

PREVENT, le premier essai de thérapie génique randomisé dans le traitement des maladies artérielles

médecine/sciences s'est fait récemment l'écho des interrogations et des espoirs suscités par la possibilité d'utiliser la thérapie génique dans le traitement des maladies cardiovasculaires [1]. Les premiers résultats de l'étude clinique PREVENT (*project of ex vivo vein graft engineering via transfection*), publiés par le groupe de Victor Dzau dans *The Lancet*, suggèrent qu'une thérapie génique *ex vivo* permettrait de diminuer le taux d'échec des pontages veineux fémoro-poplités à haut risque de thrombose [2]. Il s'agit de la première étude clinique, avec randomisation et en double insu, qui démontre une efficacité de la thérapie génique dans le traitement des maladies vasculaires. PREVENT est un exemple d'articulation entre la clinique, la modélisation expérimentale et la biologie, et donne à la thérapie génique un crédit qui lui était nécessaire dans ce domaine.

La technique du pontage veineux fémoro-poplité, décrite par Kunlin en 1948, est le traitement chirurgical de référence des lésions athéroscléreuses des artères des membres inférieurs, mais les résultats de cette chirurgie n'ont guère progressé. Le taux cumulé de thrombose à cinq ans est toujours de 30 % à 40 %. Les greffons veineux utilisés lors des pontages sont soumis à de nouvelles contraintes hémodynamiques de type artériel et s'adaptent à celles-ci par un épaississement progressif de leur paroi, dû à une accumulation de cellules musculaires lisses (CML) sur le versant luminal (hyperplasie intimale). Le risque majeur est l'obstruction du pontage, notamment lorsque des lésions d'athérosclérose se greffent secondairement sur cette hyperplasie inti-

male. On peut modéliser chez l'animal l'adaptation de la paroi veineuse aux contraintes hémodynamiques artérielles en implantant un segment veineux autologue dans le système artériel [3]. On observe alors une augmentation de l'épaisseur de la paroi, secondaire à la fois à une hyperplasie intimale et à une hypertrophie de la média [3, 4]. Si les animaux sont soumis à un régime riche en cholestérol, des lésions d'athérosclérose se développent, comme dans les pontages veineux réalisés chez l'homme, électivement dans l'intima [5]. L'hyperplasie intimale peut être limitée par la mise en place d'un support externe rigide autour du greffon. Par cet artifice, les lésions d'athérosclérose sont fortement réduites [6]. Ces données expérimentales suggèrent qu'une inhibition locale de la prolifération cellulaire permettrait de diminuer l'hyperplasie intimale du greffon veineux et, par conséquent, limiterait l'apparition des lésions d'athérosclérose et le risque de thrombose.

L'originalité du travail qui a conduit à la phase d'essai clinique tient à plusieurs points. Une approche *in vivo* méthodique a permis de déterminer à quels niveaux du cycle de division cellulaire l'intervention permet de diminuer efficacement le développement de l'hyperplasie intimale. Les modèles expérimentaux ont été la lésion par ballonnet de l'artère carotide et la greffe veineuse, suivies immédiatement d'un traitement local modifiant l'expression ou la fonction de gènes contrôlant l'entrée dans le cycle cellulaire. Ainsi, l'inhibition de l'expression de la CDK2 (*cyclin dependent kinase-2*) impliquée dans la transition G1/S, diminue l'hyperplasie de

65 % [7]. L'inhibition simultanée de l'expression de plusieurs gènes étant apparue plus efficace [7], la stratégie choisie a été de neutraliser le facteur de transcription E2F. Celui-ci induit en effet la transactivation de gènes, comme ceux codant pour PCNA (*proliferating nuclear cell antigen*), *c-myb*, *c-myc* et *cdc2*, qui sont impliqués dans le contrôle du cycle cellulaire et de la prolifération cellulaire [8]. La neutralisation de E2F a été obtenue en utilisant des oligodésoxynucléotides (ODN) double brins de séquence identique à la séquence consensus reconnue par le facteur E2F qui, piégé par ce « leurre », ne se fixe plus sur ses gènes cibles. L'efficacité de ce traitement a été démontrée aussi bien *in vitro*, par une diminution de 50 % de l'index mitotique des CML, qu'*in vivo* par la diminution d'un facteur trois du rapport des surfaces des régions néo-intimales *versus* média des parois des vaisseaux.

Toutefois, le risque d'un traitement visant à diminuer l'hyperplasie intimale est de limiter également les capacités d'adaptation du greffon aux nouvelles contraintes hémodynamiques de type artériel. La seconde contribution du groupe de V. Dzau a été de montrer que la disparition presque complète de l'hyperplasie intimale par neutralisation de E2F se fait au profit d'une hypertrophie de la média [9]. *In fine*, l'épaisseur totale de la paroi veineuse n'est pas modifiée et sa résistance à la contrainte radiale n'est pas altérée. De plus, avec une hyperplasie intimale diminuée, la greffe veineuse est moins sensible à l'athérosclérose si les animaux sont soumis à un régime riche en cholestérol [9].

La troisième contribution du groupe de V. Dzau a été de démontrer que

les modalités d'adaptation du greffon, particulièrement la participation plus ou moins importante de l'hyperplasie intimale ou de l'hypertrophie de la média, sont déterminées de manière précoce, dans les premiers jours suivant son implantation. En effet, les ODN disparaissent de la greffe veineuse deux semaines après leur injection. Ces résultats confirment que l'adaptation sur le mode hyperplasique est déterminée par une vague proliférative précoce des CML [3]. On peut faire l'hypothèse que la stimulation du greffon veineux par les contraintes hémodynamiques artérielles persiste tant que son adaptation n'est pas faite. En n'empêchant pas cette adaptation, le traitement soustrait le greffon à ces stimulus. Il n'y a donc pas d'échappement ou d'épuisement de l'effet thérapeutique. Cet aspect est certainement l'une des conditions du succès. Les thérapeutiques chirurgicales vasculaires se prêtent facilement à un traitement *ex vivo* du greffon veineux et un moyen simple de transfert du matériel génétique par un système de perfusion, sans distension de la paroi veineuse, a été développé à cette fin [10].

C'est à partir de ces études que les auteurs ont établi un protocole d'essai clinique de thérapie génique *ex vivo* offrant des garanties de sécurité maximales: utilisation d'un matériel génétique (ODN leurre anti-E2F) probablement peu susceptible de recombinaison et rapidement dégradé, absence de vecteur de transfert, perfusion *ex vivo* de ce matériel dans le greffon, juste après son prélèvement et avant son implantation chez le patient [2]. Aussi bien les opérateurs que les patients ont ignoré le type de traitement appliqué au greffon veineux qui était soustrait du champ opératoire

pendant 30 minutes. Les patients ont été sélectionnés en raison de la mauvaise qualité du matériel veineux, et donc du risque important d'obstruction rapide du pontage. On observe en effet, dans le groupe témoin, un taux cumulé d'occlusion du greffon de 69 % après un suivi médian de 53 semaines. En revanche, ce taux est abaissé à 29 % ($p = 0,04$) chez les patients dont le greffon a été traité *ex vivo* et, contrairement au groupe témoin, aucune nouvelle occlusion n'est apparue après 6 mois. Par ailleurs, aucun effet secondaire particulier n'a été observé chez les patients traités.

Ces résultats, établis sur seulement 12 patients dans le groupe témoin et 15 dans le groupe traité, devront bien sûr être confirmés avec des effectifs plus importants, et dans d'autres centres. L'hypothèse initiale était qu'une diminution de l'atteinte athéroscléreuse des greffons permettrait de réduire le taux d'occlusion. Il est toutefois peu probable que ces lésions aient pu se développer avec un recul de seulement un an, ce qui suggère l'existence d'autres mécanismes responsables de la thrombose des greffons. On ignore de plus si ce traitement pourra s'appliquer aux pontages réalisés avec une veine de bonne qualité, ou en position aorto-coronarienne. Ces réserves sont certes importantes, mais PREVENT est la première étude démontrant l'efficacité biologique et clinique d'un transfert de gène dans la paroi des vaisseaux, et le fruit d'une recherche méthodique chez un modèle animal pertinent. Un grand pragmatisme a permis de résoudre une succession de problèmes biologiques et technologiques pour parvenir à ce succès clinique.

1. Teiger E, Eloit M, Déprez I, *et al.* Thérapie génique et maladies cardiovasculaires. *Med Sci* 1999; 15: 615-24.
2. Mann MJ, Whittemore AD, Donaldson MC, *et al.* *Ex vivo* gene therapy of human vascular bypass grafts with E2F decoy: the PREVENT single-centre, randomised, controlled trial. *Lancet* 1999; 354: 1493-8.
3. Zwolak RM, Adams MC, Clowes AW. Kinetics of vein graft hyperplasia: association with tangential stress. *J Vasc Surg* 1987; 5: 126-36.
4. Kohler T, Kirkman TR, Clowes AW. The effect of rigid external support on vein graft adaptation to arterial circulation. *J Vasc Surg* 1989; 9: 277-85.
5. Zwolak RM, Kirkman TR, Clowes AW. Atherosclerosis in rabbit vein grafts. *Arteriosclerosis* 1989; 9: 374-9.
6. Batellier J, Wassef M, Merval R, Duriez M, Tedgui A. Protection from atherosclerosis in vein grafts by a rigid external support. *Arteriosclerosis Thrombosis* 1993; 13: 379-84.
7. Morishita R, Gibbons GH, Ellison KE, *et al.* Intimal hyperplasia after vascular injury is inhibited by antisense cdk 2 kinase oligonucleotides. *J Clin Invest* 1994; 93: 1458-64.
8. Morishita R, Gibbons GH, Horiuchi M, *et al.* A gene therapy strategy using a transcription factor decoy of the E2F binding site inhibits smooth muscle proliferation *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 5855-9.
9. Mann MJ, Gibbons GH, Kernoff RS, *et al.* Genetic engineering of vein grafts resistant to atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 4502-6.
10. Mann MJ, Gibbons GH, Hutchinson H, *et al.* Pressure-mediated oligonucleotide transfection of rat and human cardiovascular tissues. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 6411-6.

Éric Allaire
Pascal Desgranges
Jérôme Cron
Alexandre d'Audiffret
Didier Méllière
Jean-Pierre Becquemin

Service de chirurgie vasculaire et endocrinienne, Unité Cnrs UPRES A 7054, Centre de recherches chirurgicales, Université Paris XII, UFR de médecine, Hôpital Henri-Mondor, 51, avenue Maréchal-de-Lattre-de-Tassigny, 94010 Créteil Cedex, France.