancer et transmettre le vecteur par injection intra-tumorale plutôt que par intraveineuse évitant ainsi d'exposer le vecteur au système immunitaire. Aussi, l'utilisation d'un vecteur viral de deuxième génération où tous les gènes viraux ont été enlevés à l'exception des régions ITR permet une expression prolongée.

On peut constater qu'il existe plusieurs stratégies différentes de thérapies géniques et autant de possibilité de vecteurs. Malgré tout, la thérapie génique comporte plusieurs inconvénients principalement reliés aux risques de toxicité pour le patient. Une bonne façon de réduire ces risques est de placer le transgène sous le contrôle d'un promoteur spécifique aux cellules ciblées par la thérapie (30).

7. Thérapie génique du HCC

✕ Plusieurs stratégies de thérapie génique ont été pensées pour lutter contre le cancer. Certaines sont dirigées vers les cellules saines, par exemple la thérapie utilisant les gènes anti-angiogéniques, les gènes augmentant la réponse immunitaire contre la tumeur et les gènes conférant une résistance aux drogues. D'autres visent les cellules cancéreuses comme la thérapie utilisant les gènes suppresseurs de tumeur, les gènes induisant l'apoptose, les virus dit oncolytiques et les gènes suicide (31).

7.1. Thérapie génique utilisant les gènes anti-angiogéniques

✕ La croissance de la tumeur ainsi que sa survie dépendent de l'angiogénèse, puisque les cellules tumorales ont besoin de l'oxygène et des nutriments présents dans la circulation sanguine. De plus, la formation des vaisseaux sanguins reliés aux tumeurs est requise pour l'évasion des métastases de la tumeur d'origine. Donc, un bon moyen pour éliminer le cancer serait de bloquer l'angiogénèse. Pour ce faire, puisque l'angiogénèse est régulée par la balance entre les facteurs pro-angiogéniques comme VEGF et FGF et les facteurs anti-angiogéniques comme l'angiostatine et l'endostatine, deux stratégies s'offrent à nous: l'inhibition des facteurs pro-angiogéniques et l'activation des facteurs anti-angiogéniques. Concernant les facteurs pro-angiogéniques, VEGF peut être inhibé par l'introduction dans la cellule d'un gène qui code pour de l'ADN complémentaire antisens se liant à l'ARNm de VEGF empêchant ainsi la formation de la protéine. Une autre façon d'éviter l'élaboration de vaisseaux sanguins associés aux tumeurs est l'introduction de gènes anti-angiogéniques dans les cellules (32).

Il existe plusieurs avantages à utiliser une thérapie reliée à l'inhibition de l'angiogénèse. Tout d'abord, puisque la formation de vaisseaux sanguins est nécessaire à la croissance de la tumeur, cette thérapie peut être appliquée à tous les types de tumeurs solides. Ensuite, il y a très peu de chances de développer une résistance aux inhibiteurs de l'angiogénèse puisque la cible de la thérapie anti-angiogéniques étant la cellule normale stable génétiquement, les probabilités que cette dernière acquière des mutations conférant une résistance à ces inhibiteurs sont très faibles (33).

7.2. Thérapie génique immunitaire

✕ Le système immunitaire est constitué de différents types de cellules qui interagissent les unes avec les autres pour protéger l'individu de toute attaque venant de l'extérieur. C'est un système très précis qui reconnaît spécifiquement tout élément étranger à l'organisme. Toutefois, puisque les cellules tumorales proviennent de l'individu lui-même, il arrive que le système immunitaire ne les reconnaisse pas comme étant anormales, permettant ainsi à la tumeur de se développer. Le système immunitaire est tout de même très spécifique et l'utilisation de ce dernier comme thérapie contre le cancer pourrait être à envisager. Surtout qu'il permettrait aussi de repérer et de détruire les métastases qui sont un des principaux obstacles à la guérison du cancer (33).

Il existe différentes stratégies impliquant le système immunitaire en thérapie génique dont l'apport d'antigènes tumoraux aux cellules dendritiques et l'utilisation de

cytokines qui sont, entre autres, des molécules de costimulation des lymphocytes T. La méthode la plus répandue utilise les cellules dendritiques qui sont des cellules présentatrices d'antigènes. En effet, lorsque ces cellules ont acquis les protéines tumorales dans leur réticulum endoplasmique, ces antigènes se lient au complexe majeur d'histocompatibilité de classe I (CMH1). Ce complexe est ensuite transporté vers la surface cellulaire permettant sa liaison avec un récepteur des lymphocytes T auxiliaires. Le CMH1 est aussi lié aux lymphocytes T auxiliaires par le CD4 qui est une protéine d'adhérence de la surface cellulaire permettant l'activation du lymphocyte et le maintien de sa liaison avec la cellule dendritique. Le lymphocyte T ainsi activé exprime le ligand CD40 qui va activer les cellules T cytotoxiques CD8⁺ déclenchant ainsi la réponse immunitaire. Les lymphocytes T cytotoxiques partent alors à la chasse des cellules exprimant l'antigène pour lequel ils sont spécifiques et, une fois liés à elles, libèrent des perforines créant ainsi des pores dans la membrane. Cette étape est suivie par la libération de granzymes B qui pénètrent dans la cellule étrangère par ces pores et ainsi détruisent la cellule par l'activation de l'apoptose par le sentier des caspases. Donc, une bonne méthode pour stimuler le système immunitaire serait de transférer des gènes codant pour des protéines tumorales dans les cellules dendritiques déclenchant ainsi la cascade de la présentation des antigènes jusqu'à la destruction des cellules cancéreuses. Cette méthode, comparativement à la saturation des CMH par l'exposition de ceux-ci à de nombreux peptides tumoraux, a plusieurs avantages comme une expression prolongée des antigènes ainsi qu'une plus grande variété de peptides présentés par le CMH provenant d'une même protéine (31).

× Une autre stratégie utilisant les cellules dendritiques est la transduction dans ces cellules du gène codant pour le ligand CD40. Cette méthode permet d'activer directement les cellules T CD8⁺ sans devoir passer par les lymphocytes T CD4⁺ ce qui amplifie la réponse immunitaire. Le gène du ligand CD40 peut également être introduit dans les cellules cancéreuses elles-mêmes permettant l'activation des cellules dendritiques et le déclenchement d'une réponse immunitaire. Les cellules T peuvent également être modifiées pour augmenter leur spécificité pour un antigène tumoral donné (35).

× Une dernière stratégie utilisée pour stimuler le système immunitaire est l'utilisation des cytokines. Puisque l'administration de ces dernières directement dans la circulation sanguine peut provoquer des effets secondaires sévères, il a donc fallu trouver une nouvelle voie d'administration. Deux possibilités ont été analysées. Tout d'abord, un vecteur contenant les gènes exprimant les cytokines peut être directement injecté dans la tumeur ou on peut transduire ces gènes dans les cellules dendritiques ou dans les cellules cancéreuses pour ensuite les réintroduire dans le patient permettant ainsi la production de ces cytokines pouvant stimuler une réponse immunitaire dans la région tumorale (33).

7.3. Thérapie génique utilisant des gènes de résistance aux drogues

Un des inconvénients majeurs des traitements classiques contre le cancer est qu'ils ne sont pas très spécifiques aux cellules tumorales pouvant ainsi causer des dommages aux cellules saines, tout particulièrement aux cellules souches hématopoïétiques de la moelle osseuse. Un bon moyen pour diminuer cette toxicité serait de transmettre aux cellules normales situées près des tumeurs un gène de résistance aux drogues utilisées pour le

b'ea

traitement du cancer. Plusieurs gènes ont été étudiés et les principaux ayant retenu l'attention sont le MDR-1 (multidrug résistance 1 gène) et des variants des gènes DHFR (dihydrofolate réductase) et MGMT (O^6 -methylguanine-DNA methyltransferase) (34).

✕ Le gène MDR-1 code pour une glycoprotéine trans-membranaire agissant comme pompe énergie dépendante qui expulse de la cellule les composés lipophiliques. L'introduction de ce gène dans les cellules saines leur conférerait une certaine protection contre les agents anti-cancéreux en les éliminant de la cellule via cette pompe transmembranaire (35).

✕ DHFR est une enzyme cytosolique impliquée dans la formation de la thymidylate, de purines et de plusieurs autres constituants cellulaires. Un traitement de chimiothérapie utilise des anti-folates comme le méthotrexate et le triméthrexate qui lie la DHFR inhibant ainsi la réplication de l'ADN ce qui entraîne l'arrêt de la croissance cellulaire. Des mutations ont été faites dans le gène de la DHFR pour diminuer son affinité pour les analogues des folates lui conférant ainsi une résistance à l'inactivation par ces derniers. De plus, une double mutation du gène DHFR a généré des variants où l'activité catalytique de la protéine pour le dihydrofolate est maintenue alors que l'affinité pour les anti-folates est réduite de 10 000 fois. Ces variants transmis aux cellules souches leurs permettent donc de résister aux effets toxiques de la chimiothérapie utilisant les agents anti-folates (36,37).

✕ Finalement, le gène MGMT codant pour la protéine O^6 -alkylguanine-DNA alkyltransferase (AGT) est une autre cible de la thérapie génique puisque cette protéine répare les lésions de l'ADN produites par les agents alkylants comme l'agent chloroéthylant BCNU et l'agent méthylant témozolomide. Ces lésions se forment à la position O^6 sur la guanine permettant ainsi sa liaison avec la thymine et non la cystéine ce qui crée un mauvais appariement des bases durant la réplication de l'ADN et donc une mutation. La protéine AGT remédie à ce dommage en enlevant le groupement alkyl sur la guanine par un transfert covalent sur son site actif cystéine ce qui a pour effet de l'inactiver. Un inhibiteur de cette protéine, le O^6 -benzylguanine (BG), agit comme un pseudo substrat inactivant la protéine de la même manière. Des mutants du gène MGMT permettant à la protéine de résister à l'inactivation par les BG ont été produits permettant ainsi aux cellules de résister aux traitements utilisant les BG et les agents alkylants. De plus, puisque les cellules souches hématopoïétiques produisent peu de AGT et qu'il est possible de diminuer le niveau de la protéine endogène avec les BG, cela confère un très grand avantage sélectif pour les cellules possédant les mutants de MGMT lors d'un traitement aux agents alkylants (37).

7.4. Thérapie utilisant les gènes suppresseurs de tumeur

✕ Comme il a été mentionné plus haut, l'inactivation des gènes suppresseurs-de tumeurs ou l'activation d'oncogènes est une des premières étapes du cheminement d'une cellule saine vers un état tumoral. Ces gènes sont donc des cibles de choix pour la thérapie génique. Le gène suppresseur de tumeur auquel on pense de prime abord est p53 qui est souvent inactivé dans les cellules malignes. Il a été démontré que la restitution de ce gène dans ces cellules avait un effet anti-tumoral important dû à l'arrêt de la croissance

cellulaire et à l'induction de l'apoptose. De plus, on a pu observer un effet positif de l'incorporation du gène p53 dans les cellules où ce gène n'avait pas été inactivé. Un autre point positif de p53 est son habileté à inhiber l'angiogenèse tumorale permettant ainsi d'éliminer toutes les cellules de la tumeur même celles qui n'ont pas été transduites avec le gène (39,42).

On a remarqué aussi que l'utilisation de la thérapie génique de p53 combinée avec la radiothérapie ou la chimiothérapie éliminait plus efficacement la tumeur que ces traitements appliqués seuls. D'autres gènes suppresseurs de tumeur ont été introduits dans les cellules cancéreuses comme par exemple le gène Rb et le gène mda-7 (mélanocyte différentiation associated antigen-7). D'une façon similaire, l'utilisation de dominants négatifs pour les oncogènes ou les gènes de croissance cellulaire pouvant inactiver ces gènes est une autre stratégie de thérapie génique envisagée pour se débarrasser des cellules tumorales (40).

Plusieurs gènes suppresseurs de tumeur entrent dans la régulation de l'apoptose qui est généralement inhibée dans les cellules tumorales. Il existe plusieurs sentiers menant à l'apoptose par exemple le sentier extrinsèque TNF, TRAIL, Fas et le sentier intrinsèque mitochondrial par BAX et BCL-2. Ces différents sentiers impliquent plusieurs molécules différentes dont p53 qui a été mentionné plus haut donc autant de cibles pour la thérapie génique permettant la restitution de ce phénomène et donc l'élimination des cellules tumorales (41).

7.5. Thérapie génique utilisant des virus oncolytiques

Les virus, bien que souvent nuisibles, peuvent être utilisés comme instrument dans la lutte contre le cancer. En effet, on peut profiter de leur pouvoir infectieux pour détruire les cellules cancéreuses, mais il faut s'assurer que l'infection soit spécifique aux cellules tumorales uniquement. Ces virus, qui peuvent se répliquer uniquement dans les cellules cancéreuses sont nommés virus oncolytiques. Le meilleur exemple de ce type de virus est l'adénovirus ONIX-015 où on a enlevé la région E1B reconnue pour inactiver p53 en se liant à ce dernier. Ce virus ne peut donc se répliquer que dans les cellules ne possédant pas la protéine p53, une caractéristique commune à la majorité des cellules malignes. Un autre exemple, est le "Newcastle Disease Virus", un virus d'oiseau qui peut se répliquer dans les cellules cancéreuses humaines, mais très peu dans les cellules saines. Aussi, certains virus comme le rétrovirus nécessitant la division cellulaire pour compléter leur cycle d'infection pourraient être utilisés pour combattre des tumeurs entourées de tissus normaux ne se divisant pas (36).

7.6. Thérapie génique utilisant les gènes suicide

Un gène suicide est un gène qui code pour une enzyme convertissant une prodrogue en composé toxique induisant ainsi la mort cellulaire. L'introduction d'un tel gène dans des cellules cibles, suivie par l'administration de la prodrogue pourrait être un excellent moyen d'éliminer une tumeur. Le meilleur exemple est sûrement le gène codant pour la thymidine kinase du virus Herpes simplex de type 1 (HSV-TK). Cette enzyme a la propriété de transformer le ganciclovir (GCV), qui est un dérivé de l'acyclovir (ACV) dix

fois plus efficace, en composé toxique. Pour ce faire, la thymidine kinase phosphoryle le GCV en GCV monophosphate qui est ensuite pris en charge par les kinases cellulaires. La guanylate kinase transforme alors le GCV-1P en GCV-2P qui sera phosphorylé ensuite en GCV-3P. C'est sous cette forme que le GCV acquiert sa toxicité (Figure 1.2). Étant un analogue des nucléotides, le GCV-3P compétitionne avec le déoxyguanosine-3P et est intégré comme substrat à la chaîne d'ADN par l'ADN polymérase créant ainsi un codon de terminaison et donc un ADN tronqué ce qui induit la mort cellulaire. L'avantage de ce système est que le GCV-3P, pour être toxique, requiert la synthèse de l'ADN donc la division des cellules; puisque la majorité des cellules saines sont quiescentes, la thérapie génique utilisant le gène HSV-TK cible plus spécifiquement les cellules tumorales qui se divisent à l'infini (38).

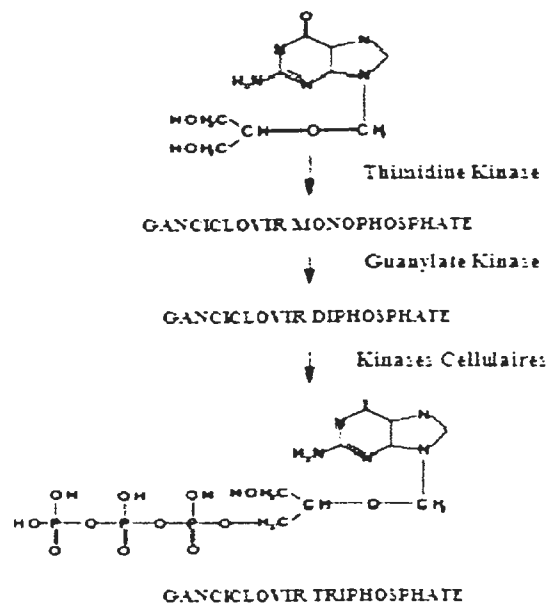


Figure 4. Activation du GCV: La phosphorylation du GCV en GCV triphosphate par la thymidine kinase et par les kinases cellulaires (41).

Cependant, comme pour les autres types de thérapie génique, le problème majeur reste l'incapacité à transmettre le transgène à toute la population cellulaire tumorale. Ce problème peut être contourné grâce à une propriété du système HSV-TK-GCV : l'effet "bystander". L'effet bystander est la capacité d'une cellule possédant le gène suicide à transmettre sa toxicité aux cellules voisines ne possédant pas ce transgène. Il a été observé que seulement 10% de cellules TK+ était suffisante pour induire la destruction complète d'une tumeur. Puisque le GCV ne peut traverser la membrane cellulaire une fois qu'il est phosphorylé, d'autres mécanismes doivent être utilisés par la cellule pour transmettre ce composé à ses voisins. L'effet bystander pourrait être médié par l'endocytose des vésicules apoptotiques contenant les débris cellulaires toxiques par les cellules adjacentes, par un transfert direct entre les cellules via les jonctions gap ou par la réponse immunitaire induisant la production de TNF- α par la cellule tumorale transduite avec le vecteur ou par la cellule morte. Il a été observé que l'effet bystander débute avant que les cellules contenant le gène suicide aient commencé à mourir ce qui élimine la théorie des vésicules apoptotiques. Concernant les jonctions gap, ce sont des

canaux intercellulaires formés par deux hémicanaux transmembranaires juxtaposés (connexons) provenant de deux cellules adjacentes (44).

Les connexons sont composés de six sous-unités protéiques (les connexines) et d'un pore central. Le diamètre des jonctions gap, qui est de deux nanomètres, pourrait permettre le passage du GCV phosphorylé. Plus de 80% de l'effet bystander serait dû aux jonctions gap. Cela signifie qu'il doit y avoir un contact cellule-cellule pour avoir un effet bystander. Par conséquent, une bonne façon d'augmenter l'efficacité de l'effet bystander serait d'augmenter le niveau des jonctions gap par la transduction du gène codant pour les connexines dans les cellules cibles ou par le traitement de ces cellules avec des agents chimiques comme les rétinoïdes ou l'AMP. surtout que les jonctions gap sont souvent régulées négativement dans les cellules cancéreuses. Aussi, les cellules tumorales transfectées avec le gène codant pour les connexines perdent leur capacité tumorale ou leur croissance est diminuée ce qui leur confère un effet suppresseur de tumeur. Toutefois, l'arrêt de la croissance tumorale signifie aussi la diminution de l'intégration du GCV dans l'ADN ce qui diminue l'efficacité du traitement. Le système immunitaire joue aussi un rôle dans l'effet bystander. En effet, des souris possédant des HCC et traitées avec HSV-TK ont acquis une protection spécifique contre ce type de cellules cancéreuses. Le système immunitaire peut être stimulé par la nécrose des tissus tumoraux produisant ainsi une inflammation locale ce qui attire les cellules dendritiques stimulant ainsi l'immunité anti-tumorale (44).

Les avantages de la thérapie génique utilisant le gène suicide sont nombreux. Tout d'abord, l'incorporation du GCV nécessite la synthèse de l'ADN ce qui limite la toxicité de ce traitement aux cellules en division. Aussi, grâce à l'effet bystander, il n'est pas nécessaire que le gène suicide soit transmis à toutes les cellules tumorales pour éliminer la tumeur. De plus, le composé toxique, soit le GCV, doit être transformé par le gène HSV-TK pour exercer son effet meurtrier ce qui confère une certaine sécurité au traitement. Toutefois, l'efficacité des drogues cytotoxiques dépend de l'équilibre entre l'activité anti-tumorale et les effets secondaires. Il y a certains inconvénients liés à ce système qui diminuent son efficacité. Par exemple, seulement 10% des cellules à l'intérieur d'une tumeur en croissance se divisent en même temps ce qui limite le nombre de cellules éliminées. Un autre problème, cette fois-ci relié l'effet bystander, est que le niveau de jonctions gap est peu élevé dans les HCC, puisque dans ces cellules, les connexines sont localisées dans le cytoplasme peu importe leur niveau d'expression limitant ainsi l'effet bystander. Un inconvénient important de ce système est que, bien qu'il soit supposé ne s'attaquer qu'aux cellules en division, il a été observé qu'il pouvait également être toxique pour certaines cellules quiescentes soit celles qui sont métaboliquement actives. En effet, le GCV-3P peut aussi être intégré lors de la synthèse de l'ADN mitochondrial et ainsi détruire ces producteurs d'énergie. Cette toxicité est surtout reliée aux hépatocytes qui peuvent contenir à eux seuls plus de 2000 mitochondries par cellule. La cytotoxicité du GCV peut aussi être due à l'incorporation de GCV-1P dans le génome (43).

Des études cliniques en phase I ont démontré que la stratégie de thérapie génique utilisant HSV-TK-GCV dans un vecteur adénoviral peut être appliquée de façon

sécuritaire par une injection intra tumorale du vecteur aux patients ayant des métastases au foie provenant d'un cancer colorectal (44).

Puisque le traitement de thérapie génique utilisant le gène HSV-TK pouvait démontrer une certaine toxicité dans certains cas et ne pas toujours être très efficace, des nouveaux mutants qui augmenteraient l'affinité du GCV pour l'enzyme et qui auraient un meilleur effet bystander ont été recherchés pour tenter d'améliorer le système. Ces différents mutants ont été créés par mutagenèse aléatoire. Ces mutations visaient le site actif du gène HSV-TK pour augmenter la spécificité au GCV et à l'ACV et diminuer celle pour leur compétiteur, la thymidine, puisque l'enzyme sauvage phosphoryle préférentiellement ce nucléotide naturel. Il a été démontré que deux sites de trois acides aminés très conservés participaient à la liaison du substrat soit les sites 3 et 4 (Figure 5). Les résidus en Terminal de ces sites participeraient également à la liaison des nucléosides en maintenant l'intégrité structurale de la protéine. Donc, des mutations dans ces sites pourraient modifier l'affinité des substrats aux sites actifs. Un de ces mutants, TK30, dont le motif Leu-Ile-Phe en position 159-161 a été substitué pour Ile-Leu-Ala et le motif Ala-Leu-Leu en position 168-170 a été changé pour Tyr-Phe-Leu (Figure 1.3), s'est révélé être de beaucoup supérieur au type sauvage quant à son affinité pour le GCV et à son effet bystander ainsi qu'à sa faible affinité pour la thymidine réduisant ainsi la compétition entre ce nucléotide naturel et les analogues des nucléotides.

En effet, la sensibilité des cellules traitées au GCV et possédant le mutant TK30 serait de 9 à 500 fois supérieur au type sauvage. Donc, l'utilisation de ce mutant en thérapie génique pourrait être très avantageux puisqu'il est plus efficace à détruire les cellules tumorales à une concentration de GCV moins toxique pour les cellules saines.

Les boîtes représentent les tris peptides très conservés composant les sites de liaison 3 et 4. Les acides aminés en gras correspondent aux sites mutés par mutagenèse aléatoire et les nombres inscrits dessous au numéro de l'acide aminé dans la séquence (47).

Il existe donc plusieurs stratégies différentes de thérapie génique tout aussi intéressantes les unes que les autres. Toutefois, le principal enjeu de ces différents traitements est de trouver le moyen de livrer le transgène aux cellules cibles (48).

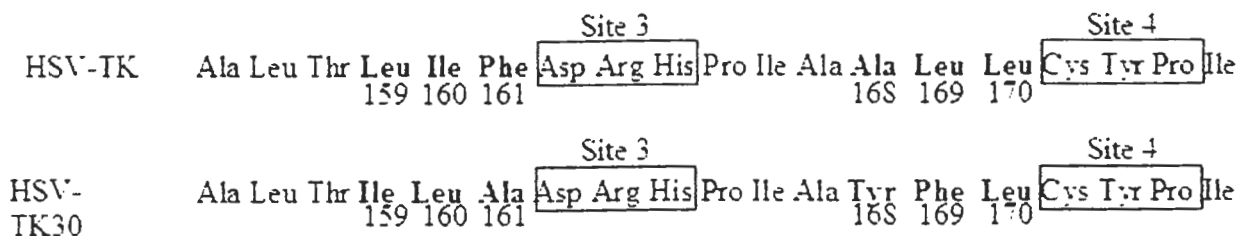


Figure 5. Séquence d'acides aminés de la protéine HSV-TK et du mutant HSV-TK30 (46).

Discussion et conclusion

Très prometteuse, la thérapie génique ne s'est avérée efficace que dans le cas du déficit immunitaire combiné sévère (DICS) et même dans ce cas là, la réussite reste très relative. En effet, soit elle n'apporte aucune amélioration au traitement de la maladie, soit les traitements actuels (médicaux ou chirurgicaux) sont plus efficaces et moins onéreux. C'est ainsi que la majorité des recherches et des expérimentations restent cantonnées au modèle animal, les essais cliniques sur l'homme étant restreints et leurs résultats moindres. Cependant, la thérapie génique offre de nouvelles perspectives de recherches pour approfondir les connaissances. Ceci permettrait de mieux connaître le fonctionnement et la régulation du génome et donc d'améliorer dans le futur les techniques de thérapies géniques. A l'heure actuelle beaucoup de laboratoires travaillant sur la thérapie génique se sont tournés vers la thérapie cellulaire qui semble plus prometteuse. De plus, les chercheurs ont appris à travailler en groupe et à utiliser les connaissances en informatique (utilisation pertinente du net et autres outils (Word, Excel, power point...)).

On peut illustrer cette situation par le modèle de la thérapie génique utilisant le gène suicide HSV-TK procure plusieurs avantages dont une certaine spécificité du traitement pour les cellules en division ainsi qu'un effet bystander entre les cellules transduites avec le transgène et les cellules non transduites. Toutefois, plusieurs inconvénients sont également rattachés à ce système comme la toxicité pour les cellules saines associée aux fortes doses de GCV nécessaires à l'élimination de la tumeur. Des études ont donc été entreprises pour tenter de découvrir des mutants du gène TK plus efficaces. Il a été démontré que le mutant TK30, avait une sensibilité pour cette prodrogue supérieure à celle de la protéine TK sauvage et qu'il possédait un meilleur effet bystander dans plusieurs lignées cellulaires. De plus, alors que le gène sauvage a une affinité préférentielle pour la thymidine, le gène TK30 se lie en premier lieu au GCV ou à l'ACV ce qui diminue de beaucoup la compétition entre les substrats augmentant ainsi l'efficacité du traitement. En raison des nombreux avantages du mutant TK30, la première étape consistait donc à déterminer si ce gène muté serait plus efficace à éliminer les tumeurs dans la lignée cellulaire d'hépatome de rat Buffalo Morris 7777 variant 7.6 que le gène sauvage TK. Pour ce faire, ils ont transduit ces deux gènes à l'aide d'un vecteur rétroviral dans notre lignée cellulaire et les clones résistants ont été regroupés après la sélection. Ils ont soumis ces cellules à un test de sensibilité au GCV. Les résultats obtenus étaient assez surprenants puisque pour les cellules v7.6, la sensibilité au GCV des cellules contenant le gène TK sauvage était pratiquement équivalente à celles contenant le gène muté TK30. En effet, la différence entre l'IC50 du gène TK30 par rapport au gène TK était de 1,3 fois ce qui est négligeable lorsque l'on compare cette valeur à celles obtenues dans d'autres études où pour la majorité des lignées cellulaires, la sensibilité du mutant TK30 est de beaucoup supérieure à celle de TK. Toutefois, une exception à cette règle a été relevée par Pantuck et collaborateur où la sensibilité au GCV du mutant TK30 était beaucoup plus faible comparativement à celle du gène sauvage pour un niveau de protéine équivalent dans une lignée de cellules humaines de cancer de la prostate.

Bibliographie

Bibliographie

1. Griffiths.Miller, introduction à l'analyse génétique 2002.
2. Hanahan, D. and R.A. Weinberg, The hallmarks of cancer. *Cell*, 2000. 100 (1): 3. Fedi, P., S.R. Tronick, and S.A. Aaronson, Growth factors , in *Cancer Medicine* , J.F. Holland, et al., Editors. 2000.
3. Kremer, E.J., et al., Canine adenovirus vectors: an alternative for adenovirus-mediated gene transfer. *J Virol*, 2000. 74 (1): p. 505-12.
4. Lukashev, M.E. and Z. Werb, ECM signalling: orchestrating cell behaviour and misbehaviour. *Trends Cell Biol*, 1998. 8..
5. Giancotti, F.G. and E. Ruoslahti, Integrin signaling. *Science*, 1999. 285.
6. Aplin, A.E., et al., Signal transduction and signal modulation by cell adhesion receptors: the role of integrins, cadherins, immunoglobulin-cell adhesion molecules, and selectins. *Pharmacol Rev*, 1998. 50.
7. Fedi, P., S.R. Tronick, and S.A. Aaronson, Growth factors , in *Cancer Medicine* . J.F. Holland, et al., Editors. 2000.
8. Lukashev, M.E. and Z. Werb, ECM signalling: orchestrating cell behaviour and misbehaviour. *Trends Cell Biol*, 1998. 8.
9. Giancotti, F.G. and E. Ruoslahti, Integrin signaling. *Science*, 1999. 285.
10. Aplin, A.E., et al., Signal transduction and signal modulation by cell adhesion receptors: the role of integrins, cadherins, immunoglobulin-cell adhesion molecules, and selectins. *Pharmacol Rev*, 1998. 50.
11. Liu, H., et al., New roles for the RB tumor suppressor protein. *Curr Opin Genet Dev*, 2
12. Evan, G. and T. Littlewood, A matter of life and cell death. *Science*. 1998. 281 (5381).
13. Yang, J., et al., Prevention of apoptosis by Bcl-2: release of cytochrome c from mitochondria blocked. *Science*, 1997. 275.
14. Saretzki, G. and T. Von Zglinicki, Replicative aging, telomeres, and oxidative stress. *Ann N Y Acad Sci*, 2002. 959.
15. Kim, N.W., et al., Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. *Science*, 1994. 266.
16. Nakamura, T.M., J.P. Cooper, and T.R. Cech, Two modes of survival of fission yeast without

17. Gately, S., et al.. The mechanism of cancer-mediated conversion of plasminogen to the angiogenesis inhibitor angiostatin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997. 94.
18. Sporn, M.B.. The war on cancer. *Lancet*, 1996. 347.
19. Christofori, G. and H. Semb. The role of the cell-adhesion molecule E-cadherin as a tumour-suppressor gene. *Trends Biochem Sci*, 1999. 24.
20. Coussens, L.M. and Z. Werb, Matrix metalloproteinases and the development of cancer. *Chem Biol*, 1996. 3.
21. Parkin, D.M., et al., Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. *Int J Cancer*. 2001. 94.
22. Ozbun, M.A. and J.S. Butel, Tumor suppressor p53 mutations and breast cancer: a critical analysis. *Adv Cancer Res*, 1995. 66.
- 23-Marc vasseur , les virus oncogenes , 2001.
24. Schutte, M., et al. ,les types de tumeur,1998.
25. Foley, K.P. and R.N. Eisenman, Two MAD tails: what the recent knockouts of Mad1 and Mxi1 tell us about the MYC/MAX/MAD network. *Biochim Biophys Acta*. 1999. 1423 .
26. -Daniell et Harl et Jones, génétique (les grands principes).2003.
27. Kaufmann, S.H. and M.O. Hengartner, Programmed cell death: alive and well in the new millennium. *Trends Cell Biol*, 2001. 11.
28. Evan, G. and T. Littlewood, A matter of life and cell death. *Science*, 1998. 281 (5381).
29. Yang, J., et al., Prevention of apoptosis by Bcl-2: release of cytochrome c from mitochondria blocked. *Science*, 1997. 275.
30. Saretzki, G. and T. Von Zglinicki, Replicative aging, telomeres. and oxidative stress96. Barnett, B.G., C.J. Crews, and J.T. Douglas, Targeted adenoviral vectors. *Biochim Biophys Acta*, 2002. 1575.
31. Wolff, G., et al., Enhancement of in vivo adenovirus-mediated gene transfer and expression by prior depletion of tissue macrophages in the target organ. *J Virol*. 1997. 71.
32. Tomko, R.P., R. Xu, and L. Philipson, HCAR and MCAR: the human and mouse cellular receptors for subgroup C adenoviruses and group B coxsackieviruses. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1997. 94.

33. Kim, M., et al., The therapeutic efficacy of adenoviral vectors for cancer gene therapy is limited by a low level of primary adenovirus receptors on tumour cells. *Eur J Cancer*. 2002. 38.
34. Stephenson, J., Studies illuminate cause of fatal
35. freingold, génétique humain 1999.
36. Fattovich, G., et al., Occurrence of hepatocellular carcinoma and decompensation in western European patients with cirrhosis type B. The EUROHEP Study Group on Hepatitis B Virus and Cirrhosis. *Hepatology*, 1995. 21.
37. Sun, Z., et al., Increased risk of hepatocellular carcinoma in male hepatitis B surface antigen carriers with chronic hepatitis who have detectable urinary aflatoxin metabolite M1. *Hepatology*, 1999. 30.
38. Llovet, J.M., A. Burroughs, and J. Bruix, Hepatocellular carcinoma. *Lancet*. 2003. 362.
39. Bismuth, H., et al., Liver resection versus transplantation for hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients. *Ann Surg*, 1993. 218.
40. Jonas, S., et al., Vascular invasion and histopathologic grading determine outcome after liver transplantation for hepatocellular carcinoma in cirrhosis. *Hepatology*. 2001. 33.
41. Trotter, J.F., Adult-to-adult Right Hepatic Lobe Living Donor Liver Transplantation. *Curr Treat Options Gastroenterol*, 2002. 5.
42. Vilana, R., et al., Tumor size determines the efficacy of percutaneous ethanol injection for the treatment of small hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. 1992. 16.
43. Sangro, B., M. Herraiz, and J. Prieto, Gene therapy of neoplastic liver diseases. *Int J Biochem Cell Biol*, 2003. 35.
44. Hermiston, T.W. and I. Kuhn, Armed therapeutic viruses: strategies and challenges to arming oncolytic viruses with therapeutic genes. *Cancer Gene Ther*, 2002. 9.
45. Chinnaiyan, A.M., et al., Cytotoxic T-cell-derived granzyme B activates the apoptotic protease ICE-LAP3. *Curr Biol*, 1996. 6.
46. Froelich, C.J., V.M. Dixit, and X. Yang, Lymphocyte granule-mediated apoptosis: matters of viral mimicry and deadly proteases. *Immunol Today*, 1998. 19.
47. Pegg, A.E., et al., Mechanism of inactivation of human O6-alkylguanine-DNA alkyltransferase by O6-benzylguanine. *Biochemistry*, 1993. 32.
48. Crone, T.M., et al., Mutations in human O6-alkylguanine-DNA alkyltransferase imparting resistance to O6-benzylguanine. *Cancer Res*, 1994. 54.

Résumé

La thérapie génique comme d'autres stratégies telles que l'utilisation des anticorps monoclonaux, vise à proposer aux patients un moyen de guérison plus ciblé sur la tumeur sans s'attaquer à la totalité de l'organisme comme c'est le cas avec la chimiothérapie. De plus, nous espérons grâce à cette technique, arriver à guérir des cancers qui aujourd'hui ne peuvent pas l'être (exemple : le cancer du foie).

À l'heure actuelle plusieurs stratégies sont en cours d'essai, on peut ainsi citer : les gènes suicides, les gènes suppresseurs de tumeurs, la lutte contre l'angiogenèse, la lutte contre l'angiogenèse et la thérapie génique immunitaire. Cette liste n'est pas exhaustive il en existe d'autres mais nous ne nous intéresserons qu'à ces cinq techniques que nous avons trouvé spécialement intéressantes.

Summary

Genic therapy like other strategy like the use of monoclonal antibodies aim at proposing to the patients a means of cure more targeted on the tumour without attacking all the organization as it is the case with chemotherapy. Moreover one hopes by this technique to manage to cure cancers which today cannot be to it (example: the cancer of the liver).

At the present time several strategies are in the course of test, one can thus quote: them genes suicides, genes suppressors of tumours, fight it against the angiogenese and immunizing genic therapy. This list is not exhaustive it exists about it the different one but we will be interested only in these five techniques which we found especially interesting.

ملخص

العلاج الجيني كغيره من الاستراتيجيات كاستعمال الأجسام المضادة وحيدة المستعمرة تهدف إلى اقتراح وسيلة علاج للمرضى أكثر استهدافا للورم دون مهاجمة كل الجسم كما هو الحال مع العلاج الكيميائي. علاوة على ذلك يأمل المرء اليوم من هذا الأسلوب لإدارة علاج السرطان (مثلا : سرطان الكبد)

هذا الأخير له في الوقت الحاضر عدة استراتيجيات في طور الاختبار، وهكذا يمكن اقتباس: جينات الانتحار، جينات الانتحار، مثبغات الأورام، جينات ضد الأنجيوجينيك و العلاج الجيني المناعي. هذه القائمة ليست حصريه و إنما هناك تقنيات أخرى ولكن ما يهمنا هو هذه التقنيات الخمس التي وجدناها خاصة الاهتمام.