



LES TRANSVERSALES SANTÉ
de Paris Innovation
en association avec Medicen Paris Region

SYNTHESE

→ La thérapie génique : Le nouveau ?

Mardi 16 septembre 2008
18h30 – 21h
Paris Développement

Intervenants :

Patrice DENÈFLE, CSO, Direction Recherche Translationnelle & Développement, Généthon, Évry

Sophie LUCAS, Département de l'Évaluation des produits biologiques, Unité des produits biologiques à effet thérapeutique, AFSSAPS

Stéphane PALFI, neurochirurgien, Groupe Henri-Mondor Albert-Chenevier, Assistance Publique - Hôpitaux de Paris, Service de Neurochirurgie, Créteil, neurobiologiste au CEA (MirCen)

Pia DELAÈRE, Conseiller Scientifique, Évaluation de la sécurité du médicament, Sanofi-Aventis

Grand Témoin : Odile Cohen-Haguenauer, École normale supérieure de Cachan, Laboratoire de biotechnologies et pharmacologie génétique appliquée (LBPA), et Service d'oncologie médicale, hôpital Saint-Louis, Paris, coordinatrice du réseau européen CliniGene-NoE

Après une longue période de doute, la thérapie génique semble se repositionner parmi les voies de traitement médical de demain. Cette transversale santé a abordé ce point de vue à partir de quelques exemples de développement clinique en cours et du cadre réglementaire européen.

Pourquoi la thérapie génique regagne-t-elle du crédit ?

Patrice DENÈFLE,

CSO, Direction Recherche Translationnelle & Développement, Généthon, Évry
denefle@genethon.fr

Généthon, laboratoire de découverte et de développement de thérapies innovantes issues de la connaissance des gènes, créé en 1991, est une organisation de biotechnologie à but non lucratif (association loi 1901) financée à 90 % par l'Association française contre les myopathies (AFM) et donc par le Téléthon, qui a fêté ses vingt ans en 2008. L'organisation est centrée sur les maladies génétiques rares, pour la plupart monogéniques. C'est une structure intégrée, qui associe recherche exploratoire, recherche et développement translationnels et une unité de production pour lots cliniques suivant les bonnes pratiques de fabrication (BPF). Généthon a créé une société de type « spin off », Genosafe, spécialisée, entre autres, dans l'évaluation de la sécurité des produits de thérapie génique.

Tous les produits que Généthon développe actuellement en préclinique et clinique sont issus de son expertise en conception de vecteurs de gènes et en transfert génique. Les cibles de ces produits sont certaines maladies neuromusculaires mais aussi des immunodéficiences sévères, des épidermolyses bulleuses, et d'autres maladies rares, en collaboration avec de nombreuses équipes françaises et Internationales.

Petit rappel historique

Comme toute innovation technologique, la thérapie génique est passée par plusieurs phases de développement. Elle naît conceptuellement vers 1975 avec l'émergence de la biologie moléculaire. Puis elle est véritablement lancée par la conférence « Faits et fiction » du centre Banbury de Cold Spring Harbor, en 1982 (1), qui s'interroge sur ses perspectives avec une acuité très intéressante. En France, les premières preuves de concept, en 1992, sont dues en particulier à l'équipe de Michel Perricaudet, à l'Institut Gustave Roussy, qui établit la possibilité de transfert stable et de longue durée d'un gène marqueur dans le muscle squelettique et dans le muscle cardiaque de la souris, avec un vecteur adénoviral.

Cette nouvelle méthode thérapeutique suscite alors un enthousiasme quasi général, favorisé par plusieurs facteurs : le concept d'« ADN médicament » introduit par Axel Kahn en 1993 (2), le besoin de rebondir de la biotechnologie après la vague des protéines recombinantes qui n'avaient pas « révolutionné » le marché pharmaceutique comme on l'annonçait, tout cela dans un contexte de sur-représentation des promesses de la biologie moléculaire par beaucoup de médias et de chercheurs.

En 1999, cette bulle éclate lorsque certains événements graves surgissent au cours des premiers essais cliniques. La mort, en septembre, d'un malade atteint d'une maladie génétique rare lors d'un essai clinique mené à l'Université de Pennsylvanie, au cours duquel il avait reçu des adénovirus porteurs du gène correcteur, remet tout en question. La FDA ayant trouvé des anomalies de protocole et de conduite de l'essai (3), la thérapie génique entre alors dans une phase d'ostracisme. Aujourd'hui encore, il faut beaucoup de courage aux États-Unis pour développer un produit de thérapie génique. Cependant, il faut noter que le nombre de nouveaux essais cliniques est resté constant depuis 1997 (environ 90 par an dans le monde).

On pourrait par ailleurs établir un parallèle avec l'histoire des anticorps monoclonaux : l'immunologie moléculaire avait 10 à 15 ans d'avance sur la biologie moléculaire ; or ses applications n'ont vraiment atteint le marché qu'avec l'utilisation d'anticorps monoclonaux en oncologie à la fin des années 1990. Un autre parallèle peut être fait avec le séquençage du génome humain : la grande excitation de 2000-2001 n'a pas encore vraiment porté ses fruits. Ces parallèles soulignent que le cycle de vie d'une innovation technologique est forcément long et qu'une phase de maturation de dix ans, ou davantage, est toujours indispensable pour qu'elle puisse donner des premiers produits sûrs et efficaces.

Facteurs incitatifs et freins

Plusieurs facteurs stimulent actuellement le renouveau de la thérapie génique. La connaissance de nos gènes conduit à mieux cerner une cause probable ou certaine pour un grand nombre de pathologies et a permis de créer de nombreux modèles expérimentaux, par exemple en inactivant le

Notre sponsor



gène en cause chez la souris. Le statut de médicament orphelin aux États-Unis et en Europe permet, entre autres, de gagner du temps pour développer des thérapies innovantes contre les maladies rares. Les difficultés rencontrées par les thérapeutiques conventionnelles et l'augmentation constante des coûts de développement des médicaments rendent les produits de thérapie génique compétitifs. Enfin, les progrès accomplis par les vecteurs viraux de 3^e génération sont les garants d'une sécurité renforcée par rapport aux premiers essais.

Les éléments régulateurs, voire les freins au développement de la thérapie génique, sont la prise de conscience, avec l'émergence de la biologie des systèmes, de la complexité des causes physiopathologiques, y compris dans le cas des maladies monogéniques, car l'environnement conditionne leur étiologie et leur évolution. Pour faire court : il ne suffit pas de connaître des facteurs moléculaires pour concevoir un médicament.

La surenchère médiatique reste un autre frein, sur fond de résistance à la manipulation génétique. Inversement, l'hyperoptimisme de certains chercheurs qui ont sans doute sous-estimé la nature complexe du produit thérapeutique (Jim Wilson, 1994 : « Gene therapy is just an engineering problem »), a ralenti également le développement de la thérapie génique en contribuant à radicaliser les positions « génosceptiques ».

Deux exemples cliniques au Généthon

- **La dystrophie des ceintures**

C'est une maladie génétique rare à transmission autosomique récessive qui est due à des mutations, entre autres dans le gène de la gamma-sarcoglycane (γ -SG). Elle touche la ceinture pelvienne et scapulaire avant l'âge de 10 ans et provoque la perte de la marche vers l'âge de 12 ans ainsi que des atteintes cardiaques ou respiratoire dans 30 à 40 % des cas, ce qui entraîne une réduction de l'espérance de vie.

Le gène thérapeutique est placé dans un vecteur AAV sous le contrôle d'un promoteur qui cible l'expression dans le muscle squelettique. Il a obtenu le statut de médicament orphelin en 2004. Un essai de tolérance est actuellement en cours à l'Hôpital de la Pitié Salpêtrière et se terminera fin 2008. Un frein important à ce développement aura été le recrutement des patients, d'où l'appel à des patients tunisiens (chez lesquels la pathologie est bien répertoriée) et la perspective de la création d'un centre dédié aux phases II en Tunisie.

Le Généthon prépare actuellement la phase II en injection systémique et, en parallèle, le procédé de fabrication BPF, à grande échelle, qui sera mis en œuvre dès l'ouverture du nouveau site de bioproduction « grande échelle » d'Évry, fin 2010.

- **Projet WASp: Syndrome Wiskott Aldrich**

Il s'agit d'une immunodéficiences primaire héréditaire, liée à l'X, très rare, due à l'absence d'une protéine, nommée WASp, qui intervient dans la signalisation et a un rôle régulateur au niveau du cytosquelette des cellules hématopoïétiques.

L'approche proposée par le Généthon consiste à transférer à l'aide d'un vecteur lentiviral de 3^e génération le gène de la WASp dans des précurseurs CD34+ de la moelle osseuse, ex vivo. L'étude clinique sera réalisée dans trois centres, à Londres, Paris et Milan. Le produit a reçu le statut de médicament orphelin en 2006.

Les défis à surmonter

- **Médicaux**

Atteindre des objectifs cliniques réalistes ;

Ne pas faire que des phases I et pour cela définir très tôt les protocoles et les points d'évaluation clinique atteignables en liaison avec les agences réglementaires, en tenant compte des tailles de cohortes de patients.

- **Technologiques**

Maîtriser la fabrication de la chaîne de production du produit biopharmaceutique ;

Prévoir dès le début du projet un plan de développement du bio-procédé compatible avec la fabrication de lots cliniques à toutes les phases de l'essai.

Notre sponsor



- **Précliniques**

Maîtriser la pharmacodynamique et la pharmacocinétique de ces produits (un test de complémentation génétique chez la souris KO avec un vecteur portant le gène n'est pas un test préclinique).

Être en ligne avec les objectifs cliniques.

- **Immunologiques**

Les vecteurs viraux sont des produits contre lesquels la plupart d'entre nous réagissent fortement. Il faut pourtant définir les conditions d'une possible ré-administration, ce qui impose de comprendre et de maîtriser leur immunotoxicité potentielle.

Les facteurs clefs de succès

Définir les pathologies « faisables », c'est-à-dire modulables par un effet génique clairement établi, et les protocoles adéquats le plus tôt possible.

Penser la réalisation industrielle en même temps que la réalisation clinique et prévoir une fabrication BPF adaptée à la nature de l'essai clinique.

(1) T. Friedmann, Gene therapy: Fact and fiction. In *Biology's New Approaches to Disease. A Banbury Public Information Report*, Cold Spring Harbor, 1983.

(2) *Thérapie Génique, l'ADN médicament*, A. Kahn coord., John Libbey Eurotext, Paris, 1993.

(3) FDA Consumer magazine, « Human Gene Therapy: Harsh Lessons, High Hopes », September-October 2000, http://www.fda.gov/fdac/features/2000/500_gene.html

Pour en savoir plus

<http://www.genethon.fr>

Thérapie génique : le cadre réglementaire européen

Sophie LUCAS,

Département de l'Évaluation des produits biologiques, Unité des produits biologiques à effet thérapeutique, AFSSAPS

Sophie.LUCAS-SAMUEL@afssaps.sante.fr

Depuis la directive 2001/83/CE (modifiée par la directive 2003/63/CE), on ne voyait pas de procédure d'évaluation claire pour les produits de thérapie génique. Or, en raison de la nouveauté, de la complexité et des spécificités techniques de cette méthode thérapeutique, il est nécessaire de disposer de règles adaptées et harmonisées pour assurer la libre circulation de ses produits au sein de la communauté européenne. Avec le règlement européen sur les thérapies innovantes n°1394/2007 du 13 novembre 2007, qui vient d'être publié et qui entrera en application fin 2008, ces produits vont bénéficier d'une AMM centralisée au niveau de l'agence européenne du médicament (EMA). Ils restent classés comme des médicaments mais avec l'objectif de les différencier des médicaments classiques. Le règlement a spécifiquement pour objectif d'encadrer de nouvelles catégories de produits : les médicaments issus de l'ingénierie tissulaire, et les médicaments combinés contenant des cellules/tissus viables et des dispositifs médicaux.

Définition

Actuellement, les médicaments de thérapie génique sont définis comme les produits résultant d'un procédé de fabrication impliquant le transfert à l'homme ou à l'animal, in vivo ou ex vivo, d'un gène prophylactique, diagnostique, thérapeutique et l'expression in vivo qui en résulte. Dans le cadre du règlement, cette définition est en cours de révision après avoir fait l'objet, durant l'été 2008, d'une consultation publique. Ainsi, la place de la thérapie génique ex vivo n'était pas claire ; la nouvelle définition va préciser qu'elle relève bien de la thérapie génique.

En revanche, les produits contenant ou consistant en des cellules ou tissus non viables, dont le mécanisme d'action principal ne se fait pas par voie pharmacologique, immunologique ou métabolique sont exclus du règlement européen. De même, les produits hospitaliers restent régulés par chaque État membre. Mais les critères de traçabilité, de pharmacovigilance et de qualité de l'État membre doivent être équivalents à ceux que prévoit le règlement.

Notre sponsor



Une procédure centralisée

L'un des intérêts majeurs du règlement européen est d'établir une procédure centralisée européenne qui signifie qu'une seule autorisation d'un produit équivaut à un enregistrement européen valable dans tous les pays membres. Chaque dossier candidat sera évalué par le Comité des thérapies innovantes (CTI/CAT) en cours de constitution. Ce comité donnera son avis au Comité des spécialités pharmaceutiques (CSP) à l'EMA, qui rendra la décision finale.

Le règlement prévoit en outre des mesures incitatives financières. Ainsi, les frais de demande d'avis scientifiques seront réduits de 90 % pour les « PME », de 65 % pour les autres. Les taxes sur la demande d'AMM et le suivi postmarketing seront aussi réduits de 50 % si le demandeur est une PME ou un hôpital, en particulier si le produit a un intérêt particulier pour la communauté européenne ; mais cette réduction ne sera applicable que pendant une période transitoire.

Toute PME pourra par ailleurs bénéficier d'une certification de l'EMA dès lors qu'elle fournira des données « Non Cliniques et Qualité » à un stade précoce du développement. Ce label de l'EMA ne sera pas une AMM mais une « photographie » des données du demandeur à moment du développement.

Pour les produits de thérapie génique, s'applique aussi la réglementation sur la dissémination des OGM. Le dossier d'AMM servira également à obtenir un avis sur ce point. Il sera soumis aux autorités environnementales de chacun des États et les avis seront centralisés au niveau de l'EMA, qui transmettra à la Commission.

Les particularités françaises

Depuis 1996, les produits de thérapie génique ont deux statuts. Soit il s'agit de « candidats » médicaments destinés à devenir des spécialités pharmaceutiques, préparées par un établissement pharmaceutique ; dans ce cas, l'AMM suit une procédure centralisée au niveau de l'EMA. Soit ce sont des « préparations de thérapie génique » réalisées par un établissement non pharmaceutique ; dans ce cas, c'est l'Afssaps qui donne son aval. Ce double statut, s'il a des avantages en permettant notamment à des start-up de développer des produits de thérapies géniques, peut se révéler source d'inconvénients, notamment lors de la réalisation d'essais cliniques multicentriques en Europe.

Pour en savoir plus

Règlement n° 1394/2007 du Parlement européen et du Conseil du 13 novembre 2007 concernant les médicaments de thérapie innovante et modifiant la directive 2001/83/CE ainsi que le règlement (CE) no 726/2004

<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2007:324:0121:0137:FR:PDF>

Exigences techniques européennes

<http://www.emea.europa.eu/htms/human/humanguidelines/biologicals.htm>

Discussion

Odile Cohen-Haguenauer,

École normale supérieure de Cachan, Laboratoire de biotechnologies et pharmacologie génétique appliquée (LBPA), et Service d'oncologie médicale, hôpital Saint-Louis, Paris, coordinatrice du réseau européen CliniGene-NoE

Au niveau réglementaire on reste devant une accumulation de « guidelines » encore à finaliser, alors que les chercheurs ont besoin de clarté. Il faut réclamer une ligne directrice unificatrice qui permette un fil conducteur pour le développement des produits de thérapie génique.

Si l'on met le sujet en perspective, l'idée de base de la thérapie génique peut apparaître simple : il s'agit de transférer un gène correcteur dans des cellules malades. Mais la réalisation est difficile car un produit de thérapie génique est comme tout autre médicament : il lui faut une bonne galénique, des critères de sécurité draconiens, etc. Patrice Denèfle a bien montré qu'une longue maturation et des moyens importants sont indispensables pour espérer réussir, incluant la manufacture des produits.

Notre sponsor



Une différence s'impose cependant entre thérapie génique des maladies rares, où le rôle des laboratoires académiques est prédominant, et thérapie des maladies plus fréquentes comme le diabète, qui ne peut être menée à bien que par l'industrie, seule apte à assumer des essais cliniques lourds dans leur qualité et leur pérennité. L'articulation entre académiques et industriels est primordiale pour que les travaux menés jusqu'à la phase I pour apporter la preuve du concept, voire de l'efficacité, puissent être poursuivis plus vraisemblablement par le secteur industriel. C'est un des buts du réseau d'excellence européen CliniGene (www.clinigene.eu).

Patrice Denèfle

Je ne vois pas les choses de manière aussi dichotomique. Dans tout plan méthodologique, y compris académique, il faut penser en termes de preuves de concept clinique. Je suis persuadé qu'au-delà de cette première preuve de concept clinique, réalisée sur des maladies rares, considérées comme des cas idéals (complexité réduite, paramètres de variation connus, classes d'âge bien définies), l'innovation thérapeutique peut s'étendre à des maladies plus fréquentes, y compris dans un cadre académique.

Sophie Lucas

L'interaction entre recherche académique et milieu industriel est encouragée par le cadre réglementaire européen. Même si la recherche est très active au niveau académique, ce qui est le cas en France, à un moment donné l'industrie ou une structure intégrée comme Généthon doit prendre le relais.

Odile Cohen-Haguenauer

Concernant les exigences réglementaires, je ne suis pas d'accord pour imposer à la thérapie génique des règles différentes de celles qui s'appliquent aux autres traitements. Il ne faut pas séparer la thérapie génique des autres développements pharmaceutiques. En effet, on la classe ainsi comme n'ayant pas droit à l'erreur, comme si des effets indésirables étaient inconcevables.

Patrice Denèfle

L'innovation est aussi freinée dès que l'on a une vision technique de la réalisation en oubliant le malade. La préoccupation première, dès la phase de conception d'un produit, doit être de penser à ce que la recherche et la clinique vont apporter aux malades. En procédant ainsi, on limite beaucoup le risque d'erreurs.

Anne-Marie Masquelier (Généthon)

Sur la réglementation, la vraie difficulté actuelle tient à ce qu'aucune harmonisation européenne n'existe avant la mise sur le marché. Un essai en Italie, en Grande-Bretagne et en France obéit par exemple à des règles différentes pour la production de lots de qualité BPF. Il est essentiel que l'EMA harmonise au plus vite ce niveau de développement.

Odile Cohen-Haguenauer

Au sein du réseau CliniGene, nous avons organisé un groupe de réflexion éthique et proposé un modèle de stratification conceptuelle des essais intégrant le stade d'évolution de la maladie et le fait qu'elle est mortelle ou non (Molecular Therapy (2008); 16 3, 432–438). Qu'est-on en mesure d'attendre d'un essai clinique, et comment réaliser un essai en fonction de la réponse attendue ? Une erreur courante, par le passé, a malheureusement consisté à reproduire des protocoles qui n'apportaient rien en termes d'avancées cliniques. Le stade de réflexion sur la méthodologie est donc primordial.

S'agissant des maladies rares, la question se pose de prendre pour référence le modèle de développement de la phase I à la phase IV, compte tenu de l'effectif réduit des patients concernés et de l'éventualité d'une preuve d'efficacité susceptible de se dégager précocement.

Notre sponsor



La thérapie génique de la maladie de Parkinson

Stéphane PALFI,

neurochirurgien, Groupe Henri-Mondor Albert-Chenevier, Assistance Publique - Hôpitaux de Paris, Service de Neurochirurgie, Créteil, neurobiologiste au CEA (MirCen)
stephane.palfi@hmn.aphp.fr

La maladie de Parkinson est due principalement à la dégénérescence des neurones de la substance noire cérébrale qui se projettent vers le striatum, et à la diminution consécutive de la sécrétion de dopamine dans cette région cible. Ses causes demeurent inconnues. Elle affecte un million de personnes en Europe et autant aux Etats-Unis. Le principal traitement, l'administration orale de L-dopa, un précurseur de la dopamine, induit des complications motrices deux à cinq ans après une phase de très bonne réponse sur les symptômes moteurs de la maladie de Parkinson sans effet indésirable. C'est en général à ce stade qu'est proposée la chirurgie de stimulation profonde. En France, elle permet chaque année à environ 500 patients (sur 100 000) de réduire le nombre et l'intensité des complications.

On pense que les complications motrices sont favorisées par la prise intermittente de la L-dopa par voie orale. Il s'ensuit une stimulation dopaminergique discontinue du striatum qui entraîne des signaux de dysfonctionnement.

La dopamine en continu

Le défi thérapeutique est donc d'induire la libération permanente de dopamine. La thérapie génique pourrait répondre à ce défi avec le même rationnel que la thérapie cellulaire. De plus, la libération de dopamine serait locale, ce qui éviterait les effets secondaires dus à l'action de ce médiateur sur d'autres régions cérébrales.

Plusieurs essais cliniques ont déjà eu lieu en Amérique du Nord. En Californie, la société Avigen a utilisé un vecteur AAV porteur du gène de l'enzyme nécessaire à la transformation de la L-dopa en dopamine, avant de céder son activité de thérapie génique à Genzyme, fin 2005. Ceregene (San Diego) a testé un vecteur AAV porteur du gène d'un facteur neurotrophique, la neurturine, qui permettrait d'améliorer la survie des neurones et d'augmenter le taux de dopamine (1) ; la phase II arrive à son terme prochainement.

La voie choisie à l'hôpital Henri Mondor de Créteil (APHP) depuis 2003, en collaboration avec la société britannique Oxford BioMedica, pionnière en la matière, consiste à recréer la biosynthèse de la dopamine à partir de la tyrosine et à faciliter la transformation de la L-dopa en insérant dans le même vecteur les gènes des trois enzymes nécessaires. Le vecteur lentiviral utilisé est dérivé d'un virus équin. Oxford BioMedica a réalisé les tests *in vitro*, puis *in vivo* chez le rat, et a montré que le transfert de gènes provoquait bien une sécrétion de dopamine *in situ* (2).

Des travaux complémentaires ont été menés à Créteil et au CEA sur le singe macaque parkinsonien avec les mêmes protocoles que ceux qui étaient imaginés pour l'homme : modèles et stades plus ou moins sévères avec différentes doses, tests sur animal sain, arrêt puis reprise du traitement dopaminergique.

Les résultats ont été évalués à l'aide d'échelles automatisées du comportement par vidéo. Ils montrent une amélioration significative du comportement des animaux, et un effet durable jusqu'à 33 mois chez l'un d'entre eux. L'expression des trois enzymes et la synthèse de dopamine dans le striatum par rapport aux témoins ont été confirmées et l'on a pu montrer que la L-dopa est bien transformée en dopamine.

Des résultats cliniques encourageants

Ces résultats positifs ont conduit à un essai clinique de phase I/II clinique (innocuité/sécurité et efficacité) avec Oxford BioMedica comme promoteur et l'hôpital Henri Mondor et le CEA (pour l'imagerie) comme centres investigateurs. Les patients intégrés dans l'essai clinique actuel sont à un stade avancé de la maladie de Parkinson. Le protocole comprend l'étude de deux doses du produit, le Prosavin. En septembre 2008, trois patients avaient été opérés à un mois d'intervalle. Après trois mois, le comité externe a autorisé le passage à la deuxième dose de Prosavin. Puis viendra une étude contrôlée de phase II incluant 12 patients.

Notre sponsor



Jusqu'à présent, parmi les trois patients opérés, aucun anticorps n'a été détecté et aucun effet indésirable lié au produit de la thérapie génique n'est apparu. À l'imagerie, on ne détecte aucun signe inflammatoire.

(1) W.J. Marks Jr *et al.* (2008) Safety and tolerability of intraputaminial delivery of CERE-120 to patients with idiopathic Parkinson's disease: an open-label, phase I trial, *Lancet Neurology* 7:400-408.

(2) L.F. Wong *et al.* (2006) Lentivirus-mediated gene transfer to the central nervous system: therapeutic and research applications, *Hum Gene Ther.* 17(1):1-9.

Pour en savoir plus

S. Palfi (2008) Towards gene therapy for Parkinson's disease, *Lancet Neurology* 7(5):375-6. Spécial Thérapie génique de la MP, *Exp Neurol.* 2008 Jan, 209(1).

Oxford BioMedica

<http://www.oxfordbiomedica.co.uk/>

<http://www.oxfordbiomedica.co.uk/pdfs/OxfBio%20ProSavin%20FS%20july08.pdf>

L'ischémie sévère des membres inférieurs: de Talisman à Tamaris

Pia DELAÈRE,

Conseiller Scientifique, Évaluation de la sécurité du médicament, Sanofi-aventis

Pia.Delaere@sanofi-aventis.com

L'ischémie sévère des membres inférieurs est une pathologie sévère des personnes âgées qui résulte de l'occlusion d'une ou plusieurs artères de la jambe. Elle est caractérisée par une douleur au repos, évoluant vers la formation d'ulcères sur le membre inférieur, la gangrène, et dans certains cas une amputation mineure (ex : orteil) ou majeure (ex : la jambe). Le pronostic de survie est généralement alarmant. Elle ne bénéficie à ce jour d'aucun traitement pharmacologique efficace. Les seuls traitements actuels sont l'angioplastie, pour dilater les sténoses artérielles et rétablir le flux sanguin, et la chirurgie par pontage « bypass », qui consiste à contourner l'occlusion à l'aide d'une collatérale. Mais les patients ne peuvent en bénéficier que si l'état physiologique de leurs vaisseaux le permet.

Un vecteur non viral

Le vecteur non viral utilisé, NV1FGF, est un plasmide recombinant de très petite taille - pour contenir le moins possible de matériel bactérien - porteur du gène du facteur de croissance fibroblastique de type 1 (FGF1), flanqué d'un promoteur viral. Le vecteur est injecté dans les muscles des membres inférieurs afin de créer localement dans le muscle ischémié des vaisseaux collatéraux. En effet, la protéine FGF1 ainsi exprimée favorise la croissance de nouveaux vaisseaux dans la région traitée. Le NV1FGF est injecté directement (une simple seringue) en solution aqueuse tamponnée.

Le squelette du plasmide est un vecteur propriétaire pCOR (plasmide with Conditional Origin of Replication). Il permet une propagation du plasmide restreinte à une souche *Escherichia coli*, ce qui lui confère un fort indice de sécurité pour la propagation dans l'environnement et pour le patient. De plus, il ne contient pas de gène de résistance aux antibiotiques, système fréquemment utilisé pour sélectionner le plasmide, ce qui lui confère un avantage de sécurité supplémentaire pour les patients.

Le FGF1 est un facteur proangiogénique exprimé après transfection par les cellules du muscle squelettique et exporté dans la matrice extracellulaire. Il agit sur différents types cellulaires, permettant le bourgeonnement des vaisseaux préexistants, la genèse de capillaires, et la formation et la maturation d'artérioles.

Deux modèles probants

L'administration intramusculaire unique du NV1FGF dans le muscle squelettique chez deux modèles animaux a confirmé l'intérêt de cette approche. Dans un modèle lapin de pathologie aiguë, l'administration du plasmide NV1FGF promeut la formation de vaisseaux collatéraux et de capillaires et augmente la reperfusion avec un effet lié à la dose (Witzenbichler *et al.*, *J Mol Med* 2006) ; dans un modèle d'hypercholestérolémie chez le hamster, plus proche de la maladie humaine car la formation spontanée de nouveaux vaisseaux est très ralentie, l'administration du plasmide NV1FGF promeut la formation de vaisseaux collatéraux et d'artérioles (Caron *et al.*, *J Gene Med* 2005).

Notre sponsor



L'innocuité du vecteur a ensuite été démontrée chez l'animal. Les résultats n'indiquent aucune évidence de risque d'intégration du vecteur dans le génome de l'hôte, comme cela a d'ailleurs été démontré pour des vaccins. Ils montrent l'absence de transfert du gène et de son expression dans des organes non cibles. Il n'y a de FGF1 détecté dans la circulation. Les effets secondaires sont restreints au site d'injection. De même, des études conduites sur un modèle animal spécifique ont montré l'absence d'indice de tumorigénicité. Le risque de rétinopathie a également pu être exclu. Toutes ces études non cliniques suggèrent que le traitement est local, sans effets sur des organes autres que le muscle traité.

Plusieurs essais cliniques

Ces résultats ont mené à plusieurs essais cliniques de phase I : PM101 (Comerota et al., *Mol Ther* 2000) ; PM105 (Baumgartner et al., *Circulation* 2005). Ces essais ont suggéré que l'administration du NV1FGF était bien tolérée. Elles ont en outre mis en évidence que l'expression du facteur angiogénique est localisée au point d'injection, ce qui conforte la sécurité du produit.

Des phases II ont suivi, dont l'étude multinationale PM201 appelée TALISMAN. Le traitement consistait en injections intramusculaires du NV1FGF à plusieurs endroits de la jambe : quatre injections au-dessus du genou, quatre au dessous, répétées quatre fois à intervalle de deux semaines. L'évaluation se faisait à six et douze mois. Les résultats sur 125 patients (la moitié environ ayant reçu NV1FGF et l'autre moitié du placebo) ont montré que le traitement réduit significativement, d'un facteur 2, le risque d'amputation majeure et tend à diminuer significativement le risque de mortalité (Nikol et al., *Mol Ther* 2008). Le résumé de plusieurs essais cliniques portant sur plus de 190 patients ayant reçu au moins une injection de NV1FGF montre l'absence de réactions adverses importantes.

Tous ces résultats ont poussé sanofi-aventis à engager un essai pivot de phase III à large échelle, TAMARIS, depuis novembre 2007 afin de confirmer l'efficacité du traitement NV1FGF et sa tolérance, suite aux résultats préliminaires obtenus en phase II (étude Talisman). Il s'agit d'évaluer l'efficacité du NV1FGF en termes d'allongement du délai avant amputation et de réduction de la mortalité. L'objectif est d'inclure 490 patients dans plus de 130 sites d'investigation répartis dans le monde.

Discussion

Odile Cohen-Haguenauer

Le procédé du pCor est très ingénieux en raison de ses caractéristiques de sécurité, et la préparation du vecteur lentiviral d'Oxford BioMedica montre un vrai savoir-faire. A ce sujet combien de patients peuvent-ils être traités par lot ?

Stéphane Palfi

Une dizaine de patients par lot à raison de 250 microlitres par patient.

Quelle est l'origine des recherches de thérapie génique sur l'ischémie des membres inférieurs ?

Pia Delaère

Elle vient de l'idée d'utiliser le FGF1, qui était propriété industrielle de Rhône-Poulenc Rorer, à l'époque de l'explosion de la thérapie génique.

Un participant

La structure des néovaisseaux est-elle similaire aux vaisseaux initiaux ?

Pia Delaère

J'aimerais pouvoir répondre. Il est très difficile de le montrer chez le patient. Chez l'animal, les néovaisseaux sont fonctionnels, et en coupe histologique, ils ont l'apparence de vaisseaux normaux.

Un participant

Les petits néovaisseaux perdurent-ils dans le temps ?

Notre sponsor



Pia Delaère

Une étude publiée voilà plusieurs années avec du VEGF (facteur de croissance de l'endothélium vasculaire) chez une souris double transgénique montre que si l'expression du facteur est supérieure quatre semaines, la formation des vaisseaux est stable.

Un participant

Envisagez-vous de transférer le vecteur pCor pour le traitement d'autres pathologies ?

Pia Delaère

Oui, c'est en cours de réflexion.

Anne-Marie Masquelier

Peut-on imaginer intégrer des patients à un stade plus précoce ?

Pia Delaère

Oui, nous l'envisageons.

Un participant

Quelle est la persistance du plasmide et le taux de transfection ?

Pia Delaère

Dans le muscle squelettique, une étude préclinique montre que l'ADN est encore présent au bout de six mois, ce qui est normal compte tenu du taux de renouvellement faible des cellules du muscle squelettique. Quant au taux de transfection, il n'existe pas de technique assez sensible pour quantifier l'expression du facteur trophique liée au transfert de gène.

Un participant

Avez-vous maintenu le même processus de production entre 2000 et 2008 ?

Pia Delaère

Il faut rendre hommage aux équipes engagées dans la production du NV1FGF. Les processus de purification et de production ont été améliorés tout au long du développement clinique.

Odile Cohen-Haguenauer

Au regard des autres études faites avec des plasmides, par exemple avec un plasmide porteur du gène du VEGF, peut-on envisager des combinaisons de facteurs de croissance qui pourraient être plus efficaces ?

Pia Delaère

Sur le principe, oui, mais il faut d'abord démontrer, en étude de phase III, l'efficacité pour un facteur. Quelles sont les autres pathologies neurodégénératives sur lesquelles la thérapie génique est testée ?

Stéphane Palfi

C'est essentiellement la maladie de Huntington, avec des essais chez le rat et chez le singe. Peut-on résumer où en est la thérapie génique du cancer ?

Odile Cohen-Haguenauer

C'est clairement dans ce domaine que la thérapie génique n'a pas encore pu rencontrer les succès légitimement escomptés pour des raisons évidentes. En effet, dans ce domaine comme dans celui des maladies infectieuses complexes, il est difficile de réussir avec un seul point d'attaque. Seuls des traitements combinés pourront réussir à éradiquer la maladie. Ainsi, il semble difficilement concevable de se passer du concours des agents cytotoxiques. S'agissant des stratégies thérapeutiques faisant intervenir le transfert de gènes, l'action du système immunitaire est essentielle et il faut parvenir à l'éduquer pour lui apprendre à reconnaître comme étrangères, puis à détruire les cellules tumorales. Il faut aussi travailler sur le stroma tumoral pour chercher à inhiber la capacité métastatique des tumeurs et les priver localement de vascularisation sanguine (effet anti-angiogénique).

De plus, en cancérologie, une question éthique importante est posée pour toute nouvelle thérapie, si l'on veut démontrer une efficacité : en effet, si le traitement peut intervenir à un stade précoce de la

Notre sponsor



maladie, alors il existe des chances non négligeables de guérison avec des options thérapeutiques déjà existantes. Un nouveau traitement devra faire la preuve de sa supériorité pour être adopté ; cela nécessite donc des cohortes importantes et du temps d'observation sans rechute (par exemple cinq ans), afin d'en faire la preuve statistique.

A l'inverse, il paraît peu probable d'observer des succès majeurs de la thérapie génique à un stade trop avancé de la maladie où une approche systémique est indispensable et le système immunitaire est débordé, passé le stade des micrométastases. Des essais thérapeutiques de premier intérêt, dont certains en phase III, sont en cours dans le glioblastome, avec pour l'un d'entre eux, une demande d'autorisation de mise sur le marché en cours d'examen au niveau européen (société finlando-britannique Ark-Therapeutics).

Nous ne sommes donc pas sans ressources dans le domaine d'importance majeure que représente les maladies malignes, mais ici, comme pour d'autres pathologies et comme l'a souligné Patrice Denèfle, il faut du temps pour que la recherche et ses développements cliniques parviennent à des succès déterminants.

Patrice Denèfle

Les deux dernières présentations, qui illustrent la qualité actuelle des produits, l'évolution des méthodologies et l'utilité de l'engagement d'un industriel soulignent bien l'importance de la maturation des innovations technologiques. En thérapie génique, on est passé en dix ou quinze ans de vecteurs expérimentaux et de preuves de concept de laboratoires à de vrais candidats médicaments. C'est sans doute en cela que l'on peut parler d'un certain renouveau.

Prochaine Transversale Santé :

Cancer : de nouvelles pistes thérapeutiques

Le 14 octobre 2008 à 18h30

SUP BIOTECH
66 rue Guy Moquet 94800 Villejuif

Métro : Ligne 7 : Villejuif Paul Vaillant Couturier

[\[Inscription\]](#)

<http://www.parisdeveloppement.com/la-technopole-parisienne/3-poles-innovants/pole-sante/les-transversales-sante/inscription.html>

Notre sponsor



Notre sponsor

