



Transversale Santé de Paris Technopole

Synthèse de la Transversales Santé du 12 décembre 2006

Transfert-Transfert : de la molécule à la thérapeutique

Intervenants : Bernard Pau, Philippe Menasché, Bruno Dalle, Armelle Richiardi, Thibaut Roulon.

Grand Témoin : Frédéric Revah

Le transfert de connaissances et de résultats expérimentaux obtenus en « tubes à essai » ou chez l'animal à des recherches cliniques et à la découverte de nouvelles thérapeutiques s'effectue encore difficilement en France. Il demande une organisation spécifique capable de sélectionner et de faire « mûrir » les recherches et les innovations, et des financements importants et continus, publics et privés. Cette transversale a cherché à illustrer comment la France peut enfin réussir à devenir un acteur de premier plan dans ce domaine.

→ La thérapie cellulaire de l'insuffisance cardiaque. Où en est-on aujourd'hui ?

Si l'on met de côté ses applications anciennes (greffes de peau et de moelle), c'est dans le domaine de la cardiologie que la thérapie cellulaire est cliniquement la plus avancée, analyse Philippe Menasché, Professeur des universités - Praticien hospitalier à l'hôpital Pitié-Salpêtrière, directeur de l'unité Inserm 633 « Thérapie cellulaire en pathologie cardio-vasculaire », et coordonnateur de l'essai MAGIC (Myoblast Autologous Grafting in Ischemic Cardiomyopathy, Greffe de myoblastes autologues dans la cardiomyopathie ischémique). Cette méthode vise à remplacer un pool de cellules mortes par un pool de cellules contractiles. Deux types de cellules ont été utilisées à ce jour en clinique : les cellules du muscle squelettique (ou myoblastes) et les cellules de la moelle osseuse (cellules médullaires). Plusieurs sociétés de biotechnologies ont fleuri en se spécialisant généralement sur un type cellulaire.

En cardiologie, la première indication de la thérapie cellulaire est l'infarctus du myocarde au stade aigu. Il s'agit d'une situation d'urgence qui nécessite de recourir à des cellules immédiatement utilisables, ce que ne sont pas les myoblastes, d'où l'utilisation de cellules médullaires. Les protocoles ont été mis au point essentiellement par des chercheurs et cliniciens allemands : après une revascularisation par angioplastie et pose d'un stent, on injecte quelques jours plus tard les propres cellules de moelle du patient prélevées par biopsie de la crête iliaque. Ces cellules ne font l'objet d'aucune préparation technique particulière.

Toutes les études de phase I menées avec ce protocole ont été positives (amélioration de la fonction cardiaque, de la perfusion, de la viabilité). Cependant, si l'on examine les quatre études méthodologiquement sérieuses (randomisées), une seule, l'étude allemande REPAIR-AMI (V. Schachinger et al. (2006) Eur Heart J. 27(23):2775-83), s'est révélée positive sur la base du critère de la fraction d'éjection, un indice acceptable de la performance cardiaque. Mais ce gain n'a été que de 2,5 %, ce qui ne signifie rien au plan clinique.

La deuxième indication, l'angor réfractaire, est très marginale car les progrès de la pharmacologie et des thérapeutiques de revascularisation sont tels que les malades qui continuent à ressentir des douleurs d'angine de poitrine persistantes sont très peu nombreux. Une seule étude avec cellules de moelle a montré un bénéfice mais sur un critère de jugement assez ténu, les performances à l'épreuve d'effort, et sans établir de comparaison groupe à groupe au bout de plusieurs mois.

A l'inverse, l'insuffisance cardiaque est une véritable indication pour la thérapie cellulaire. Avec 120 000 nouveaux cas en France, cinq millions de patients aux Etats-Unis, il s'agit d'un énorme problème de santé publique, qui représente 3 % du budget de santé dans tous les pays industrialisés. Un problème qui va s'aggraver au fur et à mesure du vieillissement de la population.

Les cellules de moelle et les cellules du muscle squelettique peuvent être utilisées. Cette aventure a commencé voilà plus d'une dizaine d'années à l'hôpital Bichat (Paris). Des études expérimentales chez l'animal ont été menées durant sept à huit ans, financées sur les fonds propres du laboratoire de thérapie cellulaire de l'hôpital Saint-Louis, dirigé par Jean-Pierre Marolleau. Puis nous sommes passés à la clinique le 15 juin 2000 en greffant le premier patient, une phase I financée par l'AP-HP, raconte Philippe Menasché. Six ans plus tard, les résultats de la phase II de l'essai MAGIC, qui ont été annoncés en novembre 2006, permettent de tirer des enseignements très utiles.

MAGIC est la seule étude randomisée prospective multicentrique menée à ce jour avec des myoblastes en thérapie cellulaire de l'insuffisance cardiaque. Le critère d'évaluation était la fraction d'éjection mesurée par échographie au laboratoire central de l'Hôpital européen Georges Pompidou (HEGP). L'étude comprenait trois groupes de patients recevant respectivement une faible dose de cellules (400 ± 100 millions), une forte dose (800 ± 100 millions), et un milieu placebo. Tous les patients avaient besoin par ailleurs d'un pontage coronaire.

L'injection de myoblastes squelettiques dans la cicatrice d'infarctus avait soulevé un premier gros problème durant la phase I : des troubles du rythme ventriculaire apparaissaient. D'où la question : est-ce la maladie ou la thérapie qui cause ces troubles, sachant que la moitié des insuffisants cardiaques meurent de mort subite ? L'étude a montré qu'il n'existe pas de différence significative entre les groupes. Elle confirme donc le bien-fondé de l'implantation d'un défibrillateur en cas d'insuffisance cardiaque grave.

Quid de l'efficacité ? Chez les insuffisants cardiaques, la fraction d'éjection échographique est inférieure à 30 %, la normale étant de 70-75 %. Or les fractions d'éjection ont augmenté dans les trois groupes et cet accroissement n'a pas été supérieur dans les deux groupes traités par rapport au groupe contrôle. L'essai est donc négatif.

Cependant MAGIC a eu un impact positif sur un critère secondaire, les volumes ventriculaires (télédiastolique et télésystolique, les ventricules sont très dilatés chez les insuffisants cardiaques). Au bout de six mois, ces volumes avaient diminué significativement dans le groupe traité à forte dose alors qu'ils n'avaient pas changé dans le groupe « faible dose » et dans le groupe contrôle. Or il y a une relation établie entre cet effet antiremodelage et la survie des patients. Il faudra donc étudier si cet effet est pérenne.

Deux autres essais ont utilisé des cellules de moelle dans le traitement de l'insuffisance cardiaque. L'un d'eux, mené en Italie, s'est révélé positif sur la fraction d'éjection (D. Mocini et al. (2006) *Am Heart J* 151:192-7.). Mais dans le groupe contrôle, la fraction d'éjection n'a pas varié, ce qui est anormal puisque le pontage l'améliore normalement d'au moins 3 à 4 %. L'essai paraît donc discutable. L'autre étude randomisée, prospective, a été menée en Belgique ; elle s'est révélée négative (M. Hendrikx et al. (2006) *Circulation* 4;114(1 Suppl):I101-7.).

Quel bilan tirer ? Certains se sont imaginés que les premiers essais de thérapie cellulaire allait révolutionner la cardiologie. Ils sont donc forcément déçus aujourd'hui. Ce sentiment n'est pas justifié. Les essais cliniques conduits ont montré que la thérapie cellulaire cardiaque est faisable, qu'elle ne pose pas de gros problèmes de sécurité ; elle a donné en outre quelques signaux encourageants. Il faut donc tirer les leçons de ce que l'on a appris pour améliorer la technique.

Premier enseignement : les techniques actuelles de transfert de cellules sont « nulles ». En injectant des cellules isolées avec une seringue ou un cathéter, les chances d'obtenir une action thérapeutique sont infimes. En effet, plus de la moitié des cellules sont perdues à l'injection et sont disséminées vers d'autres organes. Parmi celles qui restent, 90 % meurent rapidement. On sait aujourd'hui pourquoi et comment augmenter leur survie, notamment par le biais d'une amélioration de la vascularisation et d'un environnement tridimensionnel.

Reste le problème de la définition des indications : a-t-on vraiment besoin de nouvelles cellules contractiles ? Oui, sans aucun doute, dans le cas de l'insuffisance cardiaque puisqu'il faut compenser la perte d'une bonne part des cellules contractiles. En revanche, dans le cas de l'infarctus du myocarde au stade aigu, il est possible que l'angiogenèse compte davantage ; auquel cas le fait que les cellules disparaissent au bout d'un certain temps ne serait pas catastrophique si elles ont eu le temps de libérer les cytokines et les facteurs de croissance qui vont amorcer les phénomènes d'autoréparation du tissu lésé.

Enfin, quelles cellules employer ? Il faut admettre que des cellules musculaires ou des cellules de moelle adultes ne deviendront jamais des cellules cardiaques ! Les seules cellules qui peuvent devenir des cardiomyocytes sont des cellules souches embryonnaires que l'on aura orientées vers une lignée cardiaque. Et c'est dans cette direction que les recherches doivent porter aujourd'hui.

Nous avons essayé de recréer autour de ces cellules le même schéma que ce qui avait entouré le travail sur les cellules musculaires dans les années 1900, précise Philippe Menasché : une intégration très étroite entre chercheurs fondamentaux, cliniciens et une société de biotechnologies. Le responsable scientifique du projet est Michel Pucéat, qui a une reconnaissance internationale en matière de cellules souches embryonnaires, au sein d'I-STEM, basé au sein du Généthon à Evry. L'équipe de cliniciens regroupe Michel Desnos, Albert-Alain Hagège et le Pr Menasché. La « biotech » est MAbgène ; elle travaille sur l'adaptation en bonnes conditions de production (GMP) de la propagation, de la spécification, de la sélection et de la congélation des cellules, en collaboration avec le laboratoire de thérapie cellulaire de Saint-Louis (J.-P. Marolleau, désormais professeur à Amiens, et Jérôme Larghero).

Notons que la loi française autorise désormais la création de lignées de cellules souches embryonnaires à partir d'embryons surnuméraires, suite au décret du 6 février 2006. Les obstacles sont avant tout techniques : amplification des cellules sans dérive du caryotype, à partir de lignées d'une extraordinaire hétérogénéité (il faut 300 millions de cellules pour un patient donné) ; spécification : les cellules doivent être orientées mais ce procédé est maintenant bien maîtrisé ; enfin sélection des cellules spécifiées vers un lignage cardiaque.

➔ **Les enjeux de la bioproduction de produits de thérapie cellulaire**

Le développement des produits de thérapie cellulaire, véritable enjeu d'avenir, présente des difficultés que les industriels et les équipes de recherche académique doivent essayer de surmonter afin de profiter pleinement des perspectives offertes par l'utilisation de ces thérapeutiques. La société parisienne Myosix participe au développement de tels produits pour diverses applications thérapeutiques. Sa technologie brevetée est ainsi utilisée dans plusieurs essais cliniques de thérapie cellulaire. Au sein de sa structure, Myosix peut produire de manière standardisée et reproductible des lots de myoblastes de grade clinique (conditions GMP) ou de grade recherche (conditions GLP), expose Bruno Dalle, Pharmacien, Responsable des activités de R&D et de production du laboratoire de thérapie cellulaire de l'entreprise et Armelle Richiardi, Responsable Projets chez Genzyme et responsable des opérations de développement de Myosix.

Myosix a été créée en 2000 sur la base des études expérimentales menées en prévision de l'essai clinique de thérapie cellulaire de phase I mené à Bichat. Les

deux fondateurs scientifiques de Myosix, Jean-Pierre Marolleau et Jean-Thomas Vilquin, ont mis au point la technologie de culture de myoblastes. Elle était la seule au monde à obtenir un très grand nombre de myoblastes sans sélection physique (80 % de pureté dans les lots cellulaires) mais grâce au milieu de culture. Cette technologie est désormais utilisée pour deux autres essais cliniques concernant des dystrophies musculaires. Myosix dispose de plusieurs atouts : savoir-faire innovant, solide expertise, procédé standardisé et reproductible, technique brevetée, licence exclusive d'utilisation, procédé validé par les agences réglementaires.

Aujourd'hui, les principaux problèmes à résoudre en thérapie cellulaire sont la biodistribution des cellules (faire en sorte qu'elles restent majoritairement sur le site d'injection), l'augmentation de la survie des cellules qui restent sur place, et la nature des cellules à utiliser.

Ce dernier point est primordial. Faut-il en particulier privilégier les cellules autologues ou des cellules allogéniques ? D'un point de vue industriel, les cellules autologues ne représentent pas le bon choix : la taille du prélèvement détermine le nombre de cellules produites et peut se révéler inadaptée au cas du patient ; le recours aux cellules autologues induit un délai de mise à disposition du traitement, alors qu'un produit allogénique peut être stocké et est disponible à volonté ; il exige une logistique de transport depuis l'hôpital où se fait la biopsie jusqu'au laboratoire de production des myoblastes et inversement, avec un maintien des cellules dans de bonnes conditions de viabilité. L'industrialisation du procédé est délicate puisque chaque produit est différent. Le coût de production des cellules autologues est en outre supérieur à celui d'un produit allogénique puisque, dans ce cas, un même cycle de production donne plusieurs produits.

Un autre enjeu est le cadre réglementaire. On peut définir quatre statuts de produits de thérapie cellulaire : autologues, allogéniques, fabriqués industriellement, ou pas. En France, un seul cadre définit si un produit est pharmaceutique ou pas. Mais au niveau européen, la législation varie d'un pays à l'autre : les cellules sont ou ne sont pas considérées comme des médicaments. La législation européenne est cependant en train de changer. La directive 2004/23 du 31 mars 2004, en cours de transposition en droit français, vise à fixer des normes de qualité et de sécurité et à encadrer le processus menant aux greffes de cellules. En outre, une proposition de règlement du Parlement européen et du Conseil concernant les médicaments de thérapie innovante (thérapie génique, thérapie cellulaire somatique et ingénierie tissulaire) devrait modifier la directive 2001/83/CE qui avait institué un code communautaire relatif aux médicaments à usage humain.

Frédéric Revah, directeur scientifique de la société CEREP

Face à une société comme Myosix quelle serait aujourd'hui la réaction d'un investisseur ?

Thibaut Roulon, analyste chez Bioam

Aujourd'hui, un projet de thérapie cellulaire peut être financé s'il existe de bons résultats sur un modèle animal, si l'on a une bonne idée du processus de production et si, surtout, on s'adresse à des pathologies très lourdes pour lesquelles on peut s'autoriser à avoir des traitements très chers.

Frédéric Revah

Oui, mais ce cadre-là correspond à ce que l'on attend généralement pour des produits de biotechnologie classique issus des laboratoires académiques, comme les protéines recombinantes, les anticorps monoclonaux.

Thibaut Roulon

C'est le même schéma avec, en plus, le flou du cadre réglementaire. Aux Etats-Unis, la société Dendreon a déposé un dossier d'enregistrement pour un produit d'immunothérapie dans le cancer de la prostate. Cela posera sans doute un jalon important pour que la réglementation sur les thérapies innovantes évolue.

Du point de vue clinique, la thérapie cellulaire est relativement facile en phase I mais elle est beaucoup plus difficile en phase II, car il faut disposer d'un procédé parfaitement bien défini. Or les sociétés de thérapie cellulaire manquent souvent d'un procédé suffisamment robuste pour passer du « bricolage » qu'est la phase I à un produit industrialisable.

Philippe Menasché

Effectivement, je vois difficilement une extension de la thérapie cellulaire dans un cadre clinique en dehors de produits allogéniques. J'ai été partisan des produits autologues car on ne pouvait pas faire autrement au départ. Mais quand on constate les difficultés du transfert de la biopsie, les contrôles personnalisés, les coûts, le caractère hétérogène du produit d'un malade à l'autre, on peut penser que la thérapie cellulaire ne pourra se développer que lorsque des banques de cellules allogéniques auront été constituées, qu'elles soient embryonnaires ou adultes. D'ailleurs aux Etats-Unis, la société Osiris Therapeutics termine un essai clinique en cardiologie avec des cellules souches mésenchymateuses médullaires allogéniques, prêtes à l'emploi.

Bernard Pau, ancien directeur des Sciences de la vie du CNRS, PDG de l'Institut d'Innovations Thérapeutiques (I2T-SA) récemment fermé

Notre société ne devrait-elle pas s'interroger sur la portée qu'a l'épidémie d'insuffisance cardiaque et l'apport d'une thérapie qui permettrait une vraie guérison, une vraie rupture thérapeutique ? Selon moi, la puissance publique se doit d'investir un effort dans le progrès de ces thérapies porteuses d'un retour collectif sur investissement (prolongation de la vie, vie sauvées, etc.). Laisser cette question au champ libéral – malgré ses vertus dans la promotion de thérapies nouvelles – me paraît insuffisant.

→ La création de valeur médicale et économique : le nécessaire et le possible en France

Bernard Pau explique que le contexte mondial du développement des médicaments se caractérise par un marché de quelque 400 milliards d'euros, dont 10 % de protéines médicaments, et une forte demande de nouvelles thérapies. Le parcours de l'innovation thérapeutique est marqué par une extraordinaire complexité, reflet de la complexité du vivant. En franchir les étapes exige une interdisciplinarité constante. En raison de cette complexité, l'attrition des projets d'innovation est très élevée : sur cent excellentes idées matérialisées par un brevet, une seule molécule ira au marché. Le champ pharmaceutique n'est cependant pas plus pénalisé qu'un autre : sur cent brevets dans le monde, quatre-vingt-douze perdent de l'argent, sept équilibrent les dépenses, un seul permet de gagner de l'argent. Cependant, l'attrition pharmaceutique est liée avant tout à la sécurité et au manque d'efficacité des produits.

L'industrie pharmaceutique a montré sa capacité à investir de façon impressionnante dans la recherche ; les dépenses de R&D des « pharma » ne cessent d'ailleurs de s'alourdir. Mais étrangement, le nombre absolu de molécules portées sur le marché

est à la baisse depuis plusieurs années. En termes de performance relative (nombre de molécules/dépenses) l'efficacité apparente du monde pharmaceutique a considérablement diminué. Ce constat se pose de manière aiguë car le chiffre d'affaires des grandes sociétés est certain de chuter de 15 à 20 % du fait de la péremption des brevets sur les « blockbusters ».

L'industrie va se tourner de manière croissante vers l'extérieur pour aller chercher ailleurs les résultats qu'elle n'a pas en son sein. On observe ainsi un déclin constant de la part que représente les ressources internes de l'industrie pharma dans les molécules mises sur le marché. Globalement, l'essentiel de la production provient aujourd'hui de l'extérieur des grandes entreprises.

Dans ce contexte, la recherche publique constitue un réservoir dans lequel puiser les innovations. Mais il faut trier parmi les projets pour engager des programmes de découverte et de développement préclinique. Comment ?

Il ne suffit pas d'exhorter la recherche publique à se valoriser sous forme de microentreprises si celles-ci restent sans moyen capitalistique ; elles s'étioleront et ne parviendront pas à mettre leurs molécules en situation d'évaluation clinique. Nous manquons d'un moteur d'accélération du transfert, capable de combler le vide entre d'une part l'état de maturation, de visibilité, et de probabilité de succès d'une recherche académique et, d'autre part, le niveau auquel les investisseurs à risque ou les industriels sont prêts à investir. Sur les cent brevets de l'arbre de l'innovation, quatre-vingt-quinze n'auront pas la chance d'aller au bout de leur potentiel et « pourriront sur l'arbre ».

En complément du nécessaire soutien à la création de start-ups, nous avons proposé une solution d'accélération du transfert permettant d'assumer collectivement le risque par l'intermédiaire d'une société, I2T, qui représentait l'intérêt public, rappelle Bernard Pau. Malheureusement, après un an et demi d'efforts et malgré des indicateurs au vert venant du secteur privé, l'initiative I2T a dû être interrompue en juillet 2006, contre toute logique. Le projet avait été lancé depuis l'intérieur du CNRS, avec l'appui du gouvernement. Par la suite, l'expression de la volonté politique s'est étiolée comme si, l'idée étant émise, on en oubliait l'objet. C'est ce qui a pesé le plus lourd. Si le politique, au plus haut niveau de l'Etat, ne pousse pas une initiative, tous les freins de type territorial, les craintes du nouveau, peuvent mener à mal un projet. Le CNRS a investi 500 000 euros, en deux fois. Cette somme n'a pas été perdue car des projets ont été identifiés et certains d'entre eux vont faire l'objet d'un développement industriel.

Bernard Pau se dit déçu de ne toujours pas voir en France d'engagement macroéconomique vers le transfert pour l'innovation thérapeutique, contrairement à ce qui se passe ailleurs le monde. En Israël, Bioline Rx (<http://www.biolinerx.com/>) est un modèle d'investissement public-privé dans lequel des fonds d'investissement et des collectivités territoriales, notamment celle de Jérusalem, ont coinvesti 40 M€ pour faire que cette société – dont le modèle de fonctionnement est identique à celui qu'avait amorcé I2T – porte des projets vers le développement clinique.

Aux Pays-Bas, le Top Institute Pharma (TI Pharma, <http://www.tipharma.nl/>), créé le 11 juillet 2006, associe des investisseurs de la pharmacie réunis en consortium, des fondations et des investisseurs publics (40 M€) en vue de faire du développement de médicaments et de la formation de jeunes chercheurs dans ce domaine.

L'initiative américaine, sans surprise, est la plus importante : en 2002, Elias Zerhouni, directeur des NIH, a mis 2,2 milliards de dollars sur la table (« The

roadmap from biology to clinics », <http://nihroadmap.nih.gov/>). De cette initiative est né dans l'année qui a suivi un investissement gigantesque sur une vingtaine de plates-formes académiques qui équipent le territoire américain de tous les éléments nécessaires pour mener de la molécule au préclinique. Le Broad Institute du MIT et d'Harvard est équipé, mieux que la plupart des grands groupes pharmaceutiques, de chimiothèques et de moyens de criblage de petites molécules.

En Allemagne, une initiative fédérale, Go-Bio (<http://www.biotechnologie.de/>), est née en 2005 : 150 M€ ont été mis à disposition d'un système de sélection d'une dizaine de projets par an. Le premier tour de sélection a eu lieu : douze projets ont été retenus, financés à hauteur de 800 000 euros par an sur six ans maximum, soit 4,8 M€ au total. Cet outil allemand n'est cependant peut-être pas le plus efficace possible car il n'installe pas entre le financement et les chercheurs un système hautement efficace adossé à l'obligation de succès, juge Bernard Pau.

Ainsi, si la France a un potentiel exceptionnel, elle est actuellement en situation d'être submergée par les innovations venues d'ailleurs ; elle risque de décourager ses jeunes chercheurs face à l'attrition inexorable de leurs pré-projets.

Rendez-vous en 2007 !

Les organisateurs (*Paris Technopole, IDIS*), Sponsors et Partenaires vous remercient pour votre/vos participations aux sessions 2006.

Nous vous donnons rendez-vous très prochainement pour de nouvelles Transversales Santé.

Dans cette attente, vous trouverez les informations sur les transversales passées et à venir sur le site Internet de Paris développement :

<http://www.parisdeveloppement.com/la-technopole-parisienne/les-poles-innovants/pole-sante/les-transversales-sante.html>

Les partenaires des Transversales Santé

Sponsors

ALCIMED

Diatos

fovea

**Helios
Biosciences**

MKT Mauna Kea Technologies

nano biotix

**ORALANCE
PHARMA**

Avec le soutien de



Partenariat Presse

PHARMACEUTIQUES

SANTÉ, MÉDICAMENT ET INDUSTRIE



Créée à l'initiative de la Ville de Paris et de la Chambre de Commerce et d'Industrie de Paris, Paris Développement, l'agence de développement économique de Paris, favorise l'essor économique de la Capitale dans les secteurs de la Santé, du Numérique et du Design.



Evènements co-organisés par