

l'expérience dans une lignée murine immunodéficiente (lignée *Rag-1*), les auteurs ont obtenu une chronologie d'expression tout à fait comparable à celle des souris immunocompétentes avec, toutefois, un niveau d'expression supérieur. Dans ce cas, l'analyse des foies des souris ayant reçu l'adénovirus de première génération révèle une réponse biphasique débutant par une prolifération hépatocytaire à 3 jours, une morphologie normale à 2 semaines et une atteinte équivalente à celle des souris immunocompétentes à 6 et 12 semaines. Il semble donc qu'un autre mécanisme que la réponse immune cytotoxique puisse rendre compte de l'atteinte hépatique et de la chute de l'expression du transgène au cours du temps par les vecteurs classiques. Il existe certainement au moins un effet cytotoxique direct des protéines virales à la dose injectée de 2.10^{10} pfu, effet dont est en tout cas dépourvu le vecteur à grande capacité qui a, décidé-

ment, toutes les qualités requises : titres produits élevés, faible toxicité, persistance à long terme du transgène qui est alors exprimé sous la dépendance de son promoteur naturel! Néanmoins, la présence estimée à 0,1 % du titre infectieux de virus *helper* dans la préparation du stock adénoviral sera probablement jugée encore trop élevée pour donner à ce type de vecteur le label des vecteurs d'essai clinique.

H.G.

1. Lee MG, Abina MA, Haddada H, Perricaudet M. The constitutive expression of the immunomodulatory gp19k protein in E1-, E3-adenoviral vectors strongly reduces the host cytotoxic T cell response against the vector. *Gene Ther* 1995; 2: 256-62.
2. Sester M, Burgert H. Conserved cysteine residues within the E3/19K protein of adenovirus type 2 are essential for binding to major histocompatibility complex antigens. *J Virol* 1994; 68: 5423-32.
3. Yang Y, Nunes FA, Berencsi K, Gonczol E, Engelhardt JF, Wilson JM. Inactivation of E2A in recombinant adenoviruses improves the prospect

- for gene therapy in cystic fibrosis. *Nat Genet* 1994; 7: 362-9.
4. Engelhardt JF, Ye X, Doranz B, Wilson J. Ablation of E2A in recombinant adenoviruses improves transgene persistence and decreases inflammatory response in mouse liver. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 6196-200.
 5. Armentano D, Sookdeo CC, Hehir KM, Gregory RJ, Saint George JA, Prince GA, Wadsworth SC, Smith AE. Characterization of an adenovirus gene transfer vector containing E4 deletion. *Hum Gene Ther* 1995; 6: 1343-53.
 6. Krougliak V, Graham FL. Development of cell lines capable of complementing E1, E4 and protein IX defective adenovirus type 5 mutants. *Hum Gene Ther* 1995; 6: 1575-86.
 7. Viville S. Recombinaison homologue: nouveaux vecteurs, nouvelles perspectives. *Med Sci* 1995; 11: 735-46.
 8. Parks RJ, Chen L, Anton M, Sankar U, Rudnicki MA, Graham FL. A helper-dependent adenovirus vector system: removal of helper virus by Cre-mediated excision of the viral packaging signal. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 13565-70.
 9. Schiedner G, Morral N, Parks RJ, Wu Y, Koopmans SC, Langston C, Graham FL, Beaudet AL, Kochanek S. Genomic DNA transfer with a high-capacity adenovirus vector results in improved *in vivo* gene expression and decreased toxicity. *Nat Genet* 1998; 18: 180-3.

■■■ BRÈVES ■■■

■■■ **Les progrès dans la libération prolongée de protéines en thérapeutique.** De nombreuses protéines font actuellement partie de l'arsenal pharmacologique : anticorps monoclonaux, facteurs de croissance, cytokines, récepteurs d'hormones... Et ce nombre ne peut que croître avec le développement des connaissances physiopathologiques. Or, en thérapeutique, l'administration de protéines pose un problème difficile. Elles ne sont, souvent, assimilables ni par voie digestive, ni par voie transdermique. La perfusion, justifiée pour un usage épisodique, est une astreinte non acceptée de façon régulière; des injections répétées sont également astreignantes; la destruction rapide dans l'organisme de produits dont la demi-vie est brève *in vivo*, et qui sont souvent chimiquement instables, exige en outre une dose cumulative trop élevée, avec des pics potentiellement toxiques. C'est dire l'intérêt que présenteraient des méthodes de libération prolongée, dont des chercheurs américains,

appartenant aux groupes Alkermes et Amgen, rapportent les développements [1]. Le problème est toujours de maintenir l'intégrité de la protéine pendant son encapsulation dans les co-polymères biodégradables, pendant son stockage, et après son administration. Une série de procédés sont en cours de réalisation. Plutôt que par des systèmes d'émulsion, la meilleure intégrité de la protéine semble atteinte en milieu solide anhydre, après atomisation et lyophilisation. A la libération, la stabilité semble liée au maintien du pH aux environs de 6, pendant la dégradation du polymère et même avant la lyophilisation pour éviter l'agrégation de la protéine et respecter sa stéréochimie. Des traces de Cu^{2+} , d'antioxydants, de chélateurs seraient protectrices. Quels sont les avantages de ces techniques difficiles, et encore en cours d'élaboration? Des essais faits sur le singe rhésus avec des protéines déjà utilisées en thérapeutique, interféron et hormone de croissance, en montrent au moins

deux. Elles permettent, par injection mensuelle et non plus quotidienne, le maintien permanent de la concentration dans la fenêtre thérapeutique, ni trop, ni trop peu. Mais elles permettent aussi une réduction de la dose cumulative d'environ quatre fois: on le vérifie, par exemple, dans le cas de l'hormone de croissance, en mesurant les quantités qui maintiennent l'IGF-1 (*insulin-like growth factor-1*) au taux désiré de 5ng/ml [2]. L'intérêt est donc évident quand il s'agit de produits potentiellement toxiques, et/ou extrêmement coûteux. Ces techniques, qui miment la libération naturelle, seraient particulièrement utiles quand la demi-vie d'un produit est très courte, qu'il présente une toxicité systémique, ou qu'il est difficile de le diriger vers sa cible, surtout si une administration *per os* s'avérait efficace.

- [1. Putney SD, Burke PA. *Nat Biotechnol* 1998; 16: 153-7.]
 [2. Johnson OFL, et al. *Nat Med* 1996; 2: 795-9.]