

## Thérapie génique d'une épidermolyse bulleuse jonctionnelle

Axel Kahn

 Institut Cochin, IFR Alfred Jost,  
 22, rue Méchain, 7514 Paris, France.  
[kahn@cochin.inserm.fr](mailto:kahn@cochin.inserm.fr)

> Les épidermolyses bulleuses sont des génodermatoses liées à la mutation de plusieurs types possibles de gènes dont les produits sont indispensables au maintien de la solidarité entre le derme et l'épiderme. Selon le niveau où survient le clivage dans la zone de jonction dermo-épidermique, on parle de formes intra-épidermiques, jonctionnelles et dermolytiques ou dystrophiques. Dans les formes jonctionnelles, le décollement intervient au niveau de la *pars lucida* de la membrane basale. La symptomatologie des épidermolyses bulleuses jonctionnelles est en pratique toujours sévère. Les bulles cutanées, disséminées, sont observées dès la naissance, souvent associées à des vastes décollements cutanés et muqueux. La cicatrisation des lésions est difficile, lente, de mauvaise qualité. Il existe très souvent des surinfections cutanées pouvant évoluer vers la formation de croutes purulentes. La maladie peut être létale dans les six premiers mois, ou bien être compatible avec une survie prolongée, alors toujours compliquée de délabrements cutanés récidivants. La transmission de ces maladies est autosomique récessive. Parmi les gènes impliqués, on trouve ceux codant les trois branches ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) de la laminine 5, un constituant de la membrane basale.

Les premiers essais de correction *ex vivo* du défaut caractéristique des épidermolyses bulleuses jonctionnelles par transfection ou transduction d'un transgène thérapeutique datent de 1996 [1-5]. Ces

études ont toutes démontré qu'il était possible par transfert de gènes d'améliorer les propriétés d'adhérence cellulaire et l'efficacité de formations des colonies des kératinocytes de patients. C'est maintenant un premier essai clinique qui vient d'être décrit par une équipe italienne associant différents laboratoires et dirigée par Fulvio Mavilio, Graziella Pellegrini et Michele De Luca, de Modane et Venise [6]. Cette étude a été financée par l'Association Française de Lutte contre les Myopathies. Le malade chez lequel l'essai a été réalisé a 36 ans et est hétérozygote composé pour un allèle nul et une mutation ponctuelle du gène *LAMB3* codant la branche  $\beta 3$  de la laminine 5. Comme cela est habituel, les premiers signes cliniques sont apparus dès la naissance, ils sont caractérisés par des bulles cutanées qui se développent de manière spontanée ou après des lésions minimes, souvent compliquées d'infections. Le corps de cet homme est couvert de lésions bulleuses extensives, de croutes infectées séparées simplement par quelques zones plus modérément atteintes. La première difficulté à résoudre fut de prélever chez ce patient des kératinocytes susceptibles de croître et de se diviser en culture. En effet, seule une sous-population des kératinocytes est dotée des propriétés d'auto-renouvellement caractéristiques des cellules souches et requises pour promouvoir une culture à long terme de ces cellules, ou holoclones [7]. Or, du fait des lésions cutanées et de la stimulation d'une régénération intense, la

peau du malade semblait globalement déplétée en de tels progéniteurs. En fait, seules des biopsies de la paume de la main (1,5 cm<sup>2</sup>) se révélèrent contenir une proportion d'holoclones et permirent de ce fait d'établir la culture et d'amplifier la population.

Ces kératinocytes furent transduits à l'aide d'un vecteur viral dérivé du virus de la leucémie de Moloney dans lequel un ADN complémentaire complet été placé sous le contrôle du LTR (*long terminal repeat*). Une moyenne de deux séquences rétrovirales s'intégra dans pratiquement 100 % des cellules clonogéniques. Une concentration pratiquement normale du messager de la laminine  $\beta 3$ , et de la protéine elle-même, fut détectée dans les kératinocytes transduits. L'expression du transgène persista également à un niveau constant tout au long de la culture cellulaire.

Le malade subit alors sous anesthésie locale une ablation de l'épiderme pathologique de la région antéro-supérieure des deux jambes, remplacé par des greffons de feuilletts kératinocytaires d'une surface de 55 cm<sup>2</sup>. Un total de neuf greffons permit ainsi de couvrir environ 500 cm<sup>2</sup> sur les deux jambes. La prise de la greffe fut parfaite, aboutissant à la formation d'un épiderme d'aspect normal un an après l'intervention.

Compte tenu des observations de transformation maligne chez trois des jeunes malades atteints d'immunodéficience combinée et traités par thérapie génique en France [8, 9], les auteurs s'efforcè-



rent de détecter des stigmates d'évolution clonale des greffons génétiquement modifiés. En fait, l'étude des sites d'intégration des rétrovirus recombinants apportait la preuve de la nature polyclonale de la population corrigée puisqu'une moyenne de trente événements indépendants d'intégration était observée par 0,1 cm<sup>2</sup>, et paraissait stable au cours du temps. Ce premier essai s'avère, de la sorte, positif. Compte tenu de l'étendue des lésions chez le malade, il sera nécessaire de multiplier les greffes afin de recouvrir, progressivement, l'essentiel de la surface corporelle. Les auteurs pourront alors, soit procéder comme indiqué ci-dessus, soit, plus vraisemblablement, partir de biopsies de la région corrigée. Toute forme confondue, les épidermolyses bulleuses affectent environ 500 000 personnes à travers le monde. Il va de soi que

la lourdeur de l'opération décrite par les équipes italiennes ne fait pas de ce protocole thérapeutique une méthode simple permettant d'envisager une application de masse. Il n'empêche, sous réserve d'une observation à long terme des malades traités, il s'agit là de données extrêmement encourageantes pour une affection dont la réalité pathologique et le vécu psychologique sont effroyables. ♦

### Gene therapy of junctional epidermolysis bullosa

#### RÉFÉRENCES

1. Dellambra E, Vailly J, Pellegrini G, et al. Corrective transduction of human epidermal stem cells in laminin-5-dependant junctional epidermolysis bullosa. *Hum Gene Ther* 1998 ; 9 : 1359-70.
2. Gagnoux-Palacios L, Vailly J, Durand-Clement, et al. Functional reexpression of laminin 5 in laminin gamma2-deficient human keratinocytes modifies cell morphology, motility and adhesion. *J Biol Cell* 1996 ; 271 : 18437-44.
3. Robbins PB, Lin Q, Goodnouch JB, et al. *In vivo* restoration of laminin5 beta3 expression and function in junctional epidermolysis bullosa. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001 ; 98 : 5193-8.
4. Seitz CS, Giudice GJ, Balding SD, et al. BP180 gene delivery in junctional epidermolysis bullosa. *Gene Ther* 1999 ; 6 : 42-7.
5. Vailly J, Gagnoux-Palacios L, Dellambra E, et al. Corrective gene transfer of keratinocytes from patients with junctional epidermolysis bullosa restores assembly of hemidesmosomes in reconstructed epithelia. *Gene Ther* 1998 ; 5 : 1522-32.
6. Mavilio F, Pellegrini G, Ferrari S, et al. Correction of junctional epidermolysis bullosa by transplantation of genetically modified epidermal stem cells. *Nat Med* 2006 ; 12 : 1397-402.
7. Barrandon Y, Green H. Stem cells of the skin epithelium. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987 ; 84 : 2362-6.
8. Hacein-Bey-Abina S, Von Kalle C, Schmidt M, et al. LM02-associated clonal T cell proliferation in two patients after gene therapy for SCLD-X1. *Science* 2003 ; 302 : 415-9.
9. Fischer A, Hacein-Bey-Abina S, Cavazzana-Calvo M. Thérapie génique du déficit immunitaire combiné sévère lié à l'X. *Med Sci (Paris)* 2004 ; 20 : 115-7.

#### TIRÉS À PART

A. Kahn

# NEUROENDOSCOPY

4th World Conference of the International Study Group of Neuroendoscopy (ISGNE)  
Second World Congress For Endoscopic Surgery of the Brain, Skull Base and Spine

## 2007

PARIS-VERSAILLES 9-12 MAY



**Congrès:** NEUROENDOSCOPY 2007

**Dates:** 9 - 12 MAI 2007

**Lieu:** Paris, Versailles, FRANCE

*Secrétariat du congrès:*

**NEUROENDOSCOPY 2007 c/o MCI France**  
 24 rue Chauchat - 75009 Paris - FRANCE  
*Téléphone:* +33 (1) 53 85 82 53 - *Fax:* +33 (1) 53 85 82 83  
*Email:* [neuroendo2007info@mci-group.com](mailto:neuroendo2007info@mci-group.com)

*Thèmes:*

- hydrocéphales
- tumeurs ventriculaires
- l'approche Endoscopique de base de crâne

[www.neuroendoscopy2007.com](http://www.neuroendoscopy2007.com)