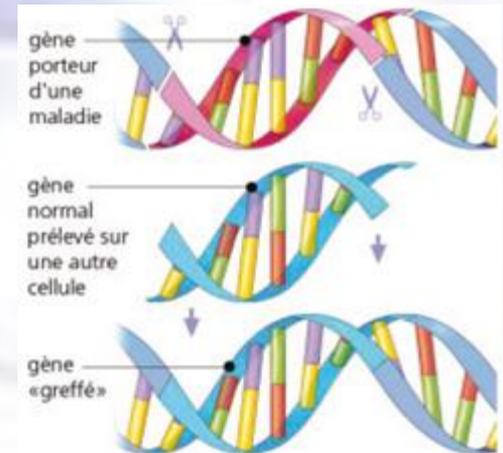
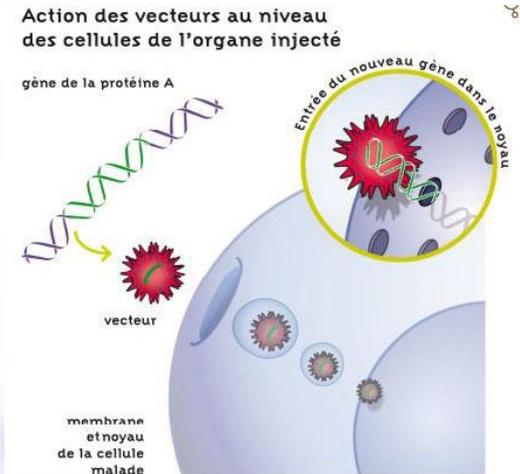


Thérapie génique dans la vraie vie

Les questions à se poser



Laurent Frenzel MD, PhD
Immuno-hématologie Adulte
Centre de traitement de l'hémophile
Centre National de Référence des Mastocytoses
Hôpital Necker Paris
Institut Imagine Paris

Subventions/soutien à la recherche : Shire / Pfizer / CSL
Behring

Bureau des conférenciers/honoraires : Novonordisk / Pfizer /
Sobi

Frais de consultation : Non

Autres : Non

SOMMAIRE

les thématiques

1. Pour quels patients ?
2. Comment la prendre en charge au quotidien ?
3. On peut faire mieux ?
4. Conclusion

La thérapie génique
Pour quels patients ?

➤ Selon vous, pour quelles maladies avons-nous des possibilités de thérapie génique en 2018 ?

1. *Hémophilie A*
2. *Maladie de Willebrand*
3. *Thalassemie / drépanocytose*
4. *Hémophilie B*
5. *Thrombasthenie de Glanzmann*
6. *Déficits immunitaires congénitaux sévères*

La thérapie génique
Pour quels patients ?

➤ Selon vous, pour quelles maladies avons-nous des possibilités de thérapie génique en 2018 ?

1. **Hémophilie A**
2. *Maladie de Willebrand*
3. **Thalassemie / drépanocytose**
4. **Hémophilie B**
5. **Thrombasthenie de Glanzmann**
6. **Déficits immunitaires congénitaux sévères**

La thérapie génique
Pour quels patients ?

- Pour l'hémophilie A et B, pour quelle type de sévérité avons-nous des résultats en 2018 ?
1. *Tout type de sévérité*
 2. *Sévère uniquement (<1% de facteur VIII ou IX)*
 3. *Modérée uniquement (entre 1 et 5%)*
 4. *Mineure uniquement (entre 6 et 40%)*
 5. *Sévère et modérée*
 6. *Modérée et mineure*

La thérapie génique
Pour quels patients ?

➤ Pour l'hémophilie A et B, pour quelle type de sévérité avons-nous des résultats en 2018 ?

1. *Tout type de sévérité*
2. **Sévère uniquement (<1% de facteur VIII ou IX)**
3. *Modérée uniquement (entre 1 et 5%)*
4. *Mineure uniquement (entre 6 et 40%)*
5. **Sévère et modérée (<2% de facteur IX)**
6. *Modérée et mineure*

La thérapie génique *Pour quels patients ?*

➤ Quels déficits en coagulation ?

- **Hémophilie B** (Nathwani et al., NEJM 2014 ; Georges LA, plenary session ASH 2016, Blood mars 2018)
- **Hémophilie A** (Pasi KJ., LBA01 ISTH Berlin 2017)
- Willebrand ? (ISTH 2017)
- Autres déficits ?
- Thrombopathie ? (*expérience en drépa/thal ...*)

➤ Quelles sévérités ?

- **Sévères**
- *Modérés / mineurs ?*

La thérapie génique
Pour quels patients ?

➤ Est-ce que la thérapie génique en hémophilie A ou B peut être proposée quelque soit l'antécédent ou le titre d'inhibiteur ?

1. *Oui cela n'a aucun impact puisqu'il s'agit de facteur « endogène »*
2. *On peut le proposer que si le titre d'inhibiteur est bas (<5UI B)*
3. *On n'a aucune donnée pour l'instant dans les études cliniques*
4. *On peut mais que pour les hémophiles B*
5. *Oui mais on continue la tolérance immune*
6. *Pas d'avis*

La thérapie génique
Pour quels patients ?

➤ Est-ce que la thérapie génique en hémophilie A ou B peut être proposée quelque soit l'antécédent ou le titre d'inhibiteur ?

1. *Oui cela n'a aucun impact puisqu'il s'agit de facteur « endogène »*
2. *On peut le proposer que si le titre d'inhibiteur est bas (<5UI B)*
3. ***On n'a aucune donnée pour l'instant dans les études cliniques***
4. *On peut mais que pour les hémophiles B*
5. *Oui mais on continue la tolérance immune*
6. *Pas d'avis*

La thérapie génique *Pour quels patients ?*

➤ Patients avec inhibiteurs ?

- Pour toutes les études de thérapie génique en hémophilie = **exclusion des patients avec inhibiteurs** (même ATCD)
- Dans la « vraie vie » :
 - **Hémophile B avec inhibiteur (1 à 6% des patients HB) = CI à priori absolue**
 - **Hémophilie A avec inhibiteur (env 30% des patients HA)**
 - Echec ITI (50% soit 10 à 15 % des patients HA) = **A priori non**
 - Réussite ITI (idem 10 à 15% HA) = **A discuter ?** (réaction immunitaire liée au virus peut relancer l'inhibiteur ?)

La thérapie génique
Pour quels patients ?

➤ Est-ce que la thérapie génique en hémophilie A ou B peut être proposée dans un contexte de VIH ou d'hépatites B/C ?

1. *Non dans tous les cas*
2. *Oui pour le VIH si le taux de CD4 est bon et qu'on ne détecte plus le virus dans le sang (charge virale indetectable)*
3. *Oui pour l'hépatite B et C dans tous les cas car on a des traitements efficaces aujourd'hui*
4. *Non pour les hépatites B et C peu importe le statut d'activité*
5. *Oui pour les hépatites B/C si maladie inactive avec ou sans traitement*
6. *Pas d'avis*

La thérapie génique
Pour quels patients ?

➤ Est-ce que la thérapie génique en hémophilie A ou B peut être proposée dans un contexte de VIH ou d'hépatites B/C ?

1. *Non dans tous les cas*
2. *Oui pour le VIH si le taux de CD4 est bon et qu'on ne détecte plus le virus dans le sang (charge virale indetectable)*
3. *Oui pour l'hépatite B et C dans tous les cas car on a des traitements efficaces aujourd'hui*
4. *Non pour les hépatites B et C peu importe le statut d'activité*
5. *Oui pour les hépatites B/C si maladie inactive mais uniquement sans traitement*
6. *Pas d'avis*

La thérapie génique *Pour quels patients ?*

➤ *Infections chroniques ?*

- **VIH ?** Dans les études, critères d'exclusion si $CD4 < 350/mm^3$; charge virale > 200 copies/mL ; changement de traitements dans les 6 mois
- **VHB ?** Dans les études, exclusion si en cours de traitements ou Ag Hbs +
- **VHC ?** Dans les études, exclusion si charge virale détectable

La thérapie génique
Pour quels patients ?

- Est-ce que vous pensez que l'immunité contre les adénovirus est un facteur limitant ?
1. *Non pas du tout car il s'agit d'un virus très rare que l'on rencontre jamais*
 2. *Peut être que l'on peut le rencontrer mais aucun impact sur la thérapie génique*
 3. *Peut être qu'il existe différents types d'adénovirus (appelé sérotype) et que l'immunité dépend de cela*
 4. *Cela peut avoir un impact sur la thérapie génique*
 5. *On peut donner un traitement avant s'il y a une immunité*
 6. *On peut vacciner*

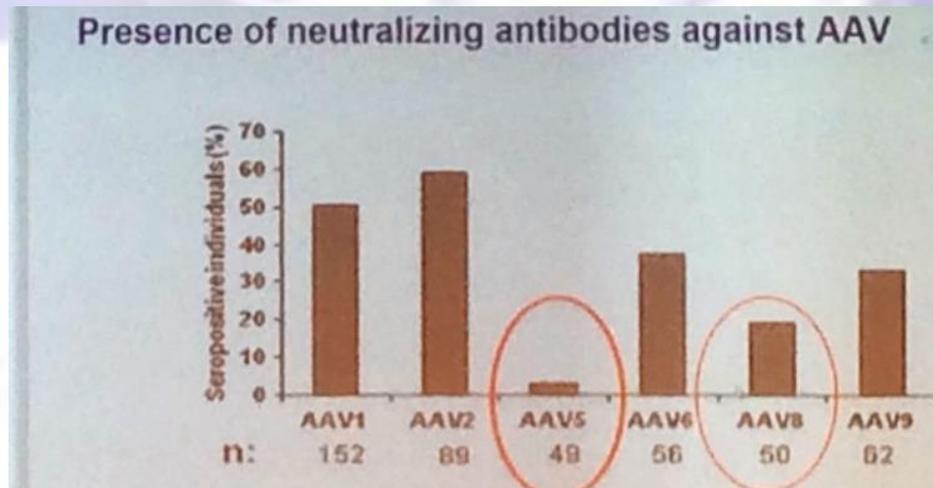
La thérapie génique
Pour quels patients ?

- Est-ce que vous pensez que l'immunité contre les adénovirus est un facteur limitant ?
1. *Non pas du tout car il s'agit d'un virus très rare que l'on rencontre jamais*
 2. *Peut être que l'on peut le rencontrer mais aucun impact sur la thérapie génique*
 3. ***Peut être qu'il existe différents types d' adénovirus (appelé sérotype) et que l'immunité dépend de cela***
 4. ***Cela peut avoir un impact sur la thérapie génique***
 5. *On peut donner un traitement avant s'il y a une immunité*
 6. *On peut vacciner*

La thérapie génique Pour quels patients ?

➤ Immunisation adénovirus ?

- Dans les études, exclusion si anticorps neutralisant anti AAV titre > 1,5 (sauf certaines études à venir)
- Prévalence générale de l'immunisation neutralisante contre les AAV
 - AAV-2 (intramusculaire) = >70% d'immunisation AAV-8 ?
 - AAV8 > 20% d'immunisation (études en cours)
 - AAV-5 = 5%
 - Cross réactivité avec d'autres isotypes chez l'homme ?



SOMMAIRE

La thérapie génique en hémophilie ...

1. Pour quels patients ?
2. Au quotidien, comment cela se passe ?

La thérapie génique
Au quotient, comment ca se passe ?

➤ Comment administre-t-on la thérapie génique ?

1. *Par une ponction dans le foie*
2. *Par une greffe de moelle osseuse*
3. *Par une injection intraveineuse en continue pendant plusieurs jours*
4. *Par une injection intraveineuse sur 1 heure et ensuite on rentre à la maison le soir même*
5. *Par voie sous cutanée*
6. *En faite, ca n'existe pas vraiment ...*

La thérapie génique
Au quotient, comment ca se passe ?

➤ Comment administre-t-on la thérapie génique ?

1. *Par une ponction dans le foie*
2. *Par une greffe de moelle osseuse*
3. *Par une injection intraveineuse en continue pendant plusieurs jours*
4. ***Par une injection intraveineuse sur 1 heure et ensuite on rentre à la maison le soir même***
5. *Par voie sous cutanée*
6. *En faite, ca n'existe pas vraiment ...*

La thérapie génique
Au quotient, comment ca se passe ?

➤ Après l'injection, quels peuvent être les effets secondaires?

1. *Il y a toujours de la fièvre*
2. *Des douleurs insupportables*
3. *Des réactions allergiques*
4. *Aucun*
5. *Une prise de poids*
6. *Un changement de comportement*

La thérapie génique
Au quotient, comment ca se passe ?

➤ Après l'injection, quels peuvent être les effets secondaires?

1. *Il y a toujours de la fièvre*
2. *Des douleurs insupportables*
3. ***Des réactions allergiques***
4. ***Aucun***
5. *Une prise de poids*
6. *Un changement de comportement*

La thérapie génique

Au quotient, comment ca se passe ?

➤ Administration de l'AAV modifié

- Par voie IV sur 1 à 2 heures
- Surveillance en milieu hospitalier pendant 24 heures
- Nécessite un recyclage particulier des fluides ... *par autoclavage*

➤ Surveillance biologique et clinique:

- Selon les protocoles cliniques :
 - Surveillance 1 à 2x/semaine pdt 12 semaines puis tous les mois pendant 1 an
 - Biologie : biochimie + FVII/FIX bihebdo + Inhibiteurs/anti-AAV bimensuels ...
- Dans la vraie vie ...
 - Risque d'inhibiteur = à priori nul
 - Risque de cytolysse hépatique = entre 5 et 10 semaines
 - Efficacité du traitement sur le facteur VIII ou IX ?

= *Bilan hebdo les 3 premiers mois puis 1x/mois pdt 1an puis tous les 2 à 3 mois*

La thérapie génique
Au quotient, comment ca se passe ?

- On m'a parlé de « cytolysse hépatique » après l'injection. En faite de qu'est ce que c'est exactement ?
 1. *Une disparition immédiate du foie*
 2. *Des douleurs du foie insupportables*
 3. *Après ca, le foie de fonctionnera plus jamais bien*
 4. *C'est obligatoire après l'injection*
 5. *Doit nécessiter, dans certains cas, la prise de corticoïdes*
 6. *Peut rendre inefficace la thérapie génique*

La thérapie génique
Au quotient, comment ca se passe ?

➤ On m'a parlé de « cytolysse hépatique » après l'injection. En faite de qu'est ce que c'est exactement ?

1. *Une disparition immédiate du foie*
2. *Des douleurs du foie insupportables*
3. *Après ca, le foie de fonctionnera plus jamais bien*
4. *C'est obligatoire après l'injection*
5. ***Doit nécessiter, dans certains cas, la prise de corticoïdes***
6. ***Peut rendre inefficace la thérapie génique***

La thérapie génique

Au quotient, comment ca se passe ?

➤ Cytolyse hépatique

- Dépend de la charge virale (jusqu'à 80% des patients selon protocole)
- Diminue l'efficacité de la transfection et donc du FVIII/FIX résiduel
- Nécessite des CTC si transaminase > à 1,5N
 - 1ere semaine : 60 mg/j
 - 2eme semaine : 40 mg/j
 - 3eme et 4eme semaine : 30 mg/j

➤ Autres

- « Leucémogène » / autres cancers : non documentés avec AAV

La thérapie génique
Au quotient, comment ca se passe ?

➤ Et après l'injection, comment je vais gérer mon traitement habituel et ma vie de tous les jours ?

1. *Ca y est, je suis obligatoirement complètement guéri de l'hémophilie*
2. *Je pourrais toujours utiliser mes facteurs si besoin mais j'en aurai certainement beaucoup moins besoin*
3. *Je n'aurai plus jamais besoin d'aller voir mon médecin hémophilologue préféré ...*
4. *Ma qualité de vie sera certainement meilleure*
5. *Je pourrais refaire toutes les activités que je ne pouvais plus en raison des douleurs articulaires*
6. *Il faudra que je fasse attention et que je protège scrupuleusement mon foie*

La thérapie génique
Au quotient, comment ca se passe ?

➤ Et après l'injection, comment je vais gérer mon traitement habituel et ma vie de tous les jours ?

1. *Ca y est, je suis obligatoirement complètement guéri de l'hémophilie*
2. ***Je pourrais toujours utiliser mes facteurs si besoin mais j'en aurai certainement beaucoup moins besoin***
3. *Je n'aurai plus jamais besoin d'aller voir mon médecin hémophilologue préféré ...*
4. ***Ma qualité de vie sera certainement meilleure***
5. *Je pourrais refaire toutes les activités que je ne pouvais plus en raison des douleurs articulaires*
6. *Il faudra que je fasse attention et que je protège scrupuleusement mon foie*

➤ Efficacité et traitements complémentaires par concentrés en FVIII/FIX

- Hémophilie B : scAAV2/8-LP1-hFIXco (Nathwany et al., NEJM 2014)
 - Follow-up de 3 ans (10 patients)
 - Entre 1 à 6 % de FIX = **Hémophilie modérée**
 - **Plus de prophylaxie**
 - **FIX si traumatismes ou intervention chirurgicale**
- Hémophilie B : SPK-9001 / AAV8-hFIX Padua (George LA, NEJM 2017)
 - Follow up 12 semaines (7/9 patients)
 - Entre 12 et 46 % de FIX = **Hémophilie mineure**
 - **Plus de prophylaxie**
 - **FIX si traumatismes majeures ou intervention chirurgicale**
- Hémophilie A : AAV5-FVIII (Pasi KJ, LBA1.1 ISTH 2017)
 - Follow up 1 an (7 patients doses intermediaires)
 - Mediane de 89 % de FVIII à 1 an
 - **Plus d'hémophilie**

SOMMAIRE

les thématiques

1. Pour quels patients ?
2. Comment la prendre en charge au quotidien ?
3. On peut faire mieux ?

La thérapie génique
On peut mieux faire, mais pourquoi ?

➤ Quelques mois après l'injection, la thérapie génique n'est plus efficace. Que fait-on ?

1. *Ca n'arrive jamais*
2. *C'est parce que j'ai développé une immunité antivirale dirigée contre la thérapie génique*
3. *C'est pas grave, on pourrais toujours me refaire la même injection*
4. *Je pourrais utiliser mon traitement d'avant*
5. *On pourra peut être me proposer une nouvelle thérapie génique avec un autre virus*
6. *Je pourrais utiliser d'autres thérapeutiques*

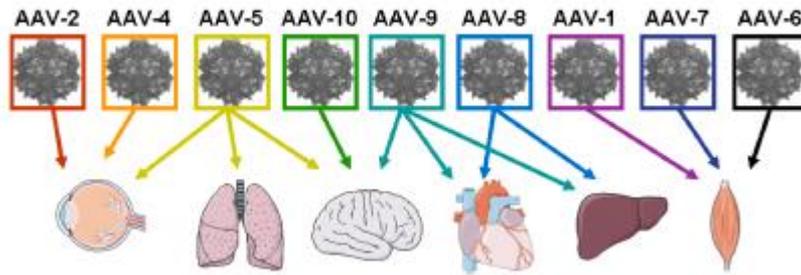
La thérapie génique
On peut mieux faire, mais pourquoi ?

➤ Quelques mois après l'injection, la thérapie génique n'est plus efficace. Que fait-on ?

1. *Ca n'arrive jamais*
2. ***C'est parce que j'ai développé une immunité antivirale dirigée contre la thérapie génique***
3. *C'est pas grave, on pourrais toujours me refaire la même injection*
4. ***Je pourrais utiliser mon traitement d'avant***
5. ***On pourra peut être me proposer une nouvelle thérapie génique avec un autre virus***
6. ***Je pourrais utiliser d'autres thérapeutiques***

Comment l'optimiser ? *Choix du virus*

➤ Tropisme des différents AAV



➤ Pourquoi choisir un tropisme d'AAV plutôt hépatique ?

- Production des facteurs par l'hépatocyte : **ok pour FIX ; +/- FVII**
- Permet un contrôle « facile » de l'activité immunitaire contre l'AAV (*cytolyse hépatique*)
- **AAV8**, AAV9 et **AAV10** (93 % d'homologie avec l'AAV8)

➤ Peut on réinjecter en cas de baisse d'efficacité de la thérapie génique (la « DLI » de la thérapie génique ...)

- A priori près de 100 % d'immunisation après l'injection
- Tout les anticorps sont-ils neutralisant ?
- Peut on changer d'AAV ? (Problème de crossreactivité ...)

La thérapie génique
On peut mieux faire, mais pourquoi ?

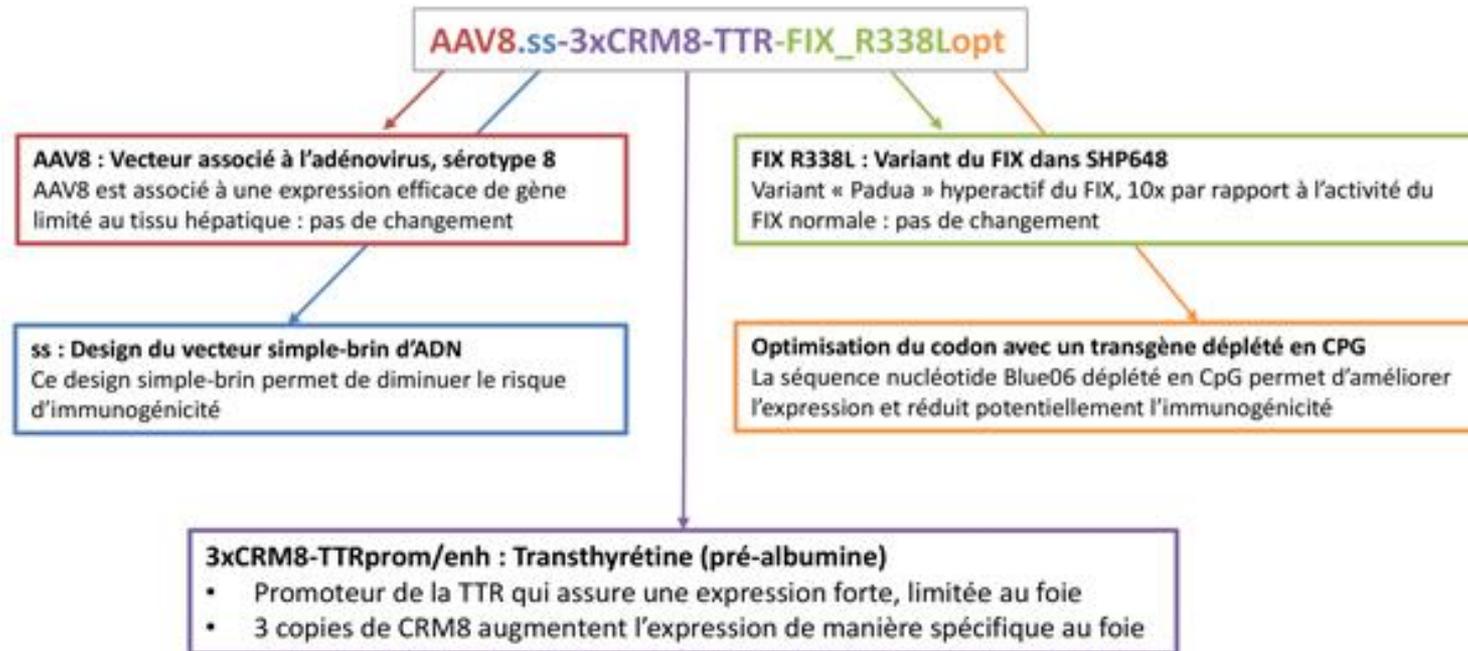
- Si j'ai bien compris, le problème est l'élimination du virus de la thérapie génique par mon système immunitaire. Est-ce qu'on peut faire quelque chose pour éviter cela ?
1. *De me donner juste le gène de l'hémophilie qui est modifié sans le virus*
 2. *D'essayer de trouver un moyen de me donner le moins de virus possible tout en restant très efficace*
 3. *D'utiliser des virus moins immunogènes*
 4. *D'utiliser un vaccin avant le traitement*
 5. *D'utiliser des traitements immunosuppresseurs*
 6. *D'essayer de me faire une tolérance immune*

La thérapie génique
On peut mieux faire, mais pourquoi ?

- Si j'ai bien compris, le problème est l'élimination du virus de la thérapie génique par mon système immunitaire. Est-ce qu'on peut faire quelque chose pour éviter cela ?
- 1. *De me donner juste le gène de l'hémophilie qui est modifié sans le virus*
- 2. ***D'essayer de trouver un moyen de me donner le moins de virus possible tout en restant très efficace***
- 3. ***D'utiliser des virus moins immunogènes***
- 4. *D'utiliser un vaccin avant le traitement*
- 5. *D'utiliser des traitements immunosuppresseurs*
- 6. *D'essayer de me faire une tolérance immune*

Comment l'optimiser ? *rendre le vecteur moins immunogène*

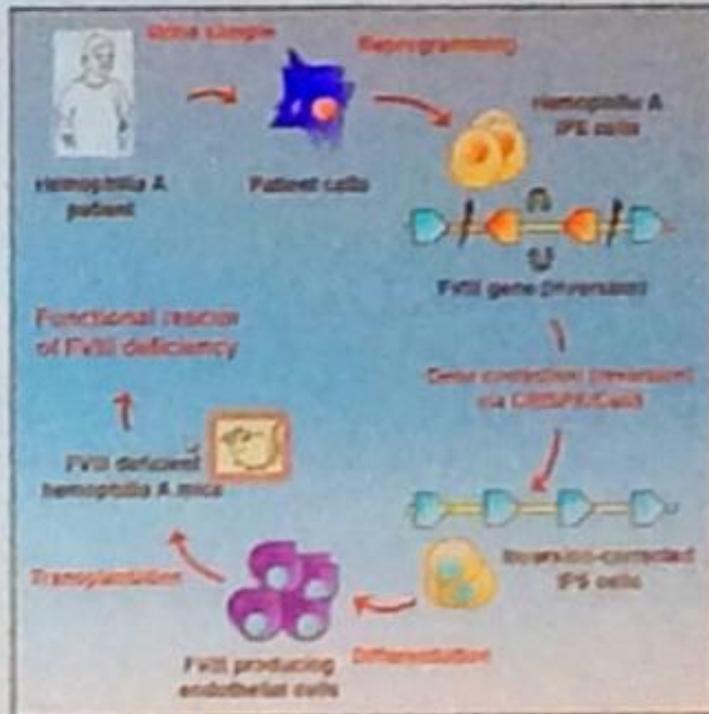
- Plusieurs niveaux d'action possible sur le vecteur
- Exemple modélisation (H. Rottensteiner ISTH 2017)



Abréviation : TTR, Transthyréline

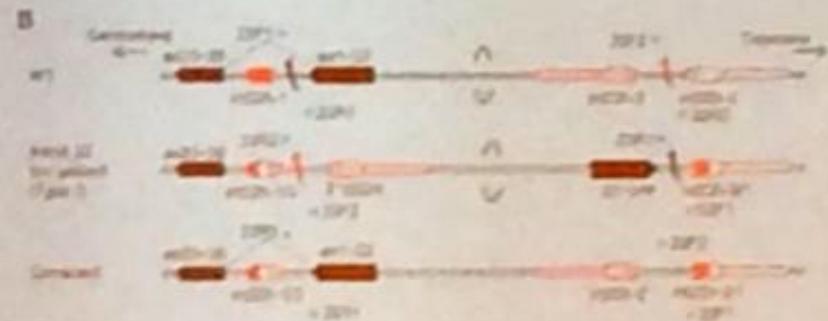
Comment l'optimiser ? être hyper précis dans le génome

CRISPR/Cas9 genome editing



Highlights

- CRISPR-Cas9 and targeted sgRNAs can revert large inversions in hemophilia A iPSCs
- Endothelial cells derived from corrected iPSCs express correctly spliced Factor VIII
- Transplantation of corrected iPSCs can rescue injury mortality in hemophilic mice
- Whole-genome and targeted deep sequencing did not detect off-target mutations



Park CY, et al. Cell Stem Cell 2015

SOMMAIRE

La thérapie génique en hémophilie ...

1. Pour quels patients ?
2. Comment la prendre en charge au quotidien ?
3. Comment l'optimiser ?
4. Conclusion

Conclusion

thérapie génique dans l'hémophilie en 2017

- Pas pour tous les patients
 - Addition inhibiteur + immunisation AAV préexistante + comorbidités
 - **Environ un tiers des patients hémophile A**
 - **Environ la moitié des patients hémophile B**
- Gestion en pratique courante facile
- Problème immunisation post administration
 - Amélioration des vecteurs = moins immunogène
 - Mettre moins de vecteurs
- Expérience hors protocole très limitée