

# LES FACTEURS NEUROTROPHIQUES ET LEURS APPLICATIONS THÉRAPEUTIQUES POTENTIELLES

**Bruno Heyd**  
**Patrick Aebischer**

Ces dernières années ont vu la purification et la caractérisation physiologique de plusieurs nouveaux facteurs de croissance neurologiques, débouchant sur des applications thérapeutiques humaines qui ouvrent ainsi une nouvelle ère dans la prise en charge des affections neurologiques.

## Les facteurs neurotrophiques

Les facteurs neurotrophiques sont des facteurs de croissance actifs sur les neurones ou les cellules gliales dont ils règlent la croissance, la prolifération et la différenciation. Certains sont spécifiques de populations neuronales particulières alors que d'autres agissent également sur les populations cellulaires non neuronales du système nerveux central [1]. Leurs principaux rôles physiologiques s'exercent à plusieurs niveaux : la croissance neuronale normale, le maintien des capacités de stimulation ou de réponse des neurones et, probablement, l'inhibition de l'apoptose ou mort cellulaire programmée. Ces facteurs neurotrophiques contrôlent le développement du système nerveux et sont également essentiels au maintien des fonctions cérébrales nerveuses ainsi qu'aux phénomènes de plasticité adaptative qui, quoique diminués, persistent chez l'adulte.

Le premier facteur neurotrophique a été mis en évidence dans les années 1950 et a valu à Rita Levi-Montalcini et Stanley Cohen le prix Nobel pour la découverte du NGF (*nerve growth factor*) (*m/s n° 9 vol. 2, p. 529*). Ces chercheurs ont montré que le NGF améliorait la survie de certaines populations neuronales et permettait l'expansion de neurites et leurs connexions avec leurs cibles [2].

De nombreux neurones échappent cependant à l'action de ce premier facteur neurotrophique, ce qui a fait postuler l'existence d'autres facteurs. Ce n'est, en fait, qu'au cours de cette dernière décennie que de nouveaux facteurs neurotrophiques ont été découverts, caractérisés par leurs populations neuronales cibles et leur appartenance à diverses superfamilles moléculaires (*m/s n° 7, vol. 6, p. 700*) (*Tableau I*). D'autres facteurs, tels que l'IGF (*insulin-like growth factor*), le FGF (*fibroblast growth factor*) ou le BMP-7 (*bone morphogenic protein 7*), décrits comme facteurs de croissance pour d'autres tissus, possèdent également des propriétés neurotrophiques.

Les effets biologiques de ces facteurs se font par liaison extrêmement spécifique à des récepteurs présents à la surface des cellules cibles. Les récepteurs spécifiques des neurotrophines font partie de la famille des récepteurs de type tyrosine kinase (TRK) communs à d'autres facteurs de croissance [3]. Les trois TRK à forte

## ADRESSES

B. Heyd : *praticien hospitalo-universitaire*. Service de chirurgie viscérale et vasculaire, CHU Jean-Minjoz, 25000 Besançon, France. P. Aebischer : *professeur de l'Université, médecin chef du centre de thérapie génique et de la division de recherche chirurgicale*. Centre de thérapie génique, Pavillon 4, CHU Vaudois, 1011 Lausanne Suisse.

Tableau I  
CLASSIFICATION PAR FAMILLES  
DES PRINCIPAUX FACTEURS NEUROTROPHIQUES

Famille	Facteur neurotrophique	Récepteur	Applications potentielles
Neurotrophines	<i>Nerve growth factor</i> NGF	TRK A	Neurones cholinergiques Ganglions dorsaux Neurones sensitifs Motoneurones
	<i>Brain-derived-neurotrophic factor</i> BDNF	TRK B	Motoneurones Neurones sensitifs Motoneurones
	<i>Neurotrophin 3</i> NT-3	TRK A, B, C	
	<i>Neurotrophin 4/5</i> NT-4/5	TRK B	
Cytokines neuropoïétiques	<i>Ciliary neurotrophic factor</i> CNTF	GP130/LIFRβ/CNTFRα	Motoneurones Neurones GABAergiques, striatum Motoneurones
	<i>Leukemia inhibitory factor</i> LIF	GP130/LIFRβ	Motoneurones
	<i>Cardiotrophin 1</i> CT-1	?	
<i>Insulin-like growth factor</i> IGF	IGF-1		Motoneurones Neurones sensitifs
<i>Transforming growth factor</i> β	<i>Glial-cell-derived neurotrophic factor</i> GDNF	?	Neurones dopaminergiques Motoneurones

affinité pour les neurotrophines sont spécifiquement localisés au niveau du système nerveux central [4]. L'hybridation *in situ* a conduit à une cartographie précise de la répartition des récepteurs, permettant d'affiner ainsi la définition des populations neuronales cibles. Parallèlement, il existe des récepteurs de faible affinité répartis dans de nombreux tissus systémiques tel que le p75<sup>LNGFR</sup> pour la famille des neurotrophines. Les facteurs neurotrophiques sont sécrétés par les neurones, leurs territoires d'innervation ou par les cellules extraneuronales. Ils ont une sécrétion apocrine et autocrine et les polypeptides sont transportés par voie rétrograde axonale jusqu'au corps cellulaire. Le niveau de sécrétion maintient ainsi une ambiance physiologique adéquate autour du neurone. Une baisse de la concentration empêche le développement normal et explique l'apoptose physiologique pendant la période néonatale. Les propriétés des facteurs neurotrophiques ont été initialement étudiées *in vitro* sur culture neuronale. Leurs puissantes efficacités ont été démontrées sur de nombreux modèles *in vivo*, notamment d'axotomie. Le développement d'animaux chez lesquels

on a invalidé le gène codant pour un facteur neurotrophique ou son récepteur (*knock-out*) a permis de préciser leurs effets physiologiques au cours de la maturation embryonnaire du système nerveux central et de la vie adulte de l'animal [5, 6]. Ainsi, pour le CNTF (*ciliary neurotrophic factor*), le développement initial de l'animal est peu affecté mais des atteintes neuromusculaires sont observées à l'âge adulte (*m/s n°11, vol. 9, p. 1269*). Ces constatations suggèrent que la sécrétion du CNTF chez l'adulte pourrait être induite dans certaines conditions, évitant l'apparition de lésions.

### **Bases théoriques de l'application thérapeutique** [7, 8]

Les puissantes propriétés des différents facteurs neurotrophiques ont rapidement conduit différentes équipes à vouloir utiliser ces facteurs en thérapeutique humaine [9]. On connaît actuellement peu de choses sur la physiopathologie de la plupart des maladies neurologiques et plus particulièrement des affections neuro-dégénératives. Il s'agit d'un domaine extrêmement vaste pour lequel peu de traitements sont actuellement

disponibles. Aucune de ces atteintes n'a pu être rattachée jusqu'à présent au déficit d'un facteur de croissance neurotrophique spécifique et n'est donc pas directement accessible à une thérapeutique substitutive. Néanmoins, trois mécanismes peuvent être en cause et plaideraient pour une utilisation thérapeutique des facteurs neurotrophiques. Premièrement, les atteintes peuvent être directement ou indirectement liées à un facteur neurotrophique. Deuxièmement, une diminution des récepteurs au niveau des neurones pourrait rendre inefficace la transmission intercellulaire des influx. En troisième lieu, la maladie est possiblement liée à la diminution d'un substrat ou du métabolisme sensible à l'action d'un facteur neurotrophique. Pour le premier cas, la substitution physiologique en facteur neurotrophique peut être thérapeutique. Dans les deux autres conditions hypothétiques, une posologie plus importante pourrait, soit augmenter le nombre de récepteurs stimulables, soit induire des changements métaboliques améliorant la viabilité neuronale. Le potentiel thérapeutique d'un facteur neurotrophique est difficile à apprécier à partir d'un modèle animal qui ne

reproduit que les atteintes majeures sans être un équivalent pathogénique. Ces différences entraînent des réponses thérapeutiques incertaines et représentent une des difficultés principales pour extrapoler à l'homme l'efficacité d'un facteur neurotrophique observée dans ces modèles animaux. Le champ d'application potentiel des facteurs neurotrophiques est cependant très large (Tableau II). Il faut souligner la rapidité de l'application à la clinique des découvertes des propriétés de ces facteurs de croissance, expliquée en partie par l'importance des retombées économiques. Par exemple, la sclérose latérale amyotrophique touche 70 000 personnes dans le monde avec un marché estimé à 450 millions de dollars rien que pour les États-Unis.

### La sclérose latérale amyotrophique : un exemple type

La sclérose latérale amyotrophique (SLA) ou maladie de Charcot se caractérise par une dégénérescence progressive des motoneurons du cortex, du tronc cérébral et de la moelle épinière. Cette atteinte conduit à une dénervation musculaire avec évolution inéluctable vers la mort en quelques années. Le CNTF, le BDNF (*brain-derived neurotrophic factor*), l'IGF-1, la NT-3 (neurotrophine), la NT-4/5 et le GDNF (*glial cell-derived neurotrophic factor*) remplissent toutes les conditions pour être considérés comme facteurs neurotrophiques des motoneurons [10]. Notamment, leur efficacité est clairement établie sur des modèles animaux de SLA tels que la souris mutante *Wobbler* (*m/s n° 12, vol. 10, p. 1324*) ou la souris *pnn* (*progressive motor neuropathy*) pour lesquels, par exemple, l'administration sous-cutanée est associée à une prolongation de la survie et une amélioration du comportement moteur (*m/s n° 7, vol. 8, p. 744*).

Ces résultats très prometteurs ont rapidement débouché sur les premiers essais chez l'homme. *Regeneron Inc.*, une société de biotechnologie américaine, en utilisant le CNTF dans un essai en double aveugle de phase II/III sur 700 patients, a mis en évidence un important pourcentage

*m/s n° 3, vol. 12, mars 96*

Maladie	Facteurs neurotrophiques	Compagnie biotechnologique
Sclérose latérale amyotrophique	CNTF	CytoTherapeutics Synergen/Syntex Regeneron
	IGF-1 BDNF	Cephalon Amgen/Regeneron
Maladie d'Alzheimer	NGF	Karolinska Institute
Maladie de Parkinson	GDNF	Amgen*
Neuropathie périphérique - neuropathie diabétique - neuropathie au taxol et au cisplatine	NGF NT-3 IGF-1	Genentech Regeneron Cephalon

*Amgen Thousand Oaks, CA, USA ; Cephalon West Chester, PA, USA ; Cyto Therapeutics Inc, Providence, RI, USA ; Genentech South San Francisco, CA USA ; Karolinska Institute, Sweden ; Regeneron Pharmaceuticals Inc., Tarrytown, NY, USA ; Synergen Boulder, CO, USA ; Syntex, Palo Alto, CA, USA.*

\* Essai devant débiter sous peu.

d'effets secondaires majeurs rendant difficile l'appréciation d'un éventuel bénéfice thérapeutique. Le CNTF était administré à différentes doses, par voie sous-cutanée, trois fois par semaine. L'importance des effets secondaires a nécessité l'arrêt du traitement (*m/s n° 7, vol. 8, p. 744*). L'étude conjointe des compagnies Syntex et Synergen avec du CNTF par voie systémique a également été arrêtée en février 1994 du fait de l'absence d'efficacité ainsi que d'effets secondaires importants. La deuxième étude majeure en double aveugle a montré une réduction de 20 % de l'aggravation après 9 mois de traitement par IGF-1 recombinante humaine (Myotrophin®) à la dose de 0,1mg par kg et par jour par voie sous cutanée avec peu d'effets secondaires (*Cephalon Inc.*). Une étude européenne sur 183 cas traités par Myotrophin® a conduit aux mêmes résultats. S'appuyant sur des résultats de phase I/II prometteurs sur 283 patients, les sociétés Amgen et Regeneron ont débuté fin 1995 une étude conjointe de phases II/III consistant en l'administration systémique de BDNF.

Au vu de ces résultats, le mode et la voie d'administration de ces facteurs neurotrophiques doivent être réévalués. L'administration continue d'un facteur neurotrophique représenterait

la solution théorique idéale du fait de la brève durée de vie de ces polypeptides. En pratique, elle est cependant difficilement réalisable. L'existence de la barrière hémato-encéphalique rend impossible tout passage protéique directement dans le système nerveux central à partir d'une injection systémique. Pour les motoneurons périphériques, le facteur neurotrophique peut cependant être capté au niveau des terminaisons nerveuses périphériques et transporté par voie rétrograde vers les corps cellulaires. Malheureusement, l'administration systémique entraîne l'activation des récepteurs périphériques tels que le p75<sup>LNGFR</sup> pour les neurotrophines ou le CNTFR $\alpha$  pour le CNTF, ce qui explique très probablement l'apparition des effets secondaires. L'administration intrathécale éviterait l'activation de ces récepteurs périphériques et le facteur neurotrophique serait alors directement au contact des cellules cibles et de leurs récepteurs par le biais d'une diffusion à partir du liquide céphalo-rachidien. Sur ces principes, notre équipe, en collaboration avec *CytoTherapeutics Inc* [11], a développé un système hybride sous la forme d'une fibre creuse synthétique,ensemencée par une lignée cellulaire xénogénique préalablement modifiée par génie génétique pour sécréter le CNTF recombinant. Ces cel-

lules sont protégées du système immunitaire par une membrane à perméabilité sélective. La sécurité du système est assurée à trois niveaux : la capsule peut être retirée facilement à tout instant, l'utilisation de cellules xénogéniques permet la destruction cellulaire immédiate par le système immunitaire du patient en cas d'effraction de la membrane et, de plus, ces cellules sont porteuses d'un gène suicide (*thymidine kinase*) qui peut être activé par la prise *per os* de ganciclovir. La capsule est implantée au niveau lombaire dans le LCR et se comporte comme une pompe biologique délivrant du CNTF en continu. Un essai de phase I d'évaluation clinique actuellement en cours permettra de valider le concept [12]. Le système nerveux périphérique est un autre champ d'application de ces facteurs neurotrophiques pour la prévention de la dégénérescence des neurones sensitifs ou moteurs. Le NGF est en cours d'expérimentation dans la prise en charge des neuropathies diabétiques afin de prévenir les acropathies mutilantes. L'IGF-1, le NT-3 et le NGF ont prouvé, sur des modèles animaux, leur efficacité dans la prévention et le traitement des neuropathies induites par certaines chimiothérapies, notamment le taxol ou le cisplatine. Des essais thérapeutiques de phases II et III sont en cours.

Au niveau des structures encéphaliques, les maladies d'Alzheimer, de Huntington et de Parkinson sont liées à la mort neuronale de populations spécifiques. Ces cellules sont sensibles à différents facteurs neurotrophiques et, notamment, au NGF pour la maladie d'Alzheimer (*m/s n° 1 vol. 8, p. 85*), au NGF et au CNTF pour la maladie de Huntington et au GDNF pour la maladie de Parkinson (*m/s n° 3, vol. 11, p. 480*).

### Problèmes liés à l'administration des facteurs neurotrophiques

La validation de l'efficacité thérapeutique des facteurs neurotrophiques bute sur le problème de la voie d'administration [13]. Outre la transplantation de cellules autologues génétiquement modifiées ou de cellules hétérologues immunoprotégées, d'autres stratégies sont à l'étude.

Citons l'utilisation de pompes à perfusion continue rechargeables reliées par cathéter à la zone cible, ou l'implantation dans le système nerveux de polymères à résorption lente diffusant le facteur neurotrophique. Des molécules de transport lipophiles pourraient jouer le rôle de facteurs de perméation de la barrière hémato-encéphalique, permettant une pénétration cérébrale du facteur de croissance après administration par voie systémique. La société Alkermes, quant à elle, utilise comme facteur de perméation un anticorps reconnaissant le récepteur de la transferrine [14]. Chez le rat, le complexe NGF-anti-transferrine permet la survie des interneurons cholinergiques du striatum, les cellules qui dégénèrent dans la maladie de Huntington. La thérapie génique *in situ* constitue, enfin, une autre possibilité. Le transfert de gène utilise des adénovirus ou des virus modifiés de l'herpes (*m/s n° 2, vol. 9, p. 236*), soit directement au niveau de la zone cible, soit par diffusion rétrograde à partir d'une zone de projection des structures cérébrales lésées (*m/s n° 6, vol. 11, p. 906*).

Le champ d'application des facteurs neurotrophiques est actuellement en pleine expansion avec l'appréciation des caractéristiques de ces différentes molécules. Le GDNF est encore très imparfaitement connu mais semble avoir un potentiel particulièrement intéressant pour la maladie de Parkinson. Par ailleurs, l'utilisation de plusieurs facteurs neurotrophiques a mis en évidence une action synergique extrêmement puissante [15]. Ces constatations devraient faire envisager rapidement l'utilisation combinée en thérapeutique chez l'homme. En outre, la société Regeneron met au point une pan-neurotrophine-1 consistant en un polypeptide chimérique contenant les domaines actifs de NGF, BDNF et NT-3 pouvant ainsi se lier aux récepteurs TRK A, B, C et p75<sup>LNGFR</sup> et avoir une action trophique plus puissante et plus large [3, 16]. Quoique des problèmes de tolérance immunologique à un tel polypeptide synthétique puissent être prévus, il s'agit d'un premier pas vers le développement de molécules aux propriétés analogues à celles des facteurs neuro-

trophiques. Ces molécules devront dépasser les limites des facteurs neurotrophiques naturels que sont leur demi-vie courte, l'impossibilité de l'administration orale, les effets secondaires majeurs et l'imperméabilité de la barrière hémato-encéphalique ■

### RÉFÉRENCES

1. Barde B. Tropic factors and neuronal survival. *Neuron* 1989 ; 2 : 1525-34.
2. Levi-Montalcini R. The nerve growth factor 35 years later. *Science* 1987 ; 237 : 1154-62.
3. Lamballe F. Les récepteurs tyrosine kinases Trk : récepteurs de forte affinité des neurotrophines. *médecine/sciences* 1995 ; 11 : 1071-80.
4. Glass DJ, Yancopoulos GD. The neurotrophins and their receptor. *Trends Cell Biol* 1993 ; 3 : 262-7.
5. Snider WD. Functions of the neurotrophins during nervous system development : what the knockouts are teaching us. *Cell* 1994 ; 77 : 627-38.
6. Onténiente B. Mieux comprendre le rôle des neurotrophines dans le système nerveux grâce à l'inactivation génique. *médecine/sciences* 1995 ; 11 : 1141-3.
7. Lindsay MR, Wiegand SJ, Altar CA, Di Stephano PS. Neurotrophic factors: from molecule to human. *Trends Neurosci* 1994 ; 17 : 182-189.
8. Barinaga M. Neurotrophic factors enter the clinic. *Science* 1994 ; 264 : 772-4.
9. Walsh G. Nervous excitement over neurotrophic factors. *Bio/Technology* 1995 ; 13 : 1167-71.
10. Henderson C. L'avenir thérapeutique des facteurs neurotrophiques dans les maladies neuro-dégénératives. *médecine/sciences* 1995 ; 11 : 1067-9.
11. Aebischer P, Kato AC. Treatment of amyotrophic lateral sclerosis using a gene therapy approach. *Eur Neurol* 1995 ; 35 : 65-8.
12. Aebischer P, Schluemp M, Déglon N, Joseph JM, Hirt L, Heyd B, Goddard M, Hammang JP, Zurn AD, Kato AC, Regli F, Beatge EE. Intrathecal delivery of ciliary neurotrophic factor in patients suffering from amyotrophic lateral sclerosis by encapsulated genetically engineered xenogenic cells. *Nature Med* 1996 (sous presse).
13. Tan S, Aebischer P. The problems of delivering neuroactive molecules to the CNS. *Growth factors as drug for neurological and sensory disorders*. Chichester : Wiley (Ciba Fondation Symposium Book) : 211-39.
14. Kordower JH, Charles V, Bayer R, Bartus RT, Putney S, Walus LR, Friden PM. Intravenous administration of a transferrin receptor antibody-nerve growth factor conjugate prevents the degeneration of cholinergic striatal neurons in a model of Huntington disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994 ; 91 : 10898-9092.
15. Mitsumoto H, Ikeda K, Klinkosz B, Cedarbaum JM, Wong V, Lindsay RM. Arrest of motor neuron disease in *wobbler* mouse cotreated with CNTF and BDNF. *Science* 1994 ; 265 : 1107-10.
16. Ilag L. Pan neurotrophin 1 : A genetically engineered neurotrophic factor display multiple specificity in peripheral neuron *in vitro* and *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995 ; 92 : 607-11.

### TIRÉS À PART

P. Aebischer.