

JULIETTE BEAUVOIS

ESSAIS CLINIQUES «FIRST IN MAN», APPLICATION CLINIQUE DE LA MÉTHODE D'ÉDITION DU GÉNOME CRISPR/CAS9.

A L'HEURE ACTUELLE, COMMENT LA RECHERCHE CLINIQUE EN FRANCE/EUROPE/MONDE
PEUT-ELLE ENCADRER L'APPLICATION CLINIQUE DE CRISPR/CAS9 ?



Crédit image : Genome Research Limited <https://www.yourgenome.org/facts/what-is-genome-editing>

Sous la direction du Pr. Marie-Pierre Leterme-Flament

Date de la Soutenance : *Mardi 9 Octobre 2018 à 14h00*

Composition du jury :

-Président du jury : Dr M. Lambert

-Directeur de Mémoire : Professeur Marie-Pierre Leterme-Flament

-3^{ème} Membre de jury : Madame Selvete Bega

Année Universitaire 2017 - 2018

Faculté Ingénierie et Management de la Santé - ILIS

42, rue Ambroise Paré

59120 LOOS

REMERCIEMENTS

“Un seul mot, usé, mais qui brille comme une vieille pièce de monnaie : merci !”

(Pablo Neruda)

Je tiens à adresser mes premiers remerciements à Madame Marie-Pierre Leterme-Flament, Professeur à l’Université de Lille, pour avoir accepté de remplir le rôle de directeur de mémoire et d’avoir pris tout le temps nécessaire afin de m’épauler dans la tâche complexe qu’est l’écriture du mémoire de fin d’études.

Merci à Madame Selvete Bega d’avoir accepté d’être membre du jury de soutenance, et au Dr. Marc Lambert, pour la présidence de ce jury.

Je remercie également toute l’équipe pédagogique et professionnelle de l’ILIS responsable du Master 2 Healthcare Business - Recherche Clinique, et plus généralement toutes les personnes intervenant sur l’ensemble du parcours universitaire au sein l’ILIS. L’ILIS offre l’opportunité unique de suivre un parcours avec des enseignements et des spécialisations de hautes qualités tout en nous plongeant dans le monde professionnel au travers de plusieurs stages et d’un contrat d’Alternance. Grâce à l’ILIS nous développons une réelle capacité d’adaptabilité, ce qui est une forte valeur ajoutée dans le monde actuel du travail.

Merci également au Dr. Nicolas Ferry, ancien membre de l’EMA spécialisé en thérapie innovante, ancien membre de l’INSERM et de l’ANSM et créateur de NF consulting, qui a répondu à ma requête durant l’écriture de ce mémoire. Au vu de son expertise dans le domaine des thérapies innovantes, sa réponse précieuse a ainsi conforté la réflexion réglementaire présentée dans la partie III de ce mémoire.

Je remercie ensuite la CRO Adhoc Clinical située à Ypres, où j’ai effectué mes stages dans le domaine de la promotion en recherche Clinique depuis la Licence 3. Cette expérience professionnelle m’a permis d’accumuler les connaissances et les compétences nécessaires pour devenir Attachée de Recherche Clinique en promotion.

Enfin, merci à mes parents et à Pierre, qui m’ont donné tout les moyens nécessaires et apporté un soutien sans faille tout au long de mon parcours universitaire.

SOMMAIRE

Remerciements	3
Sommaire	4
Glossaire	5
Liste des abréviations	7
Introduction	8
PARTIE I - La méthode d'édition du génome* CRISPR/Cas9, une thérapie génique particulière.....	10
PARTIE II - Contexte réglementaire des essais cliniques first-in-man utilisant CRISPR/Cas9	19
PARTIE III - Impacts organisationnels de l'utilisation d'un OGM thérapeutique lors d'un essai clinique	32
PARTIE IV - Discussion	51
Conclusion	56
Bibliographie	57
Table des matières	62
Tables des illustrations	65
Tables des annexes	66

GLOSSAIRE

L'ensemble des termes définis ci-dessous sont indiqués dans le corps du texte à l'aide d'une astérisque (*).

Terme	Définition
Acides nucléiques	Selon l'encyclopédie « Larousse Médical », il s'agit de la substance chimique portant, dans chaque cellule, les instructions héréditaires codées qui permettent le développement de l'organisme. Il existe deux types d'acides nucléiques : l'acide désoxyribonucléique (A.D.N.) et l'acide ribonucléique (A.R.N.). Dans toutes les cellules végétales et animales, c'est l'A.D.N. qui détient les instructions génétiques codées ; l'A.R.N. contribue à leur transfert et à leur traduction pour organiser la synthèse des protéines. [1]
Allogénique	Par opposition au terme « Autologue » défini ci-dessous, allogénique se dit de cellules, tissus ou organe dont le donneur n'est pas le même individu que le receveur. Les deux individus appartenant cependant à la même espèce.
Autologue	Se dit d'un tissu ou de cellules provenant de son organisme à soi et administrés à soi. Le donneur et le receveur sont la même personne. [2]
Bases nucléiques (ou bases azotées)	Les bases nucléiques sont les unités composant les rubans d'ADN et d'ARN. Il en existe 5 : Adénine, Cytosine, Guanine, Thymines, et l'Uracile (qui est uniquement présente dans l'ARN).
Béta-Thalassémie	Selon Orphanet, il s'agit d'une maladie génétique de l'hémoglobine, substance contenue dans les globules rouges du sang qui permet de transporter l'oxygène à travers le corps. Les formes les plus sévères se caractérisent par une anémie nécessitant des transfusions sanguines régulières.
Cellule germinale	Cellule à l'origine des cellules reproductrices (spermatozoïdes et ovules) .
Cellule somatique	Toutes les cellules de l'organisme sauf les cellules germinales.
Code génétique	Selon l'encyclopédie « Larousse médical », il s'agit de l'ensemble des mécanismes grâce auxquels l'information génétique est inscrite dans la molécule d'A.D.N. qui constitue le gène (A.R.N. dans quelques virus), puis transcrite en A.R.N. messager, et, enfin, traduite en protéines. [3]
Demi-vie	Temps nécessaire pour que, après l'administration d'un médicament, sa concentration plasmatique diminue de moitié. [4]
Embryogenèse	Selon l'encyclopédie Larousse, développement de l'individu vivant, depuis sa première cellule (zygote) jusqu'à la vie libre (éclosion de l'œuf, germination de la graine, etc.) [5]
Enzyme	Une enzyme est une protéine qui catalyse les réactions biochimiques du métabolisme. Les enzymes agissent sur les molécules dites substrats et permettent le développement des divers processus cellulaires. [6]
Eucaryotes	Selon le dictionnaire Larousse, se dit d'un organisme dont le noyau cellulaire est séparé du cytoplasme par une membrane. [7]
Ex vivo	Se dit des expérimentations effectuées sur des cellules ou tissus en culture. [8]
Génome	Selon l'encyclopédie Larousse, ensemble du matériel génétique, c'est-à-dire des molécules d'ADN, d'une cellule ou d'une espèce. [5]
Huntington (Maladie de)	Héréditaire, actuellement incurable, la maladie de Huntington est associée à la dégénérescence de neurones d'une partie du cerveau impliqués dans des fonctions motrices, cognitives et comportementales. [9]

In vitro	Se dit des réactions chimiques, physiques, immunologiques ou de toutes les expériences et recherches pratiquées au laboratoire, en dehors d'un organisme vivant. [10]
In vivo	Se dit des réactions chimiques, physiques ou des interventions pratiquées sur l'être vivant. [11]
Myopathie de Duchenne	La myopathie de Duchenne, ou dystrophie musculaire de Duchenne, est une maladie génétique provoquant une dégénérescence progressive de l'ensemble des muscles de l'organisme. [12]
Pharmacovigilance	La pharmacovigilance est la surveillance des médicaments et la prévention du risque d'effet indésirable résultant de leur utilisation, que ce risque soit potentiel ou avéré. [13]
Phénylcétonurie	La phénylcétonurie (PCU) est la plus commune des anomalies innées du métabolisme, elle est caractérisée par un déficit mental léger à sévère chez les patients non traités. [14]
Procaryotes	Selon l'encyclopédie Larousse, se dit d'un organisme dont le noyau cellulaire n'est jamais entouré d'une membrane nucléaire, mais est mêlé au cytoplasme. Les procaryotes regroupent les bactéries et les cyanobactéries. Leur matériel génétique est le plus souvent réduit à un chromosome unique. [15]
Promoteur	Conformément à l'article L. 1121-1 du code de la santé publique, personne physique ou morale qui prend l'initiative d'une recherche biomédicale sur l'être humain, qui en assure la gestion et qui vérifie que son financement est prévu.
Protéine	Selon le dictionnaire Larousse, macromolécule constituée par l'association d'acides aminés unis entre eux par une liaison peptidique. [16]
Sociétal	Qui se rapporte aux divers aspects de la vie sociale des individus, en ce qu'ils constituent une société organisée. [17]
Transhumanisme	Repose sur la conviction qu'une évolution voulue, orientée, choisie de l'espèce humaine est désormais possible, en s'appuyant sur des techniques nouvelles qui permettent d'intervenir non seulement sur l'individu mais aussi, à travers lui, sur l'espèce. [18]

TABLE DES ABRÉVIATIONS

ADN	: Acide Désoxyribonucléique
AMM	: Autorisation de Mise sur le Marché
ANSM	: Agence Nationale de la Sécurité du Médicament et des produits de santé
ARN	: Acide Ribonucléique
ARRIGE	: Association for Responsible Research and Innovation in Genome Editing
BPC	: Bonnes Pratiques Cliniques
CCNE	: Comité Consultatif National d'Éthique
CE	: Commission Européenne
CIB	: Comité International de Bioéthique
CPP	: Comité de Protection des Personnes
CRISPR	: Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats
CSI	: Comité de Surveillance Indépendant
DASRI	: Déchets d'Activités de Soins à Risques Infectieux
EIG	: Evénement Indésirable Grave
GCP	: Good Clinical Practices
HCB	: Haut Conseil des Biotechnologies
ILIS	: Faculté d'Ingénierie et Management de la Santé de Lille
INSERM	: Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale
MERI	: Ministère de l'Enseignement supérieur, de la Recherche et de l'Innovation
MTI	: Médicament de Thérapie Innovante
MTI-PP	: Médicament de Thérapie Innovante - Préparé Ponctuellement
OGM	: Organisme Génétiquement Modifié
TALEN	: Transcription Activator Like Effector Nucleases
UE	: Union Européenne
UNESCO	: United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization

INTRODUCTION

L'apparition de la vie sur terre il y a 3,5 milliards d'années est indissociable de celle des acides nucléiques* : ADN et ARN. Les propriétés du vivant (reproduction, croissance et évolution) sont liées à ces acides nucléiques*. [19] Ils sont le support de notre code génétique*, permettant la synthèse de protéines*, la croissance cellulaire, l'embryogenèse*, le fonctionnement des organes, le vieillissement ... [19] C'est l'association des acides nucléiques* avec une base protéique appelée histone, qui forme les chromosomes circulaires chez les procaryotes* et les chromosomes linéaires chez les eucaryotes*. [19]

La majorité des cellules d'un être vivant contiennent dans leur noyau le génome*. Le génome* correspond à l'ensemble des gènes d'un être vivant ou d'une espèce. Il est synonyme de patrimoine génétique ou patrimoine héréditaire. Le génome* se matérialise au travers des chromosomes. Les chromosomes sont en effet porteur de l'information génétique étant constitués d'une longue molécule d'ADN (Acide DésoxyriboNucléique). Autrement dit, notre génome* contient en son architecture les marques de l'évolution, et il est la preuve de la diversité entre les espèces et les humains. [19]

L'essor de la génétique a ouvert de nouvelles portes quant à nos capacités à porter des diagnostics, dans les maladies génétiques et également pour les cancers héréditaires. [19] Par ailleurs, le potentiel en terme d'innovations scientifiques croît de façon exponentielle en raison des avancées technologiques qui permettent d'aller toujours plus loin dans la recherche scientifique et l'innovation. La science est un élargissement du champ des libertés et du champ des possibles. [20]

En 2012, Pr. J. Doudna et Pr. E. Charpentier ont co-inventé une méthode capable d'éditer le génome* : il s'agit de la **méthode CRISPR/Cas9**. Cette technologie permet aux scientifiques de faire des changements dans l'ADN des cellules. Il y a déjà plusieurs applications en recherche fondamentale, et en recherche clinique chez des patients grâce à la mise en place d'essais cliniques « first in man », ou autrement dit, de première administration chez l'homme. [21]

Bien qu'ayant un fort potentiel pour les patients et pour l'industrie pharmaceutique, ces nouvelles possibilités concernant l'utilisation de la méthode en médecine, soulèvent

d'importants problèmes éthiques que nous devons considérer, cette technologie n'étant pas seulement applicable aux cellules somatiques*, mais également aux cellules germinales* des organismes, notamment de notre propre espèce. Il n'existe pas encore de réglementation spécifique pour l'application clinique de l'édition du génome* [22], cependant un essai clinique vient d'être approuvé en Allemagne [23] chez des patients atteints de β -thalassémie*. Plusieurs autres essais-cliniques sont également recensés aux états-unis et en Chine. [24]

La recherche clinique a pour sujet d'étude l'homme sain ou malade. Un certain nombre de paramètres scientifiques, sécuritaires, sanitaires et éthiques y sont étroitement liés. La recherche clinique peut s'avérer être l'outil fondamental permettant de comprendre et d'évoluer simultanément à la science. Ainsi, la recherche clinique permet de répondre aux grands défis qui façonnent notre monde actuel de la santé. Par ailleurs, elle doit toujours être en lien et s'actualiser avec les avancées de la recherche fondamentale pour mettre au point ces nouveaux outils, traitements ou méthodes diagnostiques et thérapeutiques.

Ce mémoire de fin d'études a pour but d'imbriquer des connaissances scientifiques générales acquises au sein de l'ILIS, en parallèle d'une spécialisation dans le métier d'Attachée de Recherche Clinique. Ce travail se veut de proposer une invitation à la réflexion et au débat mais ne prétend en aucun cas détenir de vérités absolues. La problématique qui a permis de guider cette présente réflexion est la suivante :

À l'heure actuelle, comment la recherche clinique en France, en Europe et dans le Monde, peut-elle encadrer l'application clinique de la méthode d'édition du génome* CRISPR/cas9 chez des patients ?

A partir de ces considérations, ce mémoire sera segmenté en quatre parties pour traiter la problématique. Nous introduirons tout d'abord la méthode CRISPR/cas9 pour en comprendre le mécanisme, les applications potentielles et **l'état de l'art** des essais cliniques en cours dans le monde utilisant cette méthode. Une seconde grande partie nous permettra de réfléchir sur le **contexte réglementaire pouvant encadrer ce genre d'essais cliniques de première administration chez l'homme**. Ensuite, la partie III permettra d'exposer les principaux aspects opérationnels à considérer et à mettre en place pour encadrer un essai clinique first in man avec CRISPR/Cas9. Enfin, une partie discussion permettra de mettre en lumière les enjeux du développement de cette méthode, et les enjeux de la conduite de tels essais cliniques.

PARTIE I - LA MÉTHODE D'ÉDITION DU GÉNOME*

CRISPR/Cas9, UNE THÉRAPIE GÉNIQUE PARTICULIÈRE

Le patrimoine génétique d'un être humain est une chose fragile. En effet, le ruban d'ADN humain, possédant 3 milliards de paires de bases et faisant environ 1 mètre de long, est sans cesse rompu par les multiples stress que subit une cellule. [25] Heureusement, de puissants mécanismes de réparation sont en place pour assurer l'intégrité génomique parfois mis en danger par la maladie, les cancers ou le vieillissement accéléré. [25] À partir de découvertes sur les mécanismes de réparation de l'ADN, les chercheurs ont tenté depuis longtemps de reproduire cette fonction réparatrice. Cependant, les techniques développées jusque-là étaient coûteuses, souvent peu efficaces et peu précises, mais surtout fastidieuses. [25]

A) CRISPR/Cas9 une méthode de thérapie génique

1) La thérapie génique

La thérapie génique a été initialement conçue comme une approche thérapeutique destinée aux maladies monogéniques (liées au dysfonctionnement d'un seul gène), délivrant aux cellules un gène "sain" capable de suppléer le gène "malade". Aujourd'hui, les modalités et les indications se révèlent beaucoup plus larges, avec 65% des essais cliniques qui concernent le traitement de cancers. Les approches se sont beaucoup diversifiées, reposant sur différentes stratégies correctives, vecteurs et modalités de thérapies géniques. [26]

La thérapie génique consiste à modifier génétiquement des cellules d'un patient, pour soigner ou prévenir une maladie. Les protocoles utilisés varient en fonction des indications et des **objectifs thérapeutiques**. Les cellules peuvent être modifiées *in vivo**, directement dans l'organisme du patient, ou *ex vivo**. Dans le second cas, des cellules souches sont prélevées chez le patient, modifiées en laboratoire, puis réinjectées. [26]

2) Différentes stratégies de thérapie génique

Il existe différentes stratégies de thérapie génique : [26]

- les méthodes pour suppléer un gène « malade » ;
- **les méthodes éliminant ou réparant un gène altéré directement dans la cellule** (C'est le cas de la méthode d'édition du génome* CRISPR/cas9) ;

- modifier l'ARN pour obtenir une protéine* fonctionnelle ;
- produire des cellules thérapeutiques par thérapie génique ;
- utiliser des virus génétiquement modifiés pour tuer des cellules cancéreuses ;
- utiliser des vecteurs, que ce soit dans le cadre de la thérapie ex vivo* et in vivo*.

3) CRISPR/Cas9, une méthode de thérapie génique capable d'éliminer ou de réparer un gène altéré directement dans la cellule

Cette technique est appelée édition génomique. Au préalable, il faut conduire une étude à l'échelle du génome*, portant sur le fonctionnement de l'organisme, d'un organe, ou encore d'une pathologie pour comprendre où se situe précisément le dysfonctionnement à l'échelle du génome*. L'édition génomique permet de réparer des mutations génétiques de façon ciblée. Elle nécessite d'importer plusieurs outils dans la cellule :

- Une enzyme* spécifique, **une nucléase**, capable de couper des acides nucléiques* au niveau des liaisons phosphodiester. Dans le cas de CRISPR/Cas9 il s'agit de la nucléase Cas 9. [27]
- Un segment d'ADN étranger qui sert à la réparation du génome* et qui permettra de retrouver un gène fonctionnel. [27]

Parmi les outils d'édition du génome*, à part les outils CRISPR, on trouve également les nucléases à doigt de zinc et les TALEN. [26] Ces approches sont encore expérimentales, mais la révolution apportée par la simplicité du système CRISPR/cas9 suscite des espoirs extrêmement importants. Plusieurs **essais cliniques** sont déjà **en cours** aux **Etats-Unis**, en **Chine** et un tout récemment approuvé en **Europe** (Allemagne). [26]

B) Mécanisme d'action du système CRISPR/Cas9

1) En comprendre l'origine pour comprendre le fonctionnement

La manipulation génétique est possible depuis bien avant CRISPR/Cas 9. Cependant, la particularité intéressante que permet CRISPR CAS 9, c'est de directement modifier un gène ciblé dans l'ADN. Autrement dit, il s'agit d'un outil très performant pour modifier précisément des portions d'ADN chez les êtres vivants. [28]

Les prémices de la découverte du système CRISPR-Cas9 remontent à 1987 au Japon, où des chercheurs découvrirent chez la bactérie Escherichia Coli des séquences d'ADN dont

l'enchaînement des bases nucléiques se lit de la même manière dans les deux sens : **les palindromes**. [29] Ces séquences furent notées CRISPR, signifiant « Courtes Répétitions en Palindrome Regroupées et Régulièrement espacées » (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats en anglais). Leur rôle ne sera finalement élucidé qu'une vingtaine d'années après. [29]

Pour en comprendre l'intérêt, il faut en effet s'intéresser aux séquences intermédiaires à ces palindromes, qui correspondent en réalité à de **l'ADN de virus**. Il s'agit d'un système de défense mis en place par certaines bactéries contre des virus notamment les virus appelés « bactériophages ». Les virus bactériophages n'ont pas la capacité de se multiplier par eux-même. Pour se faire, ils doivent injecter leur matériel génétique sous forme de molécule d'ADN au sein de la bactérie infectée. [29]

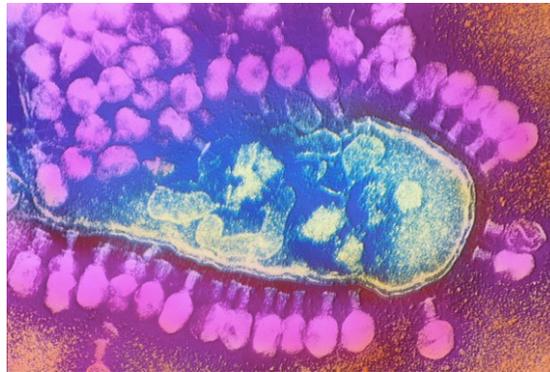


Figure 1 : Observation au Microscope Électronique à Transmission de l'absorption des bactériophages T4 sur la surface bactérienne d'Escherichia Coli ©LEE D. SIMON/GETTY IMAGES

Si la plupart des bactéries meurent à la suite du processus d'infection, une partie d'entre elles survivent et conservent en elles une portion de l'ADN du virus. Ce fragment s'insère ainsi dans les séquences CRISPR situées dans l'ADN bactérien. [29]

Ce mécanisme constitue une mémoire pour la bactérie. Le fait que cette mémoire soit constituée au coeur de l'ADN bactérien, lui confère un caractère héréditaire. En cas de nouvelles infections par un virus bactériophage du même type, ce fragment d'ADN inséré dans les séquences CRISPR est utilisé par la bactérie pour créer une molécule intermédiaire, un ARN spécifique à l'ADN du phage, et permettant ainsi sa reconnaissance. Cet ARN se lie avec une enzyme*, **Cas9**, et l'ensemble se fixe sur l'ADN injecté par le phage dans la bactérie. L'enzyme* Cas9 effectue alors une coupure dans le matériel génétique du phage, le rendant inopérant : l'infection est enrayerée, le phage ne pouvant plus utiliser la machinerie bactérienne pour se multiplier. [29]

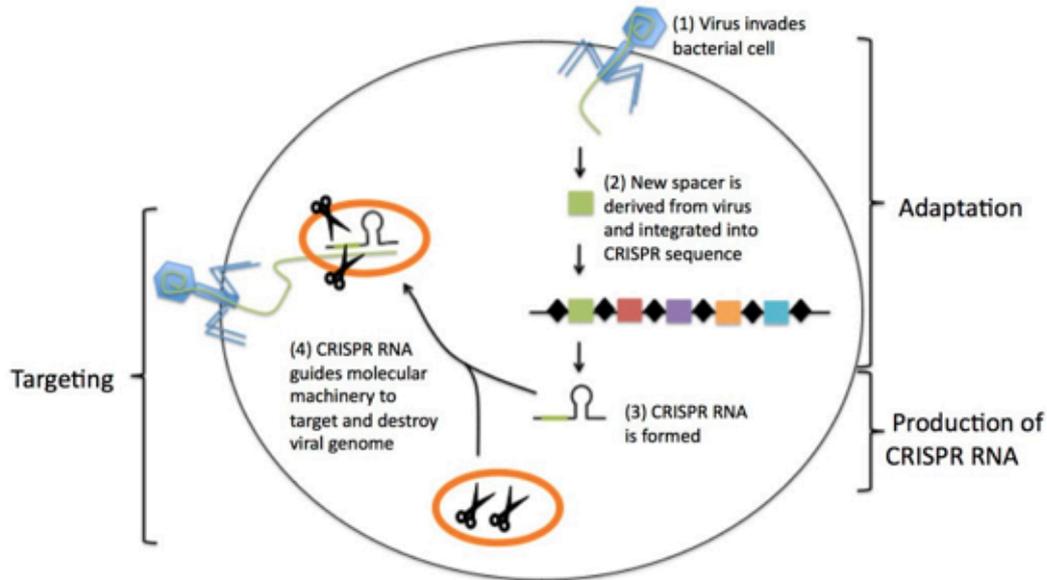


Figure 2 : Les étapes de «l'immunité CRISPR » chez la bactérie [30]

2) L'outil CRISPR/Cas 9

L'outil CRISPR/Cas9, permet donc de couper, grâce à une nucléase Cas9, une séquence d'ADN spécifique reconnue par complémentarité avec un **ARN particulier servant de guide**. Les mécanismes cellulaires de réparation de l'ADN à cet endroit permettent ensuite d'aboutir soit à l'inactivation du gène ciblé, soit, en association avec l'apport de matériel génétique spécifique, à l'insertion d'une séquence génétique ou à la modification de la séquence existante. [31]

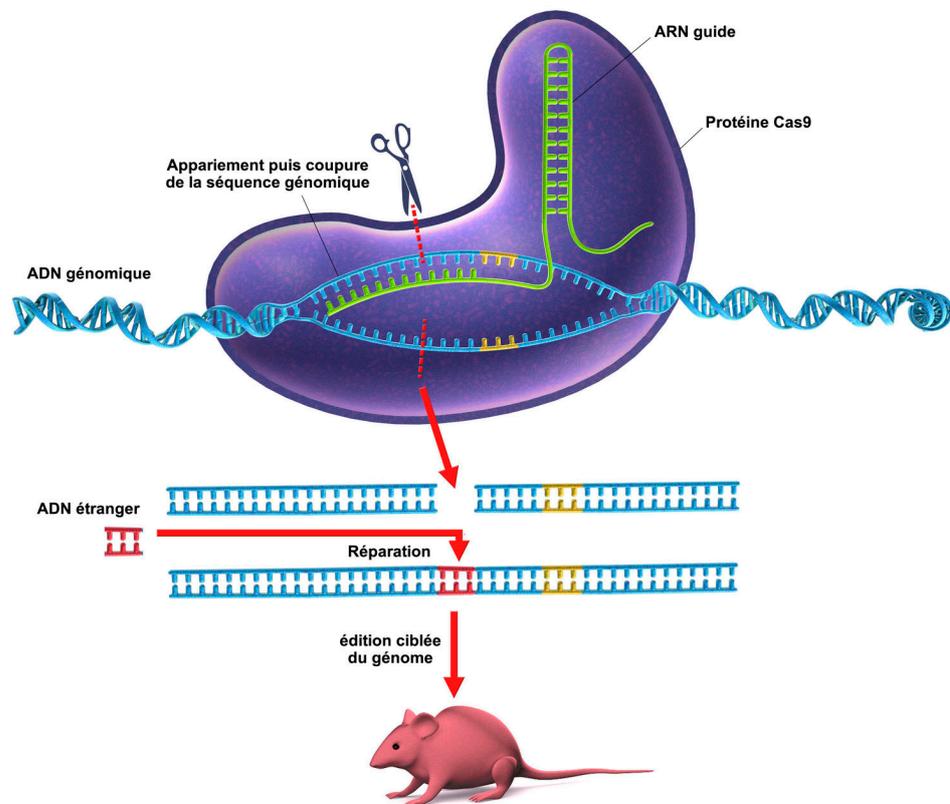


Figure 3 : Schéma des étapes du processus d'édition génomique à l'aide du complexe CRISPR-Cas9 [29]

©Gunilla Elam / Science Photo Library / Cosmos

C) Comment délivrer le système aux patients pour une application thérapeutique ?

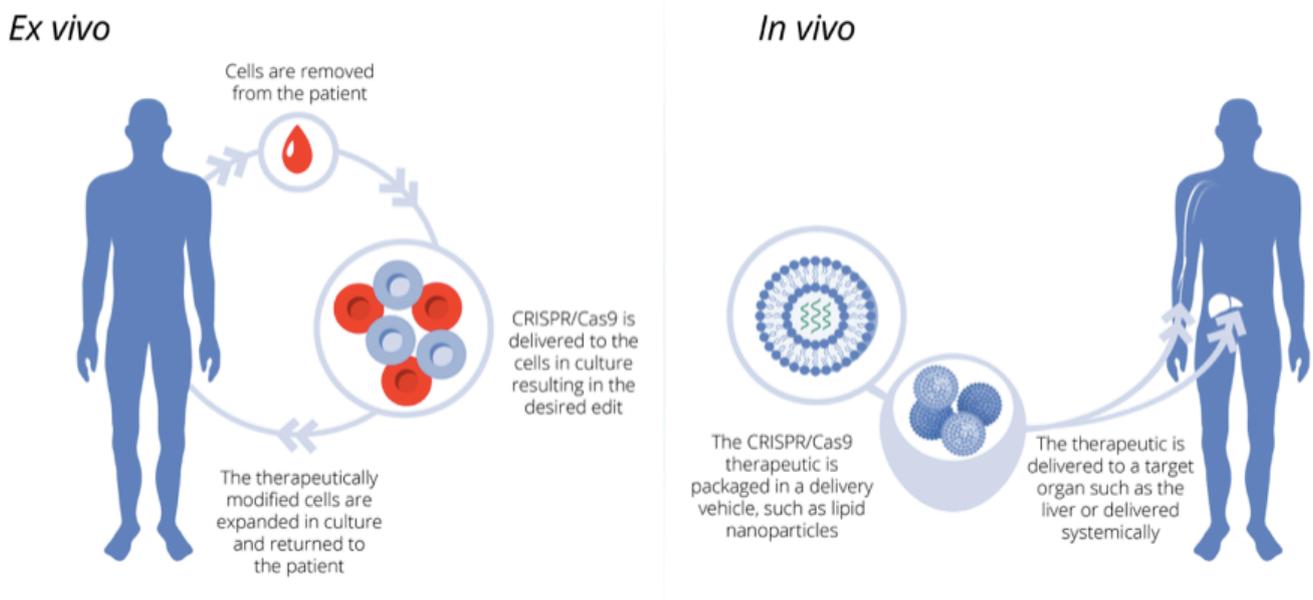
Idéalement, il faudrait pouvoir acheminer le complexe jusqu'aux cellules spécifiques qui doivent être modifiées. Le laboratoire du Pr. Jennifer Doudna a travaillé avec le UC San Francisco Medical School, sur un moyen de délivrance direct du complexe à des cellules visées. Ils ont visé des cellules immunitaires humaines comme cible. [27]

Les résultats sont les suivants :

- l'édition était détectable au bout de quelques heures ;
- la demi-vie* du complexe CRISPR/Cas9 est de 24h ce qui minimise les mutations hors cibles ;
- le succès d'introduction simultanée de modèle d'ADN étranger pour la réparation est plus importante que lors d'édition non ciblée. [27]

La preuve de concept *in vitro** de la modification de toutes les copies d'un gène constitue donc une avancée remarquable, même si l'efficacité de cette technique au niveau de l'organisme reste à démontrer.

Il est intéressant de préciser que le complexe CRISPR/Cas rentre dans le noyau cellulaire de façon naturelle au moment de l'ouverture nucléaire au cours de la vie de la cellule. Il est également possible d'ajouter à la protéine* Cas9 un signal de localisation nucléaire. [27]



¹ Genomic Resource Centre: Genes and human disease, World Health Organization. <http://www.who.int/genomics/public/geneticdiseases/en/index2.html>

Figure 4 : Schéma expliquant le processus d'introduction du complexe CRISPR/cas9 chez l'homme, *Ex vivo** ou *In vivo**. [32]

D) Exemple de perspectives d'application

1) Pour la médecine et la recherche

Cette technique, appliquée dans le cadre de la thérapie génique, pourrait constituer un moyen de modifier et rétablir les pleines fonctionnalités d'un gène altéré et ainsi traiter la pathologie qui en résulte comme par exemple : la myopathie de Duchenne*, la Maladie de Huntington* ou encore la Phénylcétonurie*. Ce sont des maladies qui conduisent actuellement à l'écartement d'embryons lors d'un parcours de Fécondation In Vitro*. [33]

Ensuite, même si le génome* a été séquencé, on ne sait pas à quoi servent tous les gènes. Le système CRISPR/Cas9 peut permettre de supprimer ou de modifier certains gènes dans des cellules germinales pour en apercevoir les répercussions et découvrir l'utilité de gènes encore inconnus. [27]

Un dernier exemple est celui de laboratoires qui tentent de créer des porcs humanisés grâce à la méthode, dans le but d'obtenir des organes transplantables à l'homme pour sauver des vies humaines. [20]

2) Pour l'Agriculture et le sanitaire

D'après le Prof. Jennifer Doudna, la méthode a fait évoluer la réglementation aux Etats-Unis où les plantes modifiées par la méthode ne sont pas considérées comme des Organismes Génétiquement Modifiés (OGM) étant donné qu'aucun gène étranger n'est apporté dans la cellule. [27] De ce fait, CRISPR/Cas9 pourrait remplacer les OGM, les herbicides et pesticides. Au lieu d'injecter un composant étranger, on pourrait directement modifier l'ADN de toute espèce pour la rendre définitivement résistante aux maladies, comme le mildiou, ou pour la rendre plus productrice. [27]

Sur les animaux, cela pourrait les rendre plus résistants aux maladies, mais aussi pour augmenter la production de viande en les rendant plus corpulents. On envisage aussi d'utiliser CRISPR/Cas9 pour modifier les moustiques Anophèles, qui transmettent le paludisme. [22] Sur les micro-organismes, des scientifiques essaient de modifier le génome* de certaines levures pour qu'elles puissent produire des biocarburants. [22]

Nous pouvons constater que la technique CRISPR-Cas9 a d'ores et déjà été utilisée de façon expérimentale par plusieurs centaines de laboratoires dans le monde pour modifier des cellules végétales et animales, mais aussi des souris, des porcs, des singes, et même

des embryons humains, et ce non sans quelques dégâts collatéraux comme l'apparition de mutations génétiques non désirées. Un encadrement est nécessaire pour prévenir les dérives potentielles dans son utilisation. [33]

E) Etat de l'art des essais cliniques avec CRISPR/Cas9 menés chez l'homme

En 2015, parce que la législation et les règles éthiques y sont moins strictes qu'en Occident, une équipe chinoise avait tenté de modifier à l'aide de CRISPR/Cas9, des embryons humains atteints d'une mutation rare, avec peu de succès. Mais en novembre 2017, des chercheurs américains ont fait la même chose, avec un taux de réussite bien supérieur. [34] À la suite de ces travaux les chercheuses à l'origine de la méthode appelèrent à un arrêt mondial pour la modification germinale* des embryons humains, publié dans le magazine « Science magazine », au vue des évidentes considérations éthiques. [31] Le 26 mai 2015, la Maison Blanche a fait connaître sa position concernant la modification du génome* des lignées germinales. Le Conseiller du Président pour la Science et la Technologie, a ainsi déclaré que la modification des gamètes humains à des fins cliniques était une ligne à ne pas franchir pour le moment et que les choix faits dans un seul pays peuvent affecter tous les autres. [34]

En ce qui concerne l'introduction de la méthode chez des patients, elle a d'ores et déjà été utilisée en 2015 de façon unique en Angleterre pour sauver un jeune enfant ayant une leucémie incurable. [20]. En Chine, un malade atteint d'un cancer du poumon incurable a bénéficié en 2016 de la technique mais il ne s'agissait pas d'un essai clinique au sens propre du terme (un seul patient) et on ignore s'il vit toujours. [20] Les chercheurs lui ont injecté ses propres cellules génétiquement modifiées avec la technique CRISPR/Cas9 afin de relancer ses défenses immunitaires pour qu'il combatte les cellules cancéreuses. Parce qu'ils ne publient pas toujours en anglais, les avancées chinoises ne sont pas aussi popularisées que les travaux occidentaux. Pourtant, c'est bien de la Chine que pourraient venir les plus grands progrès. Selon le **Dr. HERVÉ CHNEIWEISS** Médecin et chercheur en neurosciences, président du comité d'éthique de l'Inserm, membre du comité consultatif national d'éthique (CCNE) et du comité international de bioéthique (CIB) de l'UNESCO, l'outil est d'une puissance telle qu'on a du mal à le maîtriser. En effet durant les premiers essais cliniques, 2 patients sont morts à cause d'un orage cytokinique : leurs cellules immunitaires ont été tellement « dopées » que en quelques minutes elles ont déclenché une réaction mortelle après l'infusion. [20]

Par ailleurs, en Europe un essai est conduit par le Prof. Emmanuelle Charpentier et **Crispr Therapeutics**, son entreprise, visant à combattre la **béta thalassémie***, une maladie de l'hémoglobine qui empêche le transport normal de l'oxygène dans le corps. 100 000 enfants naissent chaque année avec la forme grave de la maladie. [34] Les chercheurs vont prendre des cellules sanguines des patients, les cultiver en laboratoire et les corriger avec les ciseaux génétiques. Ensuite, ils les transfuseront aux malades en espérant que cela enclenchera comme chez la souris, une production d'hémoglobine normale.[34] Cet essai doit se dérouler en Allemagne, au Royaume-Uni, en Italie et au Canada. Il a été approuvé en Allemagne par **l'autorité compétente** le **13 Juillet 2018** et a reçu un **avis favorable du comité d'éthique** le 12 Juin 2018. [23]

Un autre essai concerne une maladie congénitale de l'œil. Il sera réalisé par **Editas**, la société de Jennifer Doudna qui travaille en parallèle sur la drépanocytose, la beta thalassémie* et la mucoviscidose. [34]

En faisant les recherches nécessaires sur le registre européen des essais cliniques "www.clinicaltrialsregister.eu", nous pouvons constater qu'il y a un essai clinique en cours en Europe utilisant la méthode. Il s'agit de l'essai du Sponsor **Crispr Therapeutics**, mentionné ci-dessus, tout récemment approuvé en Allemagne. L'essai clinique a pour objectif principal d'étudier **l'efficacité** et **la sécurité** d'une dose unique et autologue* de cellules souches humaines CD34+, modifiées par la méthode CRISPR/cas9, chez des patients atteints de β -Thalassemie* dépendante de la transfusion. [23]

L'annexe I présente le tableau récapitulatif présent sur le registre. Il regroupe les éléments essentiels concernant cet essai clinique identifié sous le code sponsor : **CTX001-111**.

Par ailleurs, en effectuant des recherches sur la base de données Américaine "clinicaltrials.gov" , nous pouvons recenser **14 essais cliniques** utilisant la méthode Crispr/Cas9. **L'annexe II** représente un tableau récapitulatif de ces 14 essais et indique également leur statut : si le recrutement des patients est déjà en cours ou non. Ce tableau en **Annexe II** permet également de voir où ces essais cliniques se déroulent / vont se dérouler : en **Chine** et aux **Etats-Unis**. [24]

Enfin, nous pouvons avoir un autre aperçu des essais cliniques utilisant CRISPR/Cas 9 en se rendant sur la base de données du « **Journal of Gene Medicine** ». Nous constatons

que ce répertoire d'essais cliniques a été actualisé pour la dernière fois en Novembre 2017. Ainsi, nous y recensons uniquement 9 essais cliniques utilisant la méthode CRISPR/cas9, se déroulant tous en Chine. Vous trouverez en **Annexe III** le tableau extrait de ce recensement d'essais cliniques par le « Journal of Gene Medicine ».

Tous ces registres, en plus d'être accessibles du grand public, permettent de mettre à disposition les résultats de ces essais cliniques. Aucun résultat n'est encore disponible pour les essais mentionnés ci-dessus.

PARTIE II - CONTEXTE RÉGLEMENTAIRE DES ESSAIS CLINIQUE FIRST IN MAN UTILISANT CRISPR/CAS 9

« Existe-il une réglementation particulière pour l'utilisation de l'édition génomique ? »

Selon l'INSERM, aucune en dehors des procédures habituelles qui s'appliquent à toute manipulation génétique dans les laboratoires de recherche, y compris les restrictions concernant l'embryon humain. La France est signataire de la **convention d'Oviedo**, tout comme 29 des 47 pays membres du Conseil de l'Europe. Cette convention protège les Droits de l'Homme et de la dignité de l'être humain à l'égard des applications de la biologie et de la médecine. Elle interdit de pratiquer des modifications génétiques transmissibles à la descendance. Cette convention internationale est la seule loi internationale en vigueur dans le domaine de la bioéthique. [22]

La difficulté est qu'il n'existe pas encore de réglementation spécifique à l'édition du génome* en Europe, et donc pas de réglementation spécifique pour ce type d'essais cliniques.

Comme mentionné dans la partie précédente, des essais sont pourtant en cours notamment un fraîchement approuvé en Europe.

De ce fait, au vue de la réglementation actuelle en Europe et en France, **comment classifier un essai clinique utilisant la méthode d'édition CRISPR/Cas 9 et dans ce contexte, à quelles réglementations se soumettre ?**

A) Cadre réglementaire commun à tout les essais cliniques « first in man »

1) Pré-requis

Les essais cliniques sont la phase « pivot » du développement d'un médicament : après les phases de recherche en laboratoire et sur les animaux (phases précliniques), qui permettent d'établir la preuve de concept et d'évaluer l'activité et la toxicité d'un produit. Les études cliniques, c'est-à-dire réalisées chez l'homme, sont effectuées pour évaluer et préciser la sécurité d'emploi ainsi que le devenir du produit dans l'organisme (Phase I), pour confirmer l'efficacité thérapeutique de la molécule sur une maladie donnée (Phases II et III) puis, suivre le médicament dans la vraie vie (Phase IV). [35]

Les trois premières phases d'essais cliniques sont des étapes incontournables du développement d'une molécule car leurs résultats conditionnent la mise sur le marché du nouveau médicament. Ces essais, parce qu'ils sont réalisés sur l'homme, contribuent à mettre au point un médicament efficace et sûr à partir de données accumulées dans ces étapes d'apprentissage. [35]

Un essai clinique « first in man » est un essai clinique visant à évaluer la sécurité et parfois même l'efficacité d'un médicament pour la première fois administré chez l'homme. La réglementation qui s'applique pour un essai clinique de phase I est la même que pour un autre essai, cependant la pharmacovigilance* est augmentée et les protocoles d'étude sont souvent plus lourds et complexes.

En France, suite à "l'accident de Rennes" de janvier 2016 les mesures de vigilance ont été renforcées de manière à mieux prendre en compte l'apparition de faits nouveaux ou d'effets indésirables graves. [35]

La définition du fait nouveau se réfère désormais à toute nouvelle donnée pouvant conduire à une réévaluation du rapport des bénéfices et des risques de l'essai ou du produit objet de l'essai, à des modifications dans l'utilisation de ce produit, dans la conduite de l'essai, ou à suspendre, interrompre ou modifier le protocole de recherche. Pour les essais portant sur une première utilisation chez un volontaire sain, tout effet indésirable grave est constitutif d'un fait nouveau. [35]

L'annexe IV résume les 4 phases de développement d'un médicament en terme d'objectifs et de caractéristiques.

2) Cadre réglementaire international

Le **Code de Nuremberg en 1947**, qui a fait évoluer la pratique de recherche clinique depuis la seconde guerre mondiale, s'applique évidemment.

La **Déclaration d'Helsinki** est la plus célèbre des déclarations politiques de l'**Association Médicale Mondiale** : elle présente les principes essentiels fondant l'éthique internationale applicable aux recherches médicales sur des sujets humains. La **version actuelle de 2013** est la seule version officielle. [36]

Ensuite, un essai clinique doit s'astreindre aux Bonnes Pratiques Cliniques (BPC). Ces BPC sont l'initiative conjointe de l'industrie pharmaceutique et des autorités réglementaires de l'Europe, du Japon et des Etats-Unis, aboutie à l'International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human

Use (ICH). Elles ont pour objet l'harmonisation des procédures d'enregistrement du médicament. [37]

3) Cadre réglementaire européen

Au niveau européen, les règlements et directives suivants s'appliquent pour tout essai clinique :

- **Directive européenne 2001/83/CE** relative aux médicaments à usage humains. [38]
- **Directive européenne 2001/20/CE du 4 Avril 2001** relative à l'application de bonnes pratiques cliniques dans la conduite d'essais cliniques de médicaments à usage humain dans les états membres. [39]
- **Règlement (UE) n ° 536/2014 du Parlement européen et du Conseil du 16 avril 2014** relatif aux essais cliniques de médicaments à usage humain et abrogeant la directive 2001/20/CE. (Ce règlement n'est pas encore entré en vigueur). [40]
- **Directive 2005/28/CE** relative aux bonnes pratiques de fabrication concernant les médicaments à usage humain et les médicaments expérimentaux à usage humain. [41]
- **Le Règlement (UE) 2016/679** relatif à la protection des personnes physiques à l'égard du traitement des données à caractère personnel et à la libre circulation de ces données. [42]

Notons que les **règlements en droit communautaire** sont directement applicables en l'état, dans tous ses éléments, dès sa publication dans tous les états membres. Par ailleurs, **une directive** est quant à elle une décision de droit communautaire visant à favoriser l'harmonisation des législations nationales des États membres de l'Union Européenne. Elle impose aux États membres un objectif à atteindre tout en leur laissant le choix quant aux moyens d'y parvenir (lois, décrets, principes généraux).

4) Cadre législatif en France pour tout essai clinique

- **La loi de Bioéthique** du 07 Juillet 2011. Notons que les états généraux de la loi bioéthique sont ouverts depuis Janvier 2018. [43]
- **La loi Jardé** applicable depuis le 16 Novembre 2016 relative aux recherches impliquant la personne humaine. [36]
- **La loi du 9 Août 2004** relative à la politique de santé publique. [36]
- **La loi informatique et liberté** du 06 janvier 1978. [36]

B) Contexte réglementaire s'appliquant aux essais cliniques portant sur la thérapie génique

Après avoir vu dans la sous-partie précédente les grandes lignes de la réglementation qui s'applique de façon générale aux essais cliniques de première administration chez l'homme, nous allons étudier le contexte réglementaire spécifique au fait de tester **l'innocuité et l'efficacité** d'une méthode de thérapie génique et plus précisément de la méthode d'édition du génome* CRIPR/Cas9 chez l'homme. Nous nous appuierons tout particulièrement sur l'exemple de l'essai clinique en cours en Europe mené par **CRISPR Therapeutics**. Les détails de cet l'essai clinique, issus de la base de données européennes, sont présentés en **Annexe I**.

1) Règlement européen sur les médicaments de thérapie innovante

Le règlement européen (CE) n°1394/2007 sur les médicaments de thérapie innovante a considérablement modifié l'environnement réglementaire applicable aux approches thérapeutiques qui font appel aux gènes, tissus ou cellules. [44]

En effet, cette réglementation européenne, impose de revoir les définitions et les bases réglementaires auparavant utilisées au niveau national français :

-certains produits anciennement considérés par les textes français comme des "**préparations de thérapies cellulaires**", sont désormais reconnues sous le terme de « **médicaments de thérapie innovante** » [44]

-les "préparations de thérapie génique" et les "médicaments de thérapie génique" passent sous la **définition unique** de "**médicaments de thérapie génique**" **inclus dans les médicaments de thérapie innovante**. [44]

En pratique, les acteurs de la recherche clinique ont des difficultés pour déterminer le statut de leur produit. Ils sont invités à se rapprocher des autorités compétentes. En effet, des ambiguïtés peuvent se présenter puisque deux produits préparés de manière identique peuvent être associés à deux statuts distincts en fonction de leur mode d'utilisation ou de leur finalité. [45]

Pour éviter des erreurs lourdes de conséquences pour les promoteurs*, l'ANSM a publié un guide, qui s'avère être un outil précieux : «MTI, MTI-PP et préparations : Synthèse du cadre réglementaire applicable pour la fabrication, le développement et la mise sur le marché de ces produits ». [45]

Aujourd'hui dans ce contexte réglementaire européen il existe donc **3 grands types de produits (MTI, MTI-PP, et préparation)**, chacun relevant d'un cadre spécifique particulier. Au travers de la définition des termes suivants, nous pourrions ainsi déterminer dans quelles réglementations spécifiques inscrire les essais cliniques utilisant CRISPR/Cas9. [46]

2) Les médicaments de thérapie Innovante

Cette définition couvre les médicaments de thérapie génique, les médicaments de thérapie cellulaire somatique*, les médicaments issus de l'ingénierie tissulaire et cellulaire et les médicaments combinés de thérapie innovante.

Ils suivent le règlement européen n°1394/2007 concernant les médicaments de thérapie innovante et sont d'une part régulés au niveau national pour les essais cliniques et au niveau européen pour leur mise sur le marché et l'ensemble des procédures de suivi post-autorisation. [46]

Parmi les MTI on distingue :

a) Les médicaments de thérapie génique :

Un médicament de thérapie génique est un médicament biologique.

Ses caractéristiques sont les suivantes:

* sa substance active* contient ou constitue un acide nucléique* recombinant administré à des personnes en vue de réguler, de réparer, de remplacer, d'ajouter ou de supprimer une séquence génétique ;

Et

son effet thérapeutique, prophylactique ou diagnostique dépend directement de la séquence d'acide nucléique recombinant qu'il contient ou du produit de l'expression génétique de cette séquence. [38]

b) Les médicaments de « thérapie cellulaire somatique »*

* Il contient ou consiste en :

- des cellules, tissus qui ont fait l'objet d'une manipulation substantielle pour en modifier les caractéristiques biologiques, fonctions physiologiques ou propriétés structurelles,
- ou des cellules ou tissus qui ne sont pas destinés à être utilisés pour la ou les mêmes fonctions essentielles chez le receveur et le donneur ;

Et

*il est présenté comme possédant des propriétés permettant de traiter, prévenir ou diagnostiquer une maladie à travers l'action métabolique, immunologique ou pharmacologique de ses cellules ou tissus, ou utilisé chez une personne ou administré à une personne dans une telle perspective. [38]

c) Les médicaments "issus de l'ingénierie cellulaire ou tissulaire"

Sont considérés comme "tissus de l'ingénierie cellulaire ou tissulaire " les cellules ou tissus qui répondent **à au moins l'une des conditions suivantes:**

*les cellules ou tissus ont été soumis à une manipulation substantielle, de façon à obtenir des caractéristiques biologiques, des fonctions physiologiques ou des propriétés structurelles utiles à la régénération, à la réparation ou au remplacement recherchés .

*Les cellules ou les tissus ne sont pas destinés à être utilisés pour la (les) même(s) fonction(s) essentielle(s) chez le receveur et chez le donneur. [38]

d) Les médicaments "combinés de thérapie innovante"

*ces médicaments de thérapie innovante (médicaments de thérapie cellulaire, thérapie génique ou d'ingénierie tissulaire) intègrent dans leur composition : un ou plusieurs dispositifs médicaux ;

ET

*leur partie cellulaire ou tissulaire doit contenir des cellules ou des tissus viables ;

OU

* leur partie cellulaire ou tissulaire contenant des cellules ou des tissus non viables doit être susceptible d'avoir sur le corps humain une action considérée comme essentielle par rapport à celle des dispositifs précités. [38]

3) Les médicaments de thérapie innovante préparés ponctuellement (MTI-PP)

Ce sont des MTI fabriqués et utilisés au sein d'un **unique** état membre. Ces MTI-PP sont sous le régime des MTI du règlement européen mais sont cependant exemptés de la clause de l'Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) centralisée et doivent donc suivre un cadre réglementaire national qui doit être équivalent aux règles communautaires applicables en matière de qualité et de sécurité. Ce nouveau type de produits, créé par le règlement européen, a été introduit dans le code de la santé publique français par la loi n° 2011-302 du 22 mars 2011. [46]

4) Les préparations

Ce sont des produits cellulaires ou tissulaires (allogéniques* ou autologues*) avec une finalité thérapeutique. Ce ne sont pas des médicaments de thérapie innovante. Contrairement au MTI et MTI-PP, ces préparations ne sont pas des médicaments au sens du code de la santé mais sont des **produits de santé**, sous la compétence de l'ANSM et sont réglementées au niveau national sur la base de la directive 2004/23/CE.

De plus, contrairement aux MTI et aux MTI-PP, les préparations ne subissent pas de manipulation substantielle. [46]

5) Différences entre les MTI, les MTI PP et les préparations

PRODUIT	MANIPULATION / DESTINATION	DOMAINE d'APPLICATION	STATUT / REGLEMENTATION
Tissus/Cellules (Humain)	NON substantielle ET Même destination donneur/receveur	Restreinte Ou Large	Préparation cellulaire / tissu National
Tissus/Cellules Vecteurs de thérapie génique	OUI Substantielles Ou Cellules/tissus à usage non homologues à la fonction d'origine	Large	MTI Europe
Tissus/Cellules Vecteurs de thérapie génique	OUI Substantielles Ou Cellules/tissus à usage non homologues à la fonction d'origine	Restreinte Fabrication ponctuelle pour 1 patient déterminé Utilisation dans 1 seul état	MTI-PP National

Tableau 1 : Différences entre les MTI, les MTI PP et les préparations [46]

Bien que ces trois statuts et ces trois cadres réglementaires aient le même objectif : assurer la qualité des produits et la sécurité des patients, les différences imposent aux développeurs de déterminer très tôt, au minimum avant la mise en place des études cliniques, la qualification du produit pour suivre les bons référentiels et éviter des impasses réglementaires rendant inadapté le développement réalisé. [45]

6) Notion de « modifications/manipulations substantielles »

Il est important de s'arrêter sur le terme de « **modifications/manipulations substantielles** » évoqué à de nombreuses reprises dans les définitions ci-dessus. Il n'y a pas de liste officielle définissant ces modifications substantielles. Cependant, en annexe I du **règlement européen 1394/2007** présenté en partie B.1, il existe une liste des modifications **non-substantielles**. [47]

Les modifications suivantes correspondent à des **modifications non-substantielles induites des produits biologiques humains** : le découpage, broyage, façonnage, centrifugation, trempage dans des solutions antibiotiques ou antimicrobiennes, la stérilisation, l'irradiation, la séparation, concentration ou purification de cellules, filtration, lyophilisation, congélation, cryoconservation, vitrification. [47]

Par opposition, une modification est considérée comme substantielle si elle entraîne "**une modification des propriétés biologiques initiales des cellules ou tissus**". Dans les cas des cellules modifiées avec **CRISPR/cas**, **9 il s'agit bien de modifications substantielles qui sont induites**.

7) Quelle définition est alors applicable pour l'édition du génome* avec CRISPR/cas9?

Si l'on s'appuie sur les définitions évoquées précédemment, et au vu de l'explication de la méthode CRISPR/Cas9 présentée en partie I, nous pouvons conclure que nous sommes dans un contexte de **Médicament de Thérapie Innovante et plus particulièrement un médicament de Thérapie génique**.

En effet, les modifications apportées aux cellules humaines sont bien substantielles car on en modifie le génome* et ainsi les propriétés biologiques initiales de la cellule.

De plus, nous sommes plus particulièrement dans le cas de **MTI de thérapie génique** car la substance active* utilisée pour CRISPR/Cas9 contient bien un acide nucléique* (L'ARN guide) recombinant qui va être administré (couplé à la nucléase Cas9) à des personnes en vue de remplacer, d'ajouter ou de supprimer une séquence génétique ;

Et

l'effet thérapeutique de CRISPR/cas9, va directement dépendre de la séquence d'ARN choisie, afin d'aller modifier à un endroit précis le génome* de l'individu. L'expression génétique de cette séquence sera alors bien modifier ou supprimer.

PRODUIT	MANIPULATION / DESTINATION	DOMAINE d'APPLICATION	STATUT / REGLEMENTATION
Tissus/Cellules Vecteurs de thérapie génique	OUI Substantielles <u>Ou</u> Cellules/tissus à usage non homologue à la fonction d'origine	Large	MTI Europe

Tableau 2 : Caractéristiques des médicaments de thérapie génique

Si nous reprenons le **tableau 1**, et que nous ne conservons uniquement la ligne correspondante à l'application clinique d'un médicament de thérapie génique, nous constatons que nous tombons sous l'application du **Règlement Européen 1394/2007**, spécifique aux MTI de thérapie génique. Par ailleurs, la réglementation européenne et nationale en matière d'essais cliniques reste applicable. Il s'agit aussi de préciser que la pharmacovigilance* reste d'application.

C) Contexte réglementaire s'appliquant aux essais cliniques de thérapie génique avec un OGM thérapeutique

Dans la mesure où un bon nombre de médicaments de thérapie génique sont aussi classés comme OGM, nous devons également nous intéresser à la réglementation régissant l'utilisation d'OGM thérapeutique afin de comprendre si le **CTX001** doit se soumettre à cette réglementation lors d'une application clinique en Europe.

De plus, si l'on s'intéresse à la section D, du tableau récapitulatif présenté en **Annexe I**, détaillant les caractéristiques de ce produit d'investigation de CRISPR Therapeutics, et plus précisément la ligne D.3.11.10, on constate que le **CTX001 est en effet un OGM**.

D.3.11.10	Medicinal product containing genetically modified organisms	Yes
-----------	---	-----

Figure 5 : Capture d'écran du tableau récapitulatif des caractéristiques du CTX001

1) Définition d'un OGM

Intéressons nous à la **Directive 2001/18 relative à la dissémination volontaire d'OGM dans l'environnement**. Cette directive nous donne la définition, au niveau de la réglementation européenne, d'un « organisme génétiquement modifié (OGM) ». Il s'agit d'un organisme, à l'exception des êtres humains, dont le matériel génétique a été modifié d'une manière qui ne s'effectue pas naturellement par multiplication et/ou par recombinaison naturelle.

La transposition de cette Directive en droit français a donné naissance au **Haut Conseil des Biotechnologies**, qui est une instance fournissant des avis consultatifs pour l'utilisation des OGM. [48]

2) Classification des OGM et classe de confinement

Selon les articles **L. 532-1** et **D. 532-2 du Code de l'environnement**, les organismes, en particulier les micro-organismes, génétiquement modifiés sont classés en quatre groupes distincts en fonction des risques qu'ils présentent pour la santé publique ou l'environnement, et notamment en fonction de leur pathogénicité. [48]

En fonction de leur groupe de risque et des conditions de leur manipulation, le HCB a adopté un système de quatre niveaux de risques qui correspondent aux quatre niveaux de confinement.

Classe de confinement	OGM utilisé	Risque associé pour la santé et l'environnement
C1	groupe I	nul ou négligeable
C2	groupe II	Faible
C3	groupe III	Modéré
C4	groupe IV	Elevé

Tableau 3 : Classes de confinement en fonction des groupes d'OGM et leur risque associé.

(Source : Juliette Beauvois selon les informations collectées dans le manuel du HCB)

Toutes les mesures de confinement sont détaillées dans **l'annexe IV de la directive européenne 2009/41/CE** relative à l'utilisation confinée de micro-organismes génétiquement modifiés.

Pour l'administration d'OGM à l'homme, des prescriptions spécifiques peuvent accompagner les conditions générales de confinement.

En France, deux avis du Haut Conseil des Biotechnologies (HCB) sont requis pour les MTI qui seraient également des OGM :

- l'avis de classement du produit de thérapie génique et mesure de confinement à mettre en œuvre pour sa manipulation. C'est le promoteur* de l'essai qui est responsable de l'obtention de cet avis, il doit également précéder la demande d'autorisation de l'essai clinique, cet avis étant à joindre au dossier de soumission. [48]
- l'agrément des sites impliqués dans l'essai clinique et la durée des mesures de confinement à laquelle le patient devra être soumis après inoculation du produit de thérapie génique. Ce deuxième, est sollicité directement par l'ANSM lors de l'évaluation du dossier d'essai clinique.[46] Vous trouverez en **Annexe V** le formulaire **Cerfa** de demande d'agrément d'utilisation confinée d'OGM dans le cadre d'une utilisation en thérapie génique. [48]

Etant donné que la dissémination volontaire d'OGM, quel que soit l'usage (agricole, thérapeutique ou industriel) doit faire l'objet d'une autorisation, il importe d'éviter la fuite de toute séquence recombinée au cours de l'utilisation d'OGM, même de celles qui ne présentent pas de dangers.

Le HCB recommande l'inactivation des déchets solides et des effluents par des procédures validées avant leur évacuation pour tous les niveaux de confinement, y compris le niveau C1.

Le **tableau 4** ci-dessous résume les classes de confinement à mettre en oeuvre lors des différentes étapes d'une thérapie génique avec un OGM thérapeutique (comme le CTX001).

Notons que les classes C1, C2 ou C3 sont applicables pour des manipulations en laboratoire précédant l'administration de l'OGM au patient. Les classes TL1, TL2, TL2, TL4 sont les conditions de confinement pour le maintien du patient en chambres de confinement pendant et après l'administration de l'OGM. [48]

Conditions de confinement pour les protocoles de thérapie génique avec un OGM en fonction des étapes								
	Classe de confinement En laboratoire				Classe de confinement en chambre pour le patient			
	C1	C2	C3	C4	TL1	TL2	TL3	TL4
Préparation et manipulation	X	X	X					
Administration et maintien					X	X	Improbable*	Improbable*
Traitement des déchets	X	X	X	X				

*Pas envisageable selon le Manuel du HCB.

Tableau 4 : Conditions de confinement pour les protocoles de thérapie génique avec un OGM en fonction des étapes. / (Source : Juliette Beauvois, sur la base des informations collectées dans le manuel du HCB)

Aux Etats-unis et en Chine, la réglementation est beaucoup moins stricte en matière de l'utilisation des OGM (en agriculture ou même thérapeutique). Cela peut donc expliquer le nombre plus élevé d'essais cliniques utilisant CRISPR/cas9 s'y déroulant. [27]

D) Bilan - Cadre réglementaire s'appliquant à un essai clinique « first in man » utilisant CRISPR/Cas9

Contexte Réglementaire international, européen et en France, encadrant un essai clinique first in man de thérapie génique avec OGM	
Au niveau international :	<ul style="list-style-type: none"> • BPC spécifiques aux essais cliniques sur les MTI (ne remplacent en aucun cas les BPC communes à tout les essais cliniques) • Code de Nuremberg • Déclaration d'Helsinki
Au niveau européen :	<ul style="list-style-type: none"> • Règlement européen n°1394/2007 concernant les médicaments de thérapie innovante. • Directive européenne 2001/83/CE relative aux médicaments à usage humain. • Directive européenne 2001/20/CE du 4 Avril 2001 relative à l'application de bonnes pratiques cliniques dans la conduite d'essais cliniques de médicaments à usage humain dans les états membres. • Règlement (UE) n ° 536/2014 du Parlement européen et du Conseil du 16 avril 2014 relatif aux essais cliniques de médicaments à usage humain et abrogeant la directive 2001/20/CE. (Ce règlement n'est pas encore entré en vigueur). • Le Règlement (UE) 2016/679 relatif à la protection des personnes physiques à l'égard du traitement des données à caractère personnel et à la libre circulation de ces données. • La DIRECTIVE 2003/94/CE relative aux bonnes pratiques de fabrication concernant les médicaments à usage humain et les médicaments expérimentaux à usage humain. • La Directives 2001/18 relative à la dissémination volontaire d'OGM dans l'environnement. • La Directive 2009/41 relative à l'utilisation confinée de micro-organismes génétiquement modifiés.
Au niveau National (France):	<ul style="list-style-type: none"> • La loi de Bioéthique du 07 Juillet 2011. • La loi Jardé applicable depuis le 16 Novembre 2016 relative aux recherches impliquant la personne humaine. • La loi du 9 Août 2004 relative à la politique de santé publique. • La loi informatique et liberté du 06 janvier 1978. • Demande d'avis par le promoteur au Haut Conseils des biotechnologies pour le classement du produit de thérapie génique et mesure de confinement à mettre en œuvre pour sa manipulation. • Demande d'agrément au Haut Conseils des biotechnologies pour les sites impliqués dans l'essai clinique et durée des mesures de confinement à laquelle le patient devra être soumis après inoculation du produit de thérapie génique.

Tableau 5: Contexte Réglementaire international, européen et en France, encadrant un essai clinique first in man de thérapie génique avec OGM

(Source : Juliette Beauvois, sur la base des informations collectées dans la réglementation)

La partie II de ce mémoire nous montre donc qu'en plus d'être dans un Médicament de Thérapie Génique, le **CTX001** est un OGM. En plus des contraintes réglementaires visant à protéger les patients et les populations lors de ce genre d'essais, ce contexte particulier va avoir un impact indéniable sur la mise en place, l'aspect logistique et organisationnel de cet essai clinique.

PARTIE III - Impacts opérationnels de l'utilisation d'un OGM thérapeutique lors d'un essai clinique first in man

Cette partie s'appuiera également sur l'exemple de l'essai clinique CTX001-111 et suivra la chronologie d'un essai clinique. Nous développerons ainsi six sous-parties (de A à F) qui tenteront de proposer un **plan d'action** aux différents niveaux d'un essai clinique, en y incluant les **enjeux opérationnels** de l'utilisation clinique de CRISPR/Cas9.

A) Conception de l'essai clinique

Cette première sous-partie aborde la conception de l'essai clinique au travers de l'écriture du protocole, de la brochure Investigateur et des documents relatifs aux sujets à l'étude. Cependant, la conception d'un essai clinique ne se cantonne pas à l'écriture de ces documents, c'est pourquoi nous aborderons également la sollicitation d'un comité de surveillance indépendant, ou encore la proposition d'un plan d'action de gestion des risques spécifiques à l'essai clinique.

1) Développement du protocole d'essai clinique

La conception de l'essai clinique en plus d'être impactée par le contexte de première administration chez l'homme, va également l'être par l'utilisation de la méthode d'édition du génome CRISPR/Cas 9 et plus concrètement par l'inoculation du médicament à l'étude CTX001 qui est un OGM.

La conception d'un essai clinique passe indéniablement par l'écriture **du protocole** qui décrit de façon claire et scientifique l'essai clinique. Il contient plus particulièrement le titre, l'objectif principal et les objectifs secondaires de l'essai, sa justification, sa conception, son design, sa méthodologie et son organisation. Il présente aussi les critères d'évaluation primaires et secondaires, et les considérations statistiques qui vont permettre de tester l'hypothèse.

Par ailleurs, le protocole est le référentiel commun à tous les centres investigateurs quant à l'organisation et au déroulement de l'essai clinique. En effet, même si le protocole doit être en accord avec la réglementation de tous les pays dans lesquels se déroule l'essai, il doit en plus être le même pour chaque centre investigateur afin de garantir l'exportation des données recueillies pour l'analyse statistique visant à valider l'hypothèse. Dans le cas

de l'essai clinique visant à évaluer la sécurité et l'efficacité de CTX001, il faudra donc s'attendre à un certain nombre **d'amendements au protocole**, l'essai clinique étant **multicentrique et international**.

Le protocole définit également la population à l'essai au travers des critères d'inclusion et d'exclusion. Pour des raisons éthiques évidentes, dans le cas d'un essai clinique first in man utilisant un OGM à but thérapeutique, le produit d'investigation sera testé chez **des patients** atteints de la pathologie d'intérêt (β -thalassémie dépendante à la transfusion), et non chez des volontaires sains. C'est également le cas pour les études first in man en oncologie et en virologie.

Dans le cadre, d'un essai first in man, la population à l'essai est réduite avec des critères d'inclusion et d'exclusion strictes pour garantir la sécurité des patients et pour limiter les **biais de confusions**. Les critères d'inclusion définissent de manière précise les caractéristiques des patients qui peuvent rentrer dans l'étude. Pour rentrer dans l'étude le patient doit remplir TOUS les critères d'inclusion. En complément, les critères d'exclusion définissent les caractéristiques des patients qui ne peuvent pas participer à l'étude malgré leur inclusion initiale. [49]

Dans un contexte de première administration chez l'homme où la population à l'essai est composée de patients, il est d'autant plus important de définir des critères d'inclusion et d'exclusion strictes définissant notamment de façon précise et scientifique la pathologie d'intérêt. Le but est de recruter une population de patients homogènes afin de pouvoir interpréter les résultats statistiques. **Les BPC relatives aux MTI** exigent que le protocole décrive des fenêtres d'acceptabilité pour les critères d'inclusion et d'exclusion. [50]

Voici deux exemples de critères d'inclusion du protocole CTX001-111 pour illustrer ce propos :

- Diagnostique de β -Thalassémie dépendante à la transfusion défini par :
 - a. β -thalassemie homozygote documentée (avec une exception pour le génotype β^0/β^0) ou les formes de β -thalassemie hétérozygote composée incluant l'hémoglobine E - bêta-thalassémie (HbE-BT). [...] [23]
 - b. Historique d'au moins 100mL/kg/an ou 10 unités/an de culots globulaires de globules rouges dans les deux années qui précèdent la signature du consentement de participation à l'essai clinique. [23]
- Statut de performance Karnofsky supérieur ou égal à 80%. (Selon l'Agence Technique de l'Information sur l'Hospitalisation, cela signifie que le patient est capable de mener une activité normale, de façon totalement autonome mais avec efforts, symptômes ou signes mineurs).

Lors de la conception d'un essai clinique il faut alors trouver la bonne balance entre critères d'inclusion et d'exclusion. En effet, si les critères d'exclusion sont trop nombreux, cela peut engendrer une difficulté d'inclusion et donc un nombre insuffisant de patients ce qui engendre un risque de manque de puissance statistique.

Le nombre de patients nécessaires est calculé selon des configurations statistiques. Dans le cadre du protocole CTX001-111, il s'agit d'inclure 12 patients au niveau global. [23]

Ensuite, le contexte first in man impacte la conception de l'essai clinique car l'administration du traitement doit suivre un schéma bien particulier pour garantir le plus de sécurité possible aux patients.

Le protocole devra ainsi détailler :

- le nombre de volontaires recevant en même temps la substance ;
- l'intervalle entre un volontaire et le suivant ;
- les critères d'administration ou de non administration au suivant.

Le protocole des essais de première administration à l'Homme, doit tenir compte des recommandations européennes intitulées « Guideline on strategies to identify and mitigate risks for first-in-human clinical trials with investigational medicinal products » disponibles sur le site Internet de l'EMA et de l'ANSM. [51]

Nous rappelons que le but d'un essai de première administration chez l'homme est de découvrir la **Dose Maximal Tolérée** par l'organisme humain, c'est à dire la dose qui déclenche le premier effet indésirable. Dans le cas du CTX001, étant dans une phase I/II, la question est également de savoir si le nouveau médicament est efficace dans la maladie à l'étude, à l'aide de critères d'évaluation définis judicieusement. Durant le déroulement d'un tel essai clinique, un soin particulier doit être apporté à la surveillance des effets secondaires et des effets indésirables. [52]

Ensuite, pour plus de sécurité et pour permettre la réalisation de tout les examens nécessaires après l'injection, il serait également envisageable de garder les patients sous surveillance pendant quelques heures voir la nuit après inoculation du CTX001. Les patients devront en effet subir des prélèvements sanguins après l'injection pour effectuer des dosages et ainsi étudier la pharmacocinétique (devenir du CTX001 dans l'organisme) et la pharmacodynamie (étude du mécanisme d'action sur l'organisme du CTX001).

Par ailleurs, **les BPC relatives aux MTI** imposent au promoteur d'intégrer dans le protocole un plan de suivi notamment à long terme, au vue de la nature du produit administré pour la première fois à l'être humain et au regard d'une analyse appropriée des risques. [50] Pour le protocole CTX001, le sponsor CRISPR therapeutics a choisi d'effectuer un suivi des patients ayant reçu une injection de CTX001 à 3 jours, à 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12, 18, 24 mois, à 5 ans, puis à 15 ans. [23]

Il est d'ailleurs judicieux de préciser qu'un des critères d'inclusion est le bon vouloir des patients pour ce suivi à long-terme. En effet, si un patient est perdu de vue, cela peut fausser l'étude car n'ayant pas de nouvelles du patient, il faut considérer le pire diagnostique possible lors des analyses statistiques en **Intention de Traiter (ITT)**. [53]

Les promoteurs ont également le soucis de réaliser l'essai clinique de la manière la plus rentable et la plus rapide possible. Cependant le protocole doit être conforme à la réglementation en vigueur, aux BPC, et dans le cas présent aux PBC spécifiques aux MTI. Une des conséquences de ce contexte MTI-OGM sera donc un temps d'écriture et de conception du protocole plus long ce qui peut avoir un impact financier pour une entreprise.

Pour conclure l'enjeu de l'écriture du protocole est de garantir la viabilité de ce dernier vis-à-vis de la réglementation ce qui va normalement de paire avec la sécurité des patients.

2) La Brochure investigateur

Les BPC relatives aux MTI induisent des exigences supplémentaires par rapport à une Brochure Investigateur « classique ».

Nous rappelons que la brochure investigateur décrit l'ensemble des données cliniques et non

cliniques concernant le médicament expérimental, qui sont pertinentes pour l'étude de ce médicament chez l'être humain.

Dans le cas du CTX001, la brochure investigateur doit par exemple spécifiquement contenir les informations obtenues à la suite des analyses de risques basées sur les données et les connaissances pré-existantes. Dans ce sens, un plan de management des risques doit également y être présenté. Les informations connues concernant les risques relatifs à l'échec du traiter doivent également y être détaillées. [50]

3) Le consentement patient et autres documents spécifiques

La nature irréversible de l'inoculation de certains médicaments de thérapies innovantes doit être clairement précisée dans le consentement selon les Bonnes Pratiques Cliniques spécifiques aux MTI. [50]

Il est difficile d'élaborer un consentement, notamment dans un contexte aussi complexe que celui de l'injection de cellules autologues* génétiquement modifiées. Le consentement doit à la fois être compréhensible pour le sujet volontaire qui décide de donner son consentement libre et éclairé, tout en n'omettant aucune information que le sponsor est dans l'obligation de donner aux sujets. Les termes médicaux et scientifiques peuvent faire peur au patient. C'est pourquoi, des associations de représentants de patients peuvent être impliquées dans le processus de consentement éclairé, notamment pour donner leur point de vue lors de l'élaboration du formulaire de consentement éclairé, afin de s'assurer :

- qu'il est rédigé dans un langage totalement compréhensible et non technique ou scientifique ;
- qu'il ne contient pas de langage persuasif ;
- qu'il explique que la participation à l'essai est totalement volontaire ;
- qu'il fournit des perspectives raisonnables sur les possibles désavantages et risques de participation ;
- qu'il décrit tous les bénéfices directs pour le sujet et tous les autres résultats positifs de l'essai, y compris l'approfondissement des connaissances sur le sujet. [54]

Cela peut permettre de rassurer les sujets, mais aussi de renforcer le dossier de soumission initiale de l'essai clinique auprès des autorités compétentes et des comités d'éthique.

Les Bonnes Pratiques Cliniques spécifiques aux MTI mentionnent également la création d'une carte patient alertant de sa participation à un essai clinique avec MTI. Cette carte doit être approuvée par les comités d'éthiques, et doit contenir au minimum le nom du patient, le numéro de téléphone de contact de l'investigateur, et les informations du médicament administré dans le cadre de l'essai clinique. [50]

Comme nous avons pu le constater dans la partie réglementaire, l'essai clinique, du fait de l'utilisation d'un OGM à but thérapeutique, évolue dans un contexte de confinement de propagation. Il est donc également utile de créer une lettre d'information pour la famille, l'entourage, et même le personnel soignant. Ce document peut contenir les informations relatives à l'OGM et également les mesures à suivre en cas de contamination.

Enfin, comme pour tout autre essai clinique, il est utile de créer une note d'information au médecin généraliste pour informer ce dernier de la participation de son patient à un essai clinique.

4) Composition d'un Comité de Surveillance Indépendant

Un tel essai clinique peut s'étendre sur des années. C'est pourquoi, pour des raisons éthiques il est recommandé par les Bonnes Pratiques Cliniques, que le promoteur mette en place un comité de surveillance indépendant et d'autant plus dans un contexte de thérapie génique avec OGM. La constitution de ce CSI est aussi très importante dans les essais de phase I. [55] Il est en effet important de s'assurer que l'essai se poursuive durant une période de temps adéquat pour les patients, mais également qu'il ne soit pas arrêté trop précipitamment et ne réponde pas aux questions scientifiques du protocole.

Dans ce sens, le comité de surveillance indépendant (du promoteur et des investigateur), est un comité d'experts externes à l'essai clinique et bénévoles (3 à 5 membres), qui va revoir les données accumulées au fur et à mesure et émettre un avis sur le bénéfice/risque. Il va proposer les mesures suivantes :

- poursuite du protocole ;
- besoin d'analyses complémentaires (statistiques, EIG à documenter....) ;
- nécessité d'amendement (modifications majeures du protocole en termes de sécurité ou d'analyse des données, ou faits nouveaux concernant la sécurité) ;
- arrêt de l'étude. [55]

5) Proposition d'un plan d'action de prévention des risques et d'assurance qualité

Comme nous avons pu le remarquer précédemment, dans un contexte d'essai clinique first in man utilisant un médicament de thérapie génique, la notion de gestion et de limitation des risques est omniprésente. Nous pouvons donc imaginer un plan d'action pour tout d'abord identifier les potentiels risques aux différents niveaux de l'essai clinique, puis en déduire les conséquences et proposer des actions correctives et ou préventives.

Le tableau 6 ci-dessous présente la logique à mettre en place pour la gestion des risques dans un essai clinique en déclinant plusieurs plans d'actions.

IDENTIFICATION DES RISQUES			ANALYSE DES RISQUES					EVALUATION DES TRAITEMENTS				
Zone de risque	Risque	Causes	Conséquences	Probabilité de survenue	Probabilité de détection	Gravité	Criticité et évaluation (SxDxG)	Traitement	Facilité de mise en œuvre	Efficacité	Délai d'efficacité	Evaluation du traitement
Validité des résultats	Après six mois d'inclusion, le nombre de participants inclus n'atteint pas le quart du nombre total prévu	1. La population cible est plus faible qu'attendue	La puissance de l'essai est inférieure à celle attendue --> L'essai ne permet pas de conclure	6	2	9	108	Cause 2 --> T1. élargir les critères d'éligibilité Causes 1+3 --> T2. augmenter le nombre de sites ou communiquer auprès des centres alentours Cause 4 --> T3. convaincre et mettre en place des TC 1 à 2 fois par semaine en période d'inclusion	7	7	5	245
		2. Les critères d'éligibilité sont mal définis et beaucoup de patients sont exclus au tri des dossiers ou à la pré inclusion							4	8	4	128
		3. La capacité logistique de recrutement des sites est insuffisante (male évaluée SQV)										16
		4. La volonté de recrutement des sites est plus faible qu'attendue										
Participants	L'investigateur ne déclare pas un événement indésirable grave et imputable au traitement CTX001	1. L'investigateur n'a pas été formé aux PBC depuis longtemps	La toxicité du CTX001 est sous-estimée --> Le CSI n'a pas toute les cartes en main pour évaluer le déroulement de l'essai --> Le CTX001 passe en phase II à tort.	9	6	9	486	Cause 1 --> T1. Sensibiliser et former le PI aux BPC ou demander qu'il repasse le diplôme Cause 2 --> T2. s'assurer que l'investigateur sera là à la visite d'initiation Cause 2 --> T2 bis. faire une visite d'initiation spécialement pour l'investigateur Cause 3 --> T.3 Modifier le monitoring plan (1 monitoring après chaque inclusion puis 1 toutes les 2 semaines en période de visite) Cause 4 --> T4. fournir du personnel à l'investigateur	3	7	3	63
		2. L'investigateur n'assiste pas à la visite d'initiation de l'essai							6	6	6	216
		3. L'investigateur ne maîtrise pas la procédure de déclaration des EIG et l'ARC promoteur n'a pas bien investigué le dossier patient source lors des monitoring										648
		4. L'investigateur est débordé de travail							1	10	1	10
Impact médiatique et sociétal	Un grand journal quotidien dénonce l'utilisation d'une méthode d'édition du génome chez des patients	1. Le journaliste scientifique comprend mal les questions éthiques et scientifiques en jeu dans l'essai	1. Le recrutement faiblit et les participants déjà inclus abandonnent ou sont perdus de vue pour le suivi long terme : → La puissance statistique est inférieure à celle attendue → L'effet du traitement est dilué → L'essai ne permet pas de conclure.	6	10	9	540	Cause 1 --> T1. Plan de communication aux journalistes Cause 2 --> T2. Campagnes de sensibilisation auprès des citoyens et des associations Conséquence 1 --> remonter les participants et les sites	5	9	5	225
		2. Des associations de patients / citoyens sont opposées à l'essai et ont fait du lobbying auprès de la presse							7	6	9	378
		3. Le rédacteur en chef recherche un scoop							5	7	8	280

Tableau 6 : Proposition d'un plan d'action de gestion des risques pour un essai clinique utilisation CRISPR/Cas9
(Source : Juliette Beauvois sous l'exemple d'un cours de gestion des risques dispensé à l'ILIS en 2016)

B) Qualification des centres investigateurs

Une fois que le protocole atteint une version finale décrivant toutes les exigences opérationnelles pour mener l'essai, il convient d'organiser et de réaliser des visites de qualification. La visite de qualification a pour but d'étudier la faisabilité de l'essai clinique par rapport à l'adéquation entre le centre d'investigation (pratiques, ressources humaines et matérielles, population de patients traités), et les besoins logistiques de l'étude. Cette visite est souvent précédée d'une faisabilité dite opérationnelle qui consiste en un questionnaire de faisabilité à remplir par les centres. Il est primordial pour les équipes promotrices de bien mener la visite de faisabilité puisque cela va conditionner la participation du centre d'investigation dans l'étude, et pour aller plus loin cela va conditionner le bon déroulement de l'étude et va permettre de préparer la mise en place de l'étude. **Quels enjeux considérer et quel plan d'action mettre en place pour la qualification des centres investigateurs quant à leur participation dans un essai clinique de thérapie génique avec OGM ?**

1) Locaux et personnels

Des mesures de protection sont nécessaires pour protéger le personnel d'une dissémination volontaire ou non des Médicaments de Thérapie Génique avec OGM. Il s'agit en effet de prévenir de leurs effets négatifs potentiels, qu'ils soient directs ou indirects, immédiats ou différés sur la santé humaine et sur l'environnement.

Chaque site doit posséder un agrément des locaux au même niveau de confinement que celui attribué par le HCB, par exemple locaux L1 pour un MTG classé 1. [56]

Le tableau 7 ci-dessous présente les caractéristiques obligatoires des locaux en fonction du niveau de confinement exigé par la classe de l'OGM. Ce **tableau 7** met également en lumière les pratiques de protection à mettre en place pour protéger le personnel.

Caractéristiques des locaux, du confinement et des bonnes pratiques en fonction de la classe de l'OGM

Locaux en fonction des zones de protection

<u>L1 pour les salles et TL1 pour les chambres :</u>	<ul style="list-style-type: none"> - pièce séparée des autres locaux par au moins une porte ; - Aménagements pour ranger les vêtements de protection ; - Sol résistant à l'eau et nettoyage aisé, paillasses résistantes à l'eau, acides, alcalins, solvants et désinfectants.
<u>L2 pour les salles et TL2 pour les chambres :</u>	<ul style="list-style-type: none"> - pièce séparée des autres locaux par une porte d'accès réglementé et verrouillable, signalée par le pictogramme « Risque Biologique » ; - lavabo pour se nettoyer et se désinfecter les mains ; - aménagements pour ranger les vêtements de protection ; - sol résistant à l'eau et de nettoyage aisé, des paillasses résistantes à l'eau, aux acides, alcalins, solvants et désinfectants.



Protection du personnel en fonction du niveau de confinement :

L1/TL1 :	Blouse à manches longues à usage unique. Optionnel : gants, masque, lunettes de protection.
L2/TL2 :	Blouse à manches longues à usage unique, gants, masque, lunettes de protection, sur-chausses et charlotte.

Bonnes pratiques pour les Equipements de Protection Individuels (EPI) :

Les EPI sont stockés dans un rangement présent dans le local et jetés dans une poubelle dédiée qui est également stockée dans le local.

A l'entrée :	Commencer par enfiler les gants avant d'enfiler la blouse, le masque, les lunettes, les surchausses et la charlotte.
A la sortie :	Enlever la blouse, le masque, les lunettes, les sur-chausses et la charlotte avant d'enlever les gants. Tout jeter dans la poubelle dédiée.

L' Hospitalisation du patient dans le cadre d'un essai clinique de thérapie génique avec OGM

Confinement TL1 :	Chambres conventionnelles suivant les règles d'hygiène en vigueur en milieu hospitalier MAIS le patient doit rester dans sa chambre.
Confinement TL2 :	<ul style="list-style-type: none"> - les chambres situées dans un secteur protégé et séparé ; - uniquement accès secteur aux personnes autorisées ; - durée de séjour du patient dans le secteur protégé dépend de la durée du risque infectieux ; - décontamination une fois par jours des surfaces ; - identification des prélèvements une fois par jour ; - autoclave dans le bâtiment.

Tableau 7 : Caractéristiques des locaux, du confinement et des bonnes pratiques en fonction de la classe de l'OGM

(Source : Juliette Beauvois, sur la base des informations collectées [56])

Pour conclure, en fonction du niveau de confinement exigé pour l'essai clinique de thérapie génique avec un OGM, les critères de qualifications sont très nombreux et strictes. Tout les centres d'investigation ne possèdent pas ce genre d'infrastructures et de pratiques. Une des solutions, lorsqu'un centre ne remplit pas tous les critères de

qualification, est que le promoteur finance les mises aux normes nécessaires pour la mise en place de l'essai clinique, si cela est raisonnablement envisageable.

2) Gestion pharmaceutique

La participation d'un centre à l'essai clinique va dépendre de sa capacité à gérer le circuit du médicament particulier aux OGM. La visite de qualification, par rapport à celle d'un autre essai clinique, devra alors accentuer cette évaluation notamment en passant plus de temps à la pharmacie.

a) Réception et stockage

Le promoteur doit garantir l'acheminement des unités thérapeutiques jusqu'aux centres en respectant scrupuleusement le niveau de confinement défini par le HCB.

Les procédures de réception et de stockage sont identiques aux procédures habituelles tant que le double ou triple emballage recommandé selon le niveau de confinement n'est pas rompu. Concernant l'emballage du produit, cela va dépendre de la classe de l'OGM.

-Pour la classe C1, le flacon est placé dans un emballage secondaire.

-Pour la classe C2, il est composé d'un emballage secondaire par flacon et d'un emballage tertiaire pour l'ensemble des flacons. [56]

b) Préparation

La préparation peut requérir certaines précautions comme l'utilisation de postes de sécurité microbiologique. [56] Par ailleurs, certaines pharmacies possèdent des postes de préparations équipées de hôtes à flux laminaires. Cependant, il n'est pas toujours possible d'avoir accès à ce matériel pour les essais cliniques, car le circuit doit par exemple rester stérile pour garantir la préparation des anticancéreux.

c) Dispensation

Cette étape va ici aussi dépendre du niveau de confinement.

Quel que soit le niveau de confinement, il est conseillé de procéder de la manière suivante:

- le personnel doit s'équiper de blouses à manches longues, charlotte, lunettes ou masques avec visière, gants stériles et sur-chausses [56] ;
- toutes les surfaces doivent être nettoyées selon les procédures ;
- placer sur un champ stérile l'ensemble du matériel pour l'injection [56] ;

- pansements souillés seront considérés comme des Déchets d'Activités de Soins à Risques Infectieux (DASRI) et traités suivant les procédures de rigueur [56];
- l'ensemble des matériels solides utilisés doivent être jetés dans le conteneur pour déchets infectieux portant le symbole « risques biologiques » qui sera annoté du nom de l'essai et du service, de l'investigateur, du promoteur, de l'identifiant patient et la date). [56]

d) Retour/destruction des unités thérapeutiques

Comme pour tout essai clinique, les unités thérapeutiques sont retournées ou détruites suivant les procédures du promoteur.

3) Discussion avec les équipes

Lors de la visite de qualification, du point de vue de l'ARC promoteur, il s'agit d'établir un réel **dialogue de faisabilité** avec les équipes investigatrices. C'est également le moment propice pour sonder l'implication et la motivation des équipes vis-à-vis du protocole.

Durant cette rencontre, l'expérience des équipes vis à vis de la pathologie et de la conduite de tels essais cliniques sera également abordée. Selon les BPC, l'investigateur doit posséder les compétences et une certaine expertise dans le domaine thérapeutique de l'essai clinique.

Il faut être également très attentif au **nombre de patients potentiellement incluables** par le centre car cela va contribuer à la réussite de l'étude. Ce nombre doit refléter la réalité et ne pas être idéalisé. En effet, une des raisons de fermeture prématurée d'un centre d'investigation peut être le manque d'inclusion. Cela peut être dû à des critères d'inclusion trop strictes, parfois un manque de formation des investigateurs au protocole de l'étude, un manque de motivation ou encore un refus des patients à cause d'un protocole trop contraignant. Tout ces éléments peuvent être détectés lors de la faisabilité et ainsi éviter les fermetures prématurées (perte de temps pour les investigateurs et pertes de temps et d'argent pour le promoteur).

Enfin, il faut évaluer la disponibilité des équipes et de l'investigateur. En effet, dans le cas présent il s'agit d'un protocole lourd, avec des exigences qualités élevées et un circuit du médicament complexe. Il est donc primordiale de connaître le nombre de personnes qui

vont être dédiées à l'essai sur centre, mais aussi le temps qui pourra être accordé à l'essai.

De façon générale, la visite de sélection d'un site permet de répondre aux questions suivantes :

- Le recrutement sera-t-il suffisant ?
- Le plateau technique est-il adapté ?
- Les ressources humaines affectées à l'étude correspondent-elles au besoin logistique de l'étude ?
- L'équipe a-t-elle l'expérience nécessaire pour mener ce genre d'essais ?
- Quel sera le rôle de chacun pour l'étude?
- Quel sera le circuit du patient?
- Quel sera le circuit des traitements?

C) Soumissions réglementaires d'un essai clinique first in man de thérapie génique avec un OGM en France

Le processus de soumission d'un essai clinique dépend de sa phase mais également du pays dans lequel la demande d'autorisation est effectuée. Même la réglementation européenne vis à vis des essais cliniques tend à harmoniser les procédures, l'organisation structurelle des autorités compétentes et des comités d'éthiques de chaque pays diffère.

Afin d'étudier les enjeux de la soumission réglementaire d'un essai clinique avec CRISPR/Cas9, nous détaillerons la marche à suivre pour soumettre un tel projet d'essai clinique en **FRANCE**.

Au vue des considérations réglementaires présentées dans le **tableau 5** de ce mémoire, la **figure 6** ci-dessous résume le processus spécifique d'autorisation d'un essai clinique first in man de thérapie génique comportant un OGM en FRANCE.

Procédure d'instruction des dossiers en thérapie génique

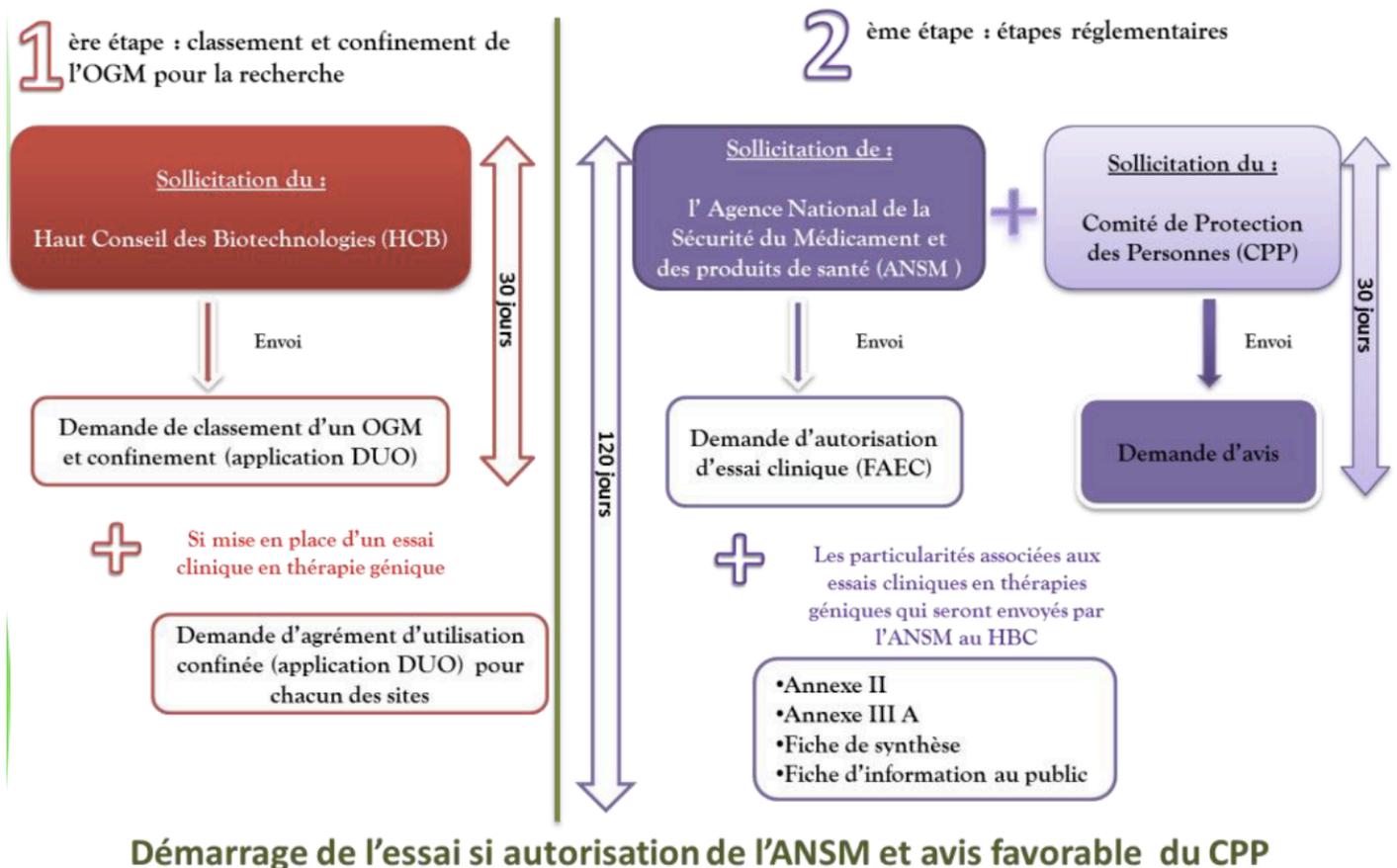


Figure 6 : Processus spécifique d'autorisation d'un essai clinique first-in-man de thérapie génique comportant un OGM en FRANCE [56]

Le **CPP** rend son avis sur les conditions de validité de la recherche, notamment au regard de la protection des participants, des modalités de recrutement, de la pertinence de la recherche et des bénéfices et des risques attendus. L'**ANSM**, quant à elle, est définie par le Code de la santé publique comme étant l'autorité compétente pour autoriser les essais cliniques sur le territoire français. Cette évaluation est obligatoire et concernera **la sécurité et la qualité des produits** utilisés au cours de l'essai clinique, mais également **la sécurité des personnes participant** à ces recherches. [51]

Au niveau des centres investigateurs, certains hôpitaux peuvent posséder un comité interne d'évaluation qui va également revoir le projet avant de donner, ou non, l'autorisation locale de mise en place de l'essai clinique.

Pour conclure, la procédure d'évaluation des demandes d'autorisation d'essais cliniques sur les MTI en France présente quelques différences avec celle des médicaments « classiques ». En effet, cela implique notamment les **délais d'évaluations de l'ANSM qui seront de 120 jours pour la thérapie génique** et un refus implicite en cas d'absence de réponse de l'Agence dans les délais réglementaires. [44]

Enfin, comme déjà mentionné au préalable, deux avis du Haut Conseil des Biotechnologies (HCB) sont requis pour les MTI qui seraient également des OGM :

- l'avis de classement du produit de thérapie génique et mesure de confinement à mettre en œuvre pour sa manipulation. Ce premier avis est sollicité par le promoteur de l'essai. Il doit précéder la demande d'autorisation de l'essai clinique, cet avis étant à joindre au dossier. La demande d'avis de classement de l'OGM s'effectue auprès du Haut Conseil des Biotechnologies (HCB). Cette demande est faite de manière dématérialisée sur l'application DUO du Ministère de l'Enseignement supérieur, de la Recherche et de l'Innovation (MESR), en suivant le lien suivant : [https:// duo.adc.education.fr/duo/connexion.jsp](https://duo.adc.education.fr/duo/connexion.jsp). [44]
- l'agrément des sites impliqués dans l'essai clinique et la durée des mesures de confinement à laquelle le patient devra être soumis après inoculation du produit de thérapie génique. Ce deuxième, **est sollicité directement par l'ANSM** lors de l'évaluation du dossier d'essai clinique. [44] La Fiche VISA de demande d'agrément des locaux de recherche clinique est visible en **annexe V** de ce mémoire.

L'annexe VI de ce mémoire présente la liste des documents à fournir à l'ANSM en vue du demande d'autorisation d'essai clinique initiale, pour un essai clinique de première administration de thérapie génique utilisant un OGM.

D) Mise en place, recrutement et suivi des patients

Les spécificités et les enjeux de la visite d'initiation, dans un contexte comme celui d'un essai clinique utilisant un OGM modifié par CRISPR/Cas 9, sera de revenir en profondeur avec l'équipe investigatrice sur le circuit du médicament et sur les actes de préparation ou d'administration particuliers. Il est donc très important que toutes les personnes qui vont être impliquées dans l'essai soient présentes durant l'initiation (pharmacie, personnel du laboratoire local si impliqué, infirmière de recherche clinique, Arc hospitalier, médecins investigateurs), il s'agit d'une réelle formation au protocole d'essai clinique. Comme pour tout autre essai clinique, il s'agira aussi, en autres, d'insister sur les actes qui vont différer de la prise en charge courante des patients (contexte first in man chez des patients).

Concernant le **recrutement**, comme nous l'avons vu précédemment, le recrutement des sujets est un point critique de la conduite de l'essai car c'est un des paramètres qui peut fortement influencer les résultats de l'essai clinique, et donc le devenir du médicament à l'essai. En plus d'insister sur ce point durant les visites de qualification et d'initiation, le promoteur doit également penser à mettre en place une stratégie particulière notamment dans le cas de pathologie rare comme la β -Thalassémie. [57]

Quel plan d'action mettre en place pour faciliter le recrutement ?

Bien former les équipes investigatrices lors de la visite d'initiation aux critères d'inclusion peut déjà construire les bases d'un bon recrutement.

Tout au long de la période de recrutement, L'ARC promoteur doit aussi se rendre disponible et considérer comme tâche urgente toute question provenant des équipes investigatrice concernant le recrutement d'un patient.

Par ailleurs, les méthodes utilisées pour promouvoir les essais cliniques sont encadrées par la législation. Ces dernières années, les méthodes classiques de publicité imprimée, telles que des affiches dans les cabinets médicaux, ont été complétées par l'utilisation d'outils numériques. Ces nouveaux outils vont des sites Web consacrés au recrutement dans les essais cliniques (par exemple, le Registre des essais cliniques de l'UE [EUCTR, EU Clinical Trials Register]) aux sites de médias sociaux. [54]

Concernant ces moyens de communication, ils ne doivent pas : [54]

- promettre une évolution favorable ou une guérison de la maladie ;
- être coercitives (mettre le sujet sous la contrainte), notamment lorsqu'un essai cherche à recruter des patients vulnérables,
- affirmer que le médicament étudié est sans danger et efficace.

Les promoteurs peuvent également rechercher des participants potentiels par le biais d'informations fournies à des sources telles que les associations de patients, les registres de patients, les hôpitaux et les pharmacies. [54] Les participants peuvent également trouver des informations sur les essais cliniques dans les registres d'essais cliniques comme démontré en **annexe II et III** de ce mémoire.

Enfin, si tous les efforts déployés pour atteindre le quota d'inclusion n'aboutissent pas positivement (depuis la sélection consciencieuse des centres avec le potentiel de recrutement, jusqu'à l'utilisation de bases de données), il reste la solution de l'ouverture d'un centre supplémentaire.

Ensuite concernant le **suivi des patients**, comme tout essai clinique il s'agira pour les équipes investigatrices de respecter le protocole d'essai clinique.

Afin de s'assurer du bon respect de la conduite de l'essai et du bon suivi des patients, l'ARC promoteur viendra effectuer de façon très régulière des visites de monitoring. De plus, durant toute la conduite de l'étude, l'ARC promoteur et les autres représentants du sponsor doivent se tenir à l'écoute des investigateurs et répondre à toutes les interrogations. Il s'agit également de garder les équipes impliquées et motivées par l'essai clinique.

Etant dans un contexte de ATMP et plus particulièrement d'un OGM, le suivi à long terme des patients est primordial du fait du peu de recul que nous possédant sur la méthode d'édition du génome CRISPR/Cas 9 et de son application chez l'homme. Pour ce suivi jusqu'à 15 ans après la fin de l'essai, il faudra optimiser le recueil à long terme des données et privilégier les contacts par téléphone si cela peut arranger les patients.

Les patients doivent être entourés et protégés car ce sont eux qui encourent un risque physique pour leur participation. Même si la réglementation en recherche clinique et les pratiques tendent toujours à s'améliorer pour garantir toujours plus de sécurité et d'éthique, le regard de nombreux patients et citoyens vis à vis de la recherche clinique est toujours celui de « patient cobaye ». Il faut tout mettre en oeuvre pour le bien-être du patient et prendre en compte ses considérations tout au long de l'essai clinique.

Par ailleurs, les bonnes pratiques cliniques sont très claires et permettent aux sujets de retirer leur consentement à tout moment, sans que cela ne représente un quelconque préjudice ou ne remette en cause la qualité de leur prise en charge habituelle. [58]

E) Déroulement et monitoring de l'essai

Le déroulement d'un essai clinique est très contraignant pour les investigateur qui ont notamment pour responsabilité de mettre les ressources humaines en place pour assurer le bon déroulement de l'étude dans les centres d'investigation. Cependant, le promoteur est lui aussi tenu par des nombreuses obligations comme celle de mettre en place un plan de monitoring adapté aux risques. Comme mentionné dans le plan d'action de gestion des risques en **partie III.A.5**, pour un tel essai, nous pourrions imaginer un plan de monitoring stricte afin d'entourer et d'accompagner les équipes investigatrices au maximum.

Du point de vue de l'ARC promoteur, les visites de monitoring d'un essai clinique de phase I se déroulent de la même façon que pour un autre essai clinique, cependant une attention toute particulière doit être apportée à la vérification des données de sécurité. Il s'agit également de vérifier que tout effet indésirable, événement indésirable ou fait nouveau de sécurité décrit dans le dossier source du patient soit bien reporté dans le CRF et déclaré dans les règles et les délais aux entités de pharmacovigilance*.

Bien entendu, comme pour tout autre essai clinique, il ne faut pas oublier de vérifier avant toute chose le consentement du patient et de s'assurer qu'il a bien bénéficié d'un processus de consentement libre et éclairé. Il s'agit également de vérifier tous les critères d'inclusion et d'exclusion.

Par ailleurs, comme nous avons pu le constater ultérieurement, un essai clinique utilisant un OGM va impacter considérablement le circuit du médicament qui devra lui aussi être dument vérifié durant les monitorings. Par exemple, la **traçabilité du produit** et la **comptabilité des unités thérapeutiques** doivent être vérifiées à chaque visite. Cela requiert donc de se rendre à la pharmacie à chaque visite.

Enfin, le promoteur peut également décider de lancer une procédure d'audit afin d'avoir un aperçu du niveau de qualité de la conduite de l'essai clinique.

Cela peut être très intéressant dans le cas d'un essai clinique first in man utilisant la méthode d'édition du génome afin de garantir plus de sécurité, de traçabilité, mais aussi de se préparer à une potentielle inspection des autorités compétentes, non rares dans le cadre d'essais cliniques utilisant des méthodes innovantes.

L'audit peut être effectué à tous les niveaux, depuis l'ARC promoteur, en passant par le maintien du Trial Master File, jusqu'aux Locaux et équipements.

Enfin, le promoteur doit développer des procédures, compatibles avec la réglementation, pour encadrer au mieux l'essai. Par exemple, il faut produire des procédures indiquant la marche à suivre en cas de contamination avec l'OGM, ou encore des procédures pour le suivi à long terme des patients.

F) Fin de l'essai

La visite de clôture correspond à la **fermeture du centre**, elle a lieu de façon générale quand les inclusions sont terminées et que le suivi des personnes participant à la recherche est terminé, conformément au protocole (le plus souvent dernière visite du dernier patient), ou de façon prématurée selon la décision notifiée par le promoteur. Elle a lieu dans tous les centres qui ont été ouverts et qui ont reçu du matériel/produit, qu'ils aient ou non inclus des patients.

Concernant la fermeture d'un centre en particulier, la visite finale intervient une fois que tous les sujets recrutés par le centre ont terminé l'essai et que la base de données est gelée. Cela met un terme à la participation du centre à l'essai.

Si nous prenons le cas de la fin de participation prématurée, cela peut être dû à l'absence d'inclusion ou à un trop faible recrutement. Le non-respect du protocole, des BPC* voire des fraudes peuvent également provoquer la fermeture d'un centre. [58]

Par ailleurs, la fin prématurée de l'étude peut être à la demande du Comité de Protection des Personnes (comité d'éthique), ou du Comité de Surveillance Indépendant si des éléments indiquent un risque élevé avéré à la participation à l'étude. Cela peut être probable dans le cas d'un essai clinique first in man utilisant CRISPR/Cas9.

De façon concrète, le plan d'action à mener sur place par l'ARC promoteur lors de la visite de clôture est le suivant :

- vérifier et mettre à jour le classeur investigateur ;
- récupérer les documents à archiver par le promoteur (registre visites, délégation des responsabilités,...) ;
- récupérer les exemplaires de consentement destinés au promoteur si applicable (sous scellés) ;
- récupérer le matériel/documents non utilisés ou organiser leur destruction ;
- préparer l'archivage de tous les documents. il sera important de rappeler aux centres d'investigation qu'ils doivent garder, conformément aux PBC MTI, **les registres de traçabilités des unités thérapeutiques pour un minimum de 30 ans après la date d'expiration du produit d'investigation** [50] ;
- évoquer les suites cliniques et scientifiques de la recherche (rapport final, publications, communications des résultats aux participants, ...) ;
- informer sur la rédaction du rapport final d'essai clinique.

Il faut également effectuer la clôture à la pharmacie et y faire l'inventaire des produits utilisés ou non ; puis organiser la mise en destruction et récupérer la copie de la fiche de comptabilité. Il faudra également informer le pharmacien responsable de la spécificité de l'archivage.

Au laboratoire il s'agira de la même démarche :

- vérifier que les échantillons ont été transmis au laboratoire pour analyse ;
- vérifier la destruction des échantillons non conservés ou déclarer la collection ;
- retourner ou mettre en destruction le matériel non utilisé ;
- informer sur l'archivage.

Pour conclure, mis à part l'archivage des données de traçabilité du CTX001, qui concerne le service investigateur, la pharmacie et le laboratoire la clôture d'un essai clinique avec MTI ne diffère pas de celle d'un autre essai clinique.

PARTIE IV - Discussion

Quels sont les enjeux techniques, sécuritaires, éthiques et sociétales* de CRISPR/Cas9 ?

A) Enjeux techniques

Le principal enjeu technique de CRISPR/Cas9 est qu'on ne connaît pas encore suffisamment le rôle de tous les gènes, et donc les conséquences à long terme de telles modifications sur le génome*, que ce soit chez l'être humain, les animaux, les plantes. La modification du génome* pourrait par exemple entraîner une réaction en cascade de changements dans l'ADN de façon non-contrôlée. [22] De plus, il s'agit aussi de maîtriser totalement la technique afin d'éviter toutes modifications du génome* « hors cible ».

Selon le **Dr. HERVÉ CHNEIWEISS**, il faut revenir à notre plus grande ignorance. En réalité, nous en connaissons encore peu sur le génome* par rapport à sa complexité et encore moins concernant sa dynamique. Si l'on touche à un gène, l'expression de milliers d'autres gènes peut être bouleversée. Il y a également une architecture dans l'espace qui fait qu'un gène sur un chromosome peut interagir avec un autre gène sur un autre chromosome. De ce fait, si l'on induit « un trou » avec la technique CRISPR/cas9, l'interaction peut être changée. Il faut évaluer à moyen et long terme la résultante de ces modifications. [20]

Par ailleurs la cellule est un mécanisme très complexe. Des analyses systématiques approfondies réalisées sur des cellules humaines ou des cellules de souris, dont les génomes ont été édités à l'aide de **CRISPR-Cas9**, ont révélé que CRISPR/Cas9 semble causer fréquemment **d'importantes mutations ainsi que des dommages sur le plan génétique** qui, selon les chercheurs, ne peuvent être détectés par les tests ADN existants actuellement. [59]

Une autre publication parue dans la revue scientifique « Nature Médecine » le 11 Juin 2018, évoque un mécanisme cellulaire qui peut mettre la méthode CRISPR/Cas9 en échec. En effet, nos cellules produisent la protéine* p53, appelée protéine* « ange gardienne » du génome*. Elle active la réparation de génome*, ou au contraire le suicide programmé de la cellule (apoptose), en cas d'endommagements irréversibles. [60] La p53 pourrait donc protéger contre tous types de modifications, (positives ou négatives), comme celles induites par l'édition du génome*. Deux recherches effectuées par Novartis et l'institut Karolinska ont montré que lors de l'utilisation de CRISPR-Cas9, p53 montrait une forte activité et induisait l'apoptose de la cellule. [60]

B) Enjeux sécuritaires et militaires

Sur le plan sécuritaire et militaire, la technique est simple et à faible coût, ce qui la facilement rend accessible aux scientifiques. Cela soulève des questions de sécurité nationales et internationales à l'heure du terrorisme.[22] CRISPR a été nommée découverte scientifique de l'année 2015, mais a également été classée comme « arme de destruction massive » par les Agences de sécurité américaines. [22]

Ce n'est pas la technique en elle-même qui soulève le plus de questions éthiques. En effet, d'autres techniques de modification du génome* ont été développées depuis CRISPR/Cas9. C'est plutôt la possibilité offerte par la méthode de pouvoir modifier simplement et de façon ciblée. Cela permet de potentiellement façonner le vivant, ouvrant par exemple la porte à l'eugénisme. [22] L'eugénisme, est un terme inventé en 1883 par Francis Galton. Cela désigne toutes les méthodes (biologie, génétique, etc.) qui ont pour but d'améliorer le patrimoine génétique de l'espace humaine. [19]

L'histoire nous montre les sombres côtés de l'humanité quand à partir de 1933, l'Allemagne Nazie a développé sa politique raciste et eugéniste visant à favoriser « la procréation d'individus dits supérieurs, et d'empêcher la reproduction des êtres humains considérés comme inférieurs. C'est cette époque dramatique de l'histoire qui nous montre que cette théorie eugéniste pour entraîner des actes portant atteintes à la dignité et aux droits fondamentaux de la personne humaine. [19]

En France, l'Art L.16-4 du Code Civil mentionne que « Toute pratique eugénique tendant à l'organisation de la sélection des personnes est interdite » [19]

L'Art. L.214-1 du Code pénal (CP) : « Le fait de mettre en oeuvre une pratique eugénique tendant à l'organisation de la sélection des personnes est puni de trente ans de réclusion criminelle et de 7 500 000 € d'amende. » [19]

C) Enjeux éthiques et sociétaux*

Il est souvent reproché à l'éthique et à son application réglementaire, par leurs excès de prudence et de freins, d'être des freins à la connaissance et aux progrès scientifiques.

Cependant, cette démarche éthique, a pour but essentiel de permettre d'agir en conscience et en complexité des enjeux, au regard de l'impérative nécessité du respect des personnes. [19]

Face au fulgurant progrès que représente CRISPR/Cas 9 pour la génétique médicale, nous nous devons de réfléchir à ces enjeux.

Serait-ce réellement un crime contre l'humanité d'éliminer des maladies héréditaires particulièrement grave ? Inversement, Dans quelles conditions d'encadrement devrions nous le faire de telle façon à ce que uniquement ces maladies d'une particulière gravité (comme pour le diagnostic pré-implantatoire lors des Fécondations In Vitro*) soient l'objet de ces études et développement techniques ?

Selon le Dr. HERVÉ CHNEIWEISS, la justice c'est aussi l'accès au soins. Ces techniques ont fait l'objet de prises de brevet. Est-ce-que ce sont des plateformes qui doivent devenir un bien commun de l'humanité, ou doit-il y avoir un accaparement du savoir et priver certains patients de l'accès à ces traitements ? Actuellement, le coût d'une thérapie génique (in vivo* ou ex-vivo*) si elle est disponible, est extrêmement élevé. Glybera, le premier traitement de thérapie génique corrective approuvé par l'Union Européenne (en 2012, pour traiter une forme de dyslipidémie très rare) serait ainsi commercialisé à un prix dépassant le million d'euro par patient [61].

Un sujet intéressant qui soulèvent des questions éthiques est le Paludisme qui, selon l'OMS* entraine environ 500 000 morts par an. Le forçage génétique avec CRIPSR/Cas9 pourrait éradiquer certaines espèces de moustiques en rendant ces populations stériles. Peut-on se plaindre de supprimer le vecteur d'une maladie mortelle telle que le paludisme? La question est plutôt de se tourner vers l'impact que cela pourrait avoir sur la biodiversité. Que se passe t'il si le gène d'infertilité est transféré vers d'autres insectes ? Comme par exemple les abeilles, ce serait une catastrophe pour la pollinisation et pour l'environnement. Même si ce dernier exemple ne relève pas de l'application clinique de la méthode, il est tout de même intéressant d'aborder furtivement ces thématiques sociétales*. [20]

L'édition du génome* s'inscrit également dans un débat plus large à l'échelle de notre société, soulevant des questions sur le transhumanisme*, sur l'expérimentation animale et sur la protection de l'environnement. Quelles sont les applications de l'édition du génome* pouvant être autorisées et celles devant être interdites ?

Ce débat est déjà engagé par de nombreuses institutions publiques françaises dont l'Inserm, mais aussi à l'étranger. En effet, le 23 Mars 2018, le comité d'éthique de l'Inserm en association avec plusieurs partenaires européens et internationaux, a tenu une conférence pour le lancement d'ARRIGE (*Association for Responsible Research and Innovation in Genome Editing*). ARRIGE souhaite fournir un cadre complet de réflexions et de propositions pour toutes les parties prenantes (universitaires, entreprises privées, organisations de patients, citoyens, décideurs) afin de permettre le développement de ces technologies dans un environnement sûr et socialement acceptable. [62]

Seule une recherche importante et dynamique pourra répondre aux multiples questions scientifiques ouvertes, permettre d'élaborer les outils d'évaluation de la sécurité de la méthode et ainsi éclairer le public et les décideurs politiques pour autoriser ou non le transfert vers des applications utiles et sûres. [22]

Une question à creuser à l'occasion de la révision des lois de bioéthique, prévue elle aussi en 2018. [43] La loi française de bioéthique, votée en 2011, affirme que "la création d'embryons transgéniques ou chimériques est interdite". Même dans le cadre de recherches fondamentales. L'académie de médecine, l'Inserm et des parlementaires ont justement demandé des assouplissements sur cette question. Cette révision est essentielle pour pouvoir définir, dans le futur, ce qui pourrait être autorisé chez l'homme en termes d'approches thérapeutiques. [43]

D) Enjeux de la conduite d'essais cliniques first in man utilisant la méthode CRISPR/Cas 9

Pour revenir au coeur du sujet de ce mémoire, nous pouvons constater que la mise en place de tels essais cliniques représente un défi considérable pour les différentes parties prenantes.

En effet la réglementation internationale, européenne ou française n'est pas spécifique à l'édition du génome, il n'y a donc pas de cadre clairement défini. Le premier enjeu est donc de réussir à correctement catégoriser ce type d'essai clinique d'un point de vue réglementaire. Dans le futur, la réglementation devra également s'adapter pour encadrer ce genre d'essais cliniques qui ne seront que plus nombreux.

La réglementation doit aussi être réfléchi au vue des conséquences en terme de **compétitivé** inter-pays.

Pour les équipes investigatrices, l'enjeu sera de taille pour respecter les engagements vis à vis de la conduite de l'essai, notamment au vue de la logistique importante que cela implique sur site. C'est également un défi de trouver des patients qui acceptent de participer à un tel essai clinique, et de maintenir leur participation durant tout le suivi à long terme.

Ensuite, pour le promoteur, il s'agit également de réussir à concevoir un essai clinique dans les règles de l'art tout en prenant compte les nombreuses exigences applicables au contexte de première administration et de thérapie génique avec OGM.

Des résultats positifs à la suite d'un essai clinique de première administration chez l'homme emmènent le traitement en phase II puis en phase III ce qui permettra d'évaluer la vrai vie du médicament, sur un grand nombre de patient. Le but ultime étant d'obtenir une autorisation d'AMM.

Enfin, cela représente un réel espoir de guérison, ou d'amélioration de confort de vie, pour les patients atteints de maladies monogéniques jusqu'alors incurables.

CONCLUSION

La méthode d'édition du génome **CRISPR/cas 9** est très récente et nous ne possédons que très peu de recul concernant son application clinique. Cependant, le potentiel et les perspectives qu'elle offre sont énormes, c'est pourquoi, plusieurs essais cliniques utilisant la méthode sont déjà en cours. La difficulté est qu'il n'existe pas encore de réglementation spécifique à l'édition du génome* en Europe, et donc pas de réglementation spécifique pour ce type d'essais cliniques. Cependant, en étudiant profondément la réglementation européenne actuelle, un essai clinique utilisant CRISPR/cas 9 peut tout de même être catégorisé d'**essai clinique de thérapie innovante avec OGM**, ce qui se traduit par un contexte réglementaire complexe et exigeant la mise en place de mesures spécifiques.

Les activités opérationnelles autour de la conduite d'un tel essai sont donc impactées et les parties prenantes doivent composer avec les spécificités propres à ce produit d'investigation particulier. Les maîtres mots sont **communication et collaboration** main dans la main entre les équipes investigatrices et promotrices, mais également **formation** accentuée au protocole et aux procédures spécifiques. Ensuite, la notion de **gestion et prévention des risques** sera omniprésente durant la conduite de l'essai. Cependant, comme dans tout essai clinique, l'imprévisible ne peut être maîtrisé à l'avance, il faut donc savoir déployer des capacités **de réactivité et d'adaptabilité**. Il s'agit également d'assurer la **sécurité des patients** participant à l'essai, notamment en constituant un **Comité de Surveillance Indépendant**.

L'application clinique de la méthode d'édition du génome CRISPR/Cas 9 au travers d'essais cliniques de première administration chez l'homme représente donc un challenge qui est cependant **réalisable**, comme nous le prouve le protocole **CTX001-111** en cours en Europe. La mise en place de ces essais redonne également de l'espoir aux patients atteints de maladies monogéniques jusqu'alors incurables.

Pour conclure, ce mémoire nous montre que la recherche clinique est un milieu très dynamique qui doit évoluer grâce aux avancées scientifiques, pour offrir de nouvelles perspectives thérapeutiques aux patients.

Dans quelques années, si les résultats des essais cliniques utilisant CRISPR/Cas 9 sont positifs, comment la réglementation pourra limiter l'utilisation de la méthode à certaines pathologies ? Comment définir les critères d'accès des patients à cette technologie ?

BIBLIOGRAPHIE ET WEBOGRAPHIE

- [1] **Larousse Médical**, Encyclopédie. *Acides nucléiques*. Larousse **[En ligne]**. (s.d) Disponible sur: <http://www.larousse.fr/encyclopedie/medical/acide_nucléique/10910> (Consulté le 19 Mai 2018)
- [2] **Larousse**, Dictionnaire. *Autologue*. **[En ligne]**. (s.d) Disponible sur: < <https://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/autologue/6741> > (Consulté le 27 Juillet 2018)
- [3] **Larousse Médical**, Encyclopédie. *Code Génétique*. Larousse **[En ligne]**. (s.d) Disponible sur: <http://www.larousse.fr/encyclopedie/divers/code_génétique/34856> (Consulté le 19 Mai 2018)
- [3] **Larousse**, Encyclopédie. *Embryogenèse*. Larousse **[En ligne]**. (s.d) Disponible sur: < <http://www.larousse.fr/encyclopedie/divers/embryogenèse/47055> > (Consulté le 19 Mai 2018)
- [4] **Collège National de Pharmacologie médicale**. *Pharmacocinétique et variabilité de réponse au médicament, Demi-vie*. CNPM **[En ligne]**. (s.d) Disponible sur: < <https://pharmacomedicale.org/pharmacologie/pharmacocinetique-et-variabilite-de-reponse-au-medicament/38-parametres-pharmacocinetiques/80-demi-vie> > (Consulté le 27 Juillet 2018)
- [5] **Larousse**, Encyclopédie. *Dossier consacré à la vie, Génome*. Larousse **[En ligne]**. (s.d) Disponible sur: <<http://www.larousse.fr/encyclopedie/divers/génome/55038>> (Consulté le 19 Mai 2018)
- [6] **Universalis**, Encyclopaedia. *Enzymes*. Gabriel GACHELIN **[En ligne]**. (s.d) Disponible sur: <<https://www.universalis.fr/encyclopedie/enzymes/>> (Consulté le 27 Juillet 2018)
- [7] **Larousse**, Dictionnaire. *Eucaryote*. Larousse **[En ligne]**. (s.d) Disponible sur: <<http://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/eucaryote/31619?q=eucaryote#31550>> (Consulté le 19 Mai 2018)
- [8] **Larousse**, Dictionnaire. *Ex vivo*. Larousse **[En ligne]**. (s.d) Disponible sur: <http://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/ex_vivo/32528> (Consulté le 27 Juillet 2018)
- [9] **INSERM**. *Huntington (maladie de)*. Anne-Catherine Bachoud-Levi **[En ligne]**. (13 Février 2016) Disponible sur: <<https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/huntington-maladie>> (Consulté le 27 Juillet 2018)
- [10] **Larousse**, Dictionnaire. *In vitro*. Larousse **[En ligne]**. (s.d) Disponible sur: <https://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/in_vitro/44141?q=in+vitro#44069> (Consulté le 27 Juillet 2018)
- [11] **Larousse**, Dictionnaire. *In vivo*. Larousse **[En ligne]**. (s.d) Disponible sur: <https://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/in_vivo/44143> (Consulté le 27 Juillet 2018)
- [12] **INSERM**. *Myopathie de Duchenne*. Dr Gillian Butler-Browne **[En ligne]**. (01 Décembre 2012) Disponible sur: <<https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/myopathie-de-duchenne>> (Consulté le 27 Juillet 2018)
- [13] **FRANCE ANSM**. *Pharmacovigilance*. ANSM **[En ligne]**. (2017) Disponible sur: <[https://www.ansm.sante.fr/Declarer-un-effet-indesirable/Pharmacovigilance/Organisation-de-la-pharmacovigilance-nationale/\(offset\)/0](https://www.ansm.sante.fr/Declarer-un-effet-indesirable/Pharmacovigilance/Organisation-de-la-pharmacovigilance-nationale/(offset)/0)> (Consulté le 27 Juillet 2018)
- [14] **Orphanet**. *Phénylcétonurie*. Orphanet **[En ligne]**. (26 Juillet 2018) Disponible sur: <https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=FR&Expert=716> (Consulté le 27 Juillet 2018)
- [15] **Larousse**, Encyclopédie. *Procaryote*. Larousse **[En ligne]**. (s.d) Disponible sur: <<http://www.larousse.fr/encyclopedie/divers/procaryote/83284>> (Consulté le 19 Mai 2018)

- [16] **Larousse**, Dictionnaire. *Protéine*. Larousse **[En ligne]**. (s.d) Disponible sur: < <http://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/prot%C3%A9ine/64527>> (Consulté le 19 Mai 2018)
- [17] **Larousse**, Dictionnaire. Sociétal. Larousse **[En ligne]**. (s.d) Disponible sur: < <http://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/sociétal/73148?q=sociétal#72317>> (Consulté le 27 Juillet 2018)
- [18] **Universalis**, Encyclopaedia. *Transhumanisme*. Gérard CHAZAL **[En ligne]**. (s.d) Disponible sur: <<https://www.universalis.fr/encyclopedie/transhumanisme/>> (Consulté le 27 Juillet 2018)
- [19] **Collège national des enseignants et praticiens de génétique médicale**. Février 2016. Génétique médicale Enseignement thématique., Elsevier Masson SAS, p348, **5-10**
- [20] **Association S3Odéon**. *Session du 7 Octobre 2017*. Les enjeux éthiques de CRISPR/Cas9. HERVÉ CHNEIWEISS **[Vidéo En ligne]**. (7 Octobre 2017) Disponible sur : <<https://www.s3odeon.fr/project/les-enjeux-ethiques-de-crispr-cas-9-herve-chneiweiss>> (Consulté le 10 Juillet 2018)
- [21] **Science**. *How the battle lines over CRISPR were drawn*. Jon Cohen **[En ligne]**. (15 Février 2017) Disponible sur : <<http://www.sciencemag.org/news/2017/02/how-battle-lines-over-crispr-were-drawn>> (Consulté le 19 Mai 2018)
- [22] **INSERM**. *Édition du génome : des possibilités inouïes qui posent des questions éthiques*. INSERM **[En ligne]**. (19 Juin 2018) Disponible sur : <<https://www.inserm.fr/actualites-et-evenements/actualites/edition-genome-possibilites-inouies-qui-posent-questions-ethiques>> (Consulté le 18 Juillet 2018)
- [23] **EU Clinical Trial Register**. *Trial 2017-003351-38/DE*. (s.d) **[En ligne]**. (s.d) Disponible sur : < <https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/trial/2017-003351-38/DE#N> > (Consulté le 18 Juillet 2018)
- [24] **NIH U.S. National Library of Medicine**. *14 Studies found for: Crispr cas9* (s.d) **[En ligne]**. (s.d) Disponible sur : <<https://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=&term=crispr+cas9&cntry=&state=&city=&dist=>> (Consulté le 18 Juillet 2018)
- [25] **The Conversation**. *CRISPR/Cas9, comment modifier les génomes va changer la société*. INSERM, Solveig Fenet, François Hirsch, Hervé Chneiweiss **[En ligne]**. (16 Février 2018) **Disponible sur** : <<https://theconversation.com/crispr-cas9-comment-modifier-les-genomes-va-changer-la-societe-66320>> (Consulté le 19 Juillet 2018)
- [26] **INSERM**. *Thérapie génique, Une recherche de longue haleine qui porte ses fruits*. INSERM, Anne Galy **[En ligne]**. (01 Juin 2018) Disponible sur : <<https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/therapie-genique>> (Consulté le 22 Juillet 2018)
- [27] **ACADÉMIE DES SCIENCES, Institut de France**. *Séance Publique du 22 Mars 2016, La révolution CRISPR/Cas9*. Conférences d'Emmanuelle Charpentier et de Jennifer Doudna **[Vidéos en ligne]**. (22 Mars 2016) Disponible sur : <<http://www.academie-sciences.fr/fr/Seances-publiques/la-revolution-crispr-cas9.html>> (Consulté le 15 Mai 2018)
- [28] **INSERM**. *L'édition génomique*. INSERM, Carine Giovannangeli, Anne Galy, Hervé Chneiweiss **[En ligne]**. (12 Juin 2018) Disponible sur : <<https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/edition-genomique>> (Consulté le 22 Juillet 2018)
- [29] **CNRS Le Journal**. *Dossier, CRISPR-Cas9 des ciseaux génétiques pour le cerveau*. Léa Galanopoulo **[En ligne]**. (18 Décembre 2015) Disponible sur : <<https://lejournalejournal.cnrs.fr/articles/crispr-cas9-des-ciseaux-genetiques-pour-le-cerveau>> (Consulté le 22 Juillet 2018)
- [30] **Harvard University**. *CRISPR: A game-changing genetic engineering technique*. Barrangou, R. and Marraffini **[En ligne]**. (2014) Disponible sur : <<http://sitn.hms.harvard.edu/flash/2014/crispr-a-game-changing-genetic-engineering-technique/>> (Consulté le 27 Juillet 2018)
- [31] **France Science**, *La transgénése 2.0 avec CRISPR*. Flora Plessier **[En ligne]**. (03 Mai 2016) Disponible sur : <<https://www.france-science.org/La-transgenese-2-0-avec-CRISPR.html>> (Consulté le 22 Juillet 2018)

- [32] **CRISPR Therapeutics**. *CRISPR Platform*. (s.d) **[En ligne]**. (2017) Disponible sur : <<http://crisprtx.com/crispr-platform/crispr-cas9-gene-editing.php?section=therapeutic-approach>> (Consulté le 27 Juillet 2018)
- [33] **Fondation Recherche Médicale**. *Innovation et Santé - CRISPR-Cas9 : un outil génétique révolutionnaire*. (s.d) **[En ligne]**. (24 Avril 2017) Disponible sur : <<https://www.frm.org/crispr-cas9-outil-genetique>> (Consulté le 20 Juillet 2018)
- [34] **Ambassade de France à Washington Service pour la Science et la Technologie**. *Rapport d'Ambassade - Sciences de la vie, CRISPR-Cas9, Edition du génome, Ethique, Politique scientifique*. Fabien Agenès, Gabrielle Mérite **[En ligne]**. (Février 2016) Disponible sur : <https://www.france-science.org/IMG/pdf/160302_rapport_ambassade_e-u_crispr-cas9.pdf> (Consulté le 25 Juillet 2018)
- [35] **LEEM**. *Les essais cliniques en 12 questions : Tout savoir sur le sujet*. (s.d) **[En ligne]**. (28 Février 2017) Disponible sur : <<https://www.leem.org/sites/default/files/questions%20sur%20les%20essais%20cliniquesVF.pdf>> (Consulté le 25 Juillet 2018)
- [36] **FRANCE - Agence Nationale de la Sécurité du Médicament et des produits de santé**. *Réglementation [en ligne]*. (2017) Disponible sur : <[http://ansm.sante.fr/Activites/Essais-cliniques/Reglementation/\(offset\)/5](http://ansm.sante.fr/Activites/Essais-cliniques/Reglementation/(offset)/5)> (Consulté le 01/07/18)
- [37] **FRANCE - Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale**. *Bonnes Pratiques Cliniques (BPC)*. **[En ligne]**. (s.d) Disponible sur : <<http://extranet.inserm.fr/recherche-clinique-et-en-sante/recherche-sur-les-personnes/aspects-reglementaires/bonnes-pratiques-cliniques-bpc>> (Consulté le 01/07/18)
- [38] **EUR-Lex**. *Directive 2001/83/CE du Parlement européen et du Conseil du 6 novembre 2001 instituant un code communautaire relatif aux médicaments à usage humain*. **[En ligne]**. Disponible sur : <<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=celex%3A32001L0083>> (Consulté le 24/07/18)
- [39] **EUR-Lex**. *Directive 2001/20/CE du Parlement européen et du Conseil, du 4 avril 2001, concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives des États membres relatives à l'application de bonnes pratiques cliniques dans la conduite d'essais cliniques de médicaments à usage humain*. **[En ligne]**. Disponible sur : <<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=LEGISSUM%3A121165>> (Consulté le 24/07/18)
- [40] **EUR-Lex**. *Règlement (UE) n ° 536/2014 du Parlement européen et du Conseil du 16 avril 2014 relatif aux essais cliniques de médicaments à usage humain et abrogeant la directive 2001/20/CE*. **[En ligne]**. Disponible sur : <<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=CELEX%3A32014R0536>> (Consulté le 24/07/18)
- [41] **EUR-Lex**. *Directive 2005/28/CE de la Commission du 8 avril 2005 fixant des principes et des lignes directrices détaillées relatifs à l'application de bonnes pratiques cliniques en ce qui concerne les médicaments expérimentaux à usage humain, ainsi que les exigences pour l'octroi de l'autorisation de fabriquer ou d'importer ces médicaments*. Disponible sur : <<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/ALL/?uri=CELEX%3A32005L0028>> (Consulté le 24/07/18)
- [42] **EUR-Lex**. *Règlement (UE) 2016/679 du Parlement européen et du Conseil du 27 avril 2016 relatif à la protection des personnes physiques à l'égard du traitement des données à caractère personnel et à la libre circulation de ces données, et abrogeant la directive 95/46/CE*. Disponible sur : <<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=CELEX%3A32016R0679>> (Consulté le 24/07/18)
- [43] **FRANCE, Gouvernement**. *Bioéthique : les États généraux de la bioéthique sont lancés*. (s.d) **[En ligne]**. (23 Janvier 2018) Disponible sur : <<https://www.gouvernement.fr/argumentaire/bioethique-les-etats-generaux-de-la-bioethique-sont-lances>> (Consulté le 24/07/18)
- [44] **FRANCE, ANSM**. *Médicaments de thérapie innovante et préparations cellulaires à finalité thérapeutique*. ANSM **[En ligne]**. (12 Avril 2012) Disponible sur : <[https://ansm.sante.fr/L-ANSM/Medicaments-de-therapie-innovante-et-preparations-cellulaires-a-finalite-therapeutique/Le-contexte-reglementaire-des-medicaments-de-therapie-innovante/\(offset\)/0](https://ansm.sante.fr/L-ANSM/Medicaments-de-therapie-innovante-et-preparations-cellulaires-a-finalite-therapeutique/Le-contexte-reglementaire-des-medicaments-de-therapie-innovante/(offset)/0)> (Consulté le 23/07/18)

[45] Florence Taboulet, « Les médicaments de thérapie innovante : quelles spécificités en droit pharmaceutique ? », *Quaderni* [En ligne], 81 | Printemps 2013, mis en ligne le 05 juin 2015, Disponible sur : <<http://journals.openedition.org/quaderni/702> ; DOI : 10.4000/quaderni.702 <https://journals.openedition.org/quaderni/702#quotation>> (Consulté le 23 juillet 2018)

[46] **FRANCE, ANSM.** *Guide : MTI, MTI-PP et préparations : Synthèse du cadre réglementaire applicable pour la fabrication, le développement et la mise sur le marché de ces produits. Version 1 du 30 mars 2012.* (s.d) [En ligne]. (05 Juin 2018) Disponible sur : <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=2ahUKEwiK0cerwcDcAhWLyLUKHffYCrIQFjAAegQIABAC&url=http%3A%2F%2Fansm.sante.fr%2Fcontent%2Fdownload%2F40916%2F532846%2Fversion%2F2%2Ffile%2FMTI-MTI-PP_et_preparation_V2.pdf&usq=AOvVaw2mq6PmjRLvBj-E_BldsZFr> (Consulté le 23 Juillet 2018)

[47] **EUR-Lex. Règlement (CE) 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) n° 726/2004.** Disponible sur : <<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=celex%3A32007R1394>> (Consulté le 23 juillet 2018).

[48] **Haut Conseil des Biotechnologies.** *Manuel du HCB pour l'utilisation confinée d'organismes génétiquement modifiés.* (s.d) [En ligne]. (30 Novembre 2014) Disponible sur : <http://www.hautconseildesbiotechnologies.fr/fr/system/files/file_fields/2015/06/30/manuelduconfine.pdf> (Consulté le 23 juillet 2018).

[49] **Théo Pezel.** Mai 2017. Réussite à la Lecture Critique d'Article pour le concours ECNi., Vuibert, p212, **22-26**

[50] **European Commission,** Consumer goods Pharmaceuticals. *Detailed guidelines on good clinical practice specific to advanced therapy medicinal products.* Brussels, 03/12/2009. Disponible sur : <https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/eudralex/vol-10/2009_11_03_guideline.pdf> (Consulté le 03 Septembre 2018)

[51] **ANSM.** *Avis aux promoteurs d'essais cliniques de médicaments, y compris les essais cliniques portant sur les médicaments de thérapie innovante (MTI) - Mise en place et conduite des recherches impliquant le personne humaine MENTIONNEES AU 1° DE L'ARTICLE L.1121-1 DU CODE DE LA SANTE PUBLIQUE PORTANT SUR LE MEDICAMENT.* Version 4 du 01/06/2018. Disponible sur : <https://www.ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/90105aa64b104e53265ce9ef6ca25da3.pdf> (Consulté le 10 Septembre 2018)

[52] **Info Cancer.** *La mise au point d'un nouveau traitement.* (s.d) [En ligne]. (04 Avril 2012) Disponible sur : <<http://www.arcagy.org/infocancer/en-savoir-plus/essais-therapeutiques-recherche-clinique/la-mise-au-point-d-un-nouveau-traitement.html>> (Consulté le 04 Septembre 2018)

[53] **John Libbey Euronext.** *Médecine thérapeutique, analyse en intention de traiter et analyse per protocole.* (Sylvie Chabaud, Michel Cucherat) [En ligne]. (Octobre 2004) Disponible sur : <https://www.jle.com/fr/revues/met/e-docs/lanalyse_en_intention_de_traiter_et_analyse_per_protocole_264798/article.phtml?tab=texte> (Consulté le 03 Septembre 2018)

[54] **Académie Européenne des patients.** *Recrutement dans les essais cliniques.* (S.D) [En ligne]. (10-09-2015) Disponible sur : <<https://www.eupati.eu/fr/developpement-et-essais-cliniques/recrutement-dans-des-essais-cliniques/>> (Consulté le 10 Septembre 2018)

[55] **EMA - COMMITTEE FOR MEDICINAL PRODUCTS FOR HUMAN USE (CHMP).** *GUIDELINE ON DATA MONITORING COMMITTEES.* London, 27 July 2005. Disponible sur : <http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003635.pdf> (Consulté le 04 Septembre 2018)

[56] **GIRCI.** *Guide : Gestion d'une étude de thérapie génique de l'investigation à la promotion.* (s.d) [En ligne]. (version 2.0 Septembre 2016) Disponible sur : <https://www.girci-soom.fr/sites/default/files/Productions/Guides/Gestion%20étude%20thérapie_génique.pdf> (Consulté le 15 Septembre 2018)

[57] **Encyclopédie Orphanet Grand Public. Bêta-Thalassémie.** (S.D) **[En ligne]**. (Juin 2008) Disponible sur: < <https://www.orpha.net/data/patho/Pub/fr/BetaThalassemie-FRfrPub51.pdf> >(Consulté le 05 Septembre 2018)

[58] **INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE.** ICH Guidelines for Good Clinical Practices (E6) Current Step 4 version dated 10 June 1996. Disponible sur: <https://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Efficacy/E6/E6_R1_Guideline.pdf > (Consulté le 10 Septembre 2018)

[59] **Nature.** *Repair of double-strand breaks induced by CRISPR–Cas9 leads to large deletions and complex rearrangements.* Michael Kosicki, Kärt Tomberg & Allan Bradley **[En ligne]**. (16 Juillet 2018) Disponible sur : <<https://www.nature.com/articles/Nbt.4192>> (Consulté le 25 juillet 2018).

[60] **Nature. Medicine volume 24, pages 927–930 (2018).** *CRISPR–Cas9 genome editing induces a p53-mediated DNA damage response.* Emma Haapaniemi, Sandeep Botla, Jenna Persson, Bernhard Schmierer & Jussi Taipale. **[En ligne]**. (11 Juin 2018) Disponible sur : <<https://www.nature.com/articles/s41591-018-0049-z>> (Consulté le 25 juillet 2018).

[61] **Reuters.** *First gene therapy drug sets million-euro price record.* Ludwig Burger, Ben Hirschler **[En ligne]**. (26 novembre 2014) Disponible sur : <<https://www.reuters.com/article/us-health-genetherapy-price/exclusive-first-gene-therapy-drug-sets-million-euro-price-record-idUSKCN0JA1TP20141126>> (Consulté le 20 juillet 2018)

[62] **FRANCE - Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale.** *Lancement de l'Association for Responsible Research and Innovation in Genome Editing (ARRIGE) - Paris.* (s.d) **[En ligne]**. (Avril 2018) Disponible sur:<<https://www.inserm.fr/lancement-association-for-responsible-research-and-innovation-in-genome-editing-arrige-paris>> (Consulté le 07 Juillet 2018)

TABLE DES MATIÈRES

Remerciements	3
Sommaire	4
Glossaire	5
Liste des abréviations	7
Introduction	8

PARTIE I - La méthode d'édition du génome CRISPR/Cas9, une thérapie génique particulière.....10

A) CRISPR/Cas9 une méthode de thérapie génique.....	10
1) La thérapie génique.....	10
2) Différentes stratégies de thérapie génique.....	10
3) CRISPR/Cas9, une méthode de thérapie génique capable d'éliminer ou de réparer un gène altéré directement dans la cellule.....	11
B) Mécanisme d'action du système CRISPR/Cas9.....	11
1) En comprendre l'origine pour comprendre le fonctionnement.....	11
2) L'outil CRISPR/Cas 9.....	13
C) Comment délivrer le système aux patients pour une application thérapeutique ?.....	14
D) Exemple de perspectives d'application.....	15
1) Pour la médecine et la recherche.....	15
2) Pour l'Agriculture et le sanitaire.....	15
E) Etat de l'art des essais cliniques menés chez l'homme.....	16

PARTIE II - Contexte réglementaire de l'application clinique de CRISPR/Cas 9....19

A) Cadre réglementaire commun à tout les essais cliniques « first in man ».....	19
1) Pré-requis.....	19
2) Cadre réglementaire international.....	20
3) Cadre réglementaire européen.....	21
4) Cadre législatif en France.....	21
B) Contexte réglementaire s'appliquant aux essais cliniques portant sur la thérapie génique.....	22
1) Règlement européen sur les médicaments de thérapie innovant.....	22
2) Les médicaments de thérapie Innovante.....	23
a) <i>Les médicaments de thérapie génique</i>	23
b) <i>Les médicaments de "thérapie cellulaire somatique* »</i>	23
c) <i>Les médicaments "issus de l'ingénierie cellulaire ou tissulaire »</i>	24

d) Les médicaments "combinés de thérapie innovante ».....	24
3) Les médicaments de thérapie innovante préparés ponctuellement (MTI-PP).....	25
4) Les préparations.....	25
5) Différences entre les MTI, les MTI PP et les préparations.....	25
6) Notion de « modifications/manipulations substantielles ».....	26
7) Quelle définition est alors applicable pour l'édition du génome avec CRISPR/cas9?.....	26
C) Contexte réglementaire s'appliquant aux essais cliniques portant sur la thérapie génique avec un OGM thérapeutique	28
1) Définition d'un OGM.....	28
2) Classification des OGM et classe de confinement	28
D) Bilan - Cadre réglementaire s'appliquant à un essai clinique « first in man » utilisant CRISPR/Cas9	31
PARTIE III - Impacts organisationnels de l'utilisation d'un OGM thérapeutique lors d'un essai clinique first in man	32
A) Conception de l'essai clinique	32
1) Développement du protocole d'essai clinique	32
2) La Brochure investigateur	35
3) Le consentement patient et autres documents spécifiques	36
4) Composition d'un Comité de surveillance indépendant	37
5) Proposition d'un plan d'action de prévention des risques et d'assurance qualité	37
B) Qualification des centres investigateurs	39
1) Locaux et personnels	39
2) Gestion pharmaceutique	41
a) Réception et stockage.....	41
b) Préparation	41
c) Dispensation.....	41
d) Retour/destruction des unités thérapeutiques	42
3) Discussion avec les équipes.....	42
C) Soumissions réglementaires d'un essai clinique first in man de thérapie génique avec un OGM en France	44
D) Mise en place, recrutement et suivi des patients	46
E) Déroulement et monitoring de l'essai	48
PARTIE IV - Discussion	51
A) Enjeux techniques	51
B) Enjeux sécuritaires et militaires	52

C) Enjeux éthiques et sociétaux.....	53
D) Enjeux de la conduite d’essais cliniques first-in-man utilisant la méthode CRISPR/Cas 9.....	54
Conclusion	56
Bibliographie	57
Table des matières	62
Tables des illustrations	65
Tables des annexes	66

TABLE DES ILLUSTRATIONS

LISTE DES FIGURES :

Figure 1 : Observation au Microscope Électronique à Transmission de l'absorption des bactériophages T4 sur la surface bactérienne d'Escherichia Coli.....	12
Figure 2 : Les étapes de «l'immunité CRISPR » chez la bactérie	13
Figure 3 : Schéma des étapes du processus d'édition génomique à l'aide du complexe CRISPR-Cas9.....	13
Figure 4 : Schéma expliquant le processus d'introduction du complexe CRISPR/cas9 chez l'homme, Ex vivo ou In vivo.....	14
Figure 5 : Capture d'écran du tableau récapitulatif des caractéristique du TXC01.....	28
Figure 6 : Processus spécifique d'autorisation d'un essai clinique first-in-man de thérapie génique comportant un OGM en FRANCE.....	44

LISTE DES TABLEAUX :

Tableau 1 : Différences entre les MTI, les MTI PP et les préparations.....	25
Tableau 2 : Caractéristiques des médicaments de thérapie génique.....	27
Tableau 3 : Classes de confinement en fonction des groupes d'OGM et leur risque associé.....	29
Tableau 4 : Conditions de confinement pour les protocoles de thérapie génique avec un OGM en fonction des étapes.....	30
Tableau 5 : Contexte Réglementaire international, européen et en France, encadrant un essai clinique first in man de thérapie génique avec OGM.....	31
Tableau 6 : Proposition d'un plan d'action de gestion des risques pour un essai clinique utilisation CRISPR/Cas9.....	38
Tableau 7 : Caractéristiques des locaux, du confinement et des bonnes pratiques en fonction de la classe de l'OGM.....	40

TABLE DES ANNEXES

ANNEXE I - « <u>EU CLINICAL TRIAL REGISTER</u> », <i>TRIAL 2017-003351-38DE</i>	I
ANNEXE II - " <u>CLINICALTRIALS.GOV</u> ", ESSAIS CLINIQUES UTILISANT LA MÉTHODE CRISPR/CAS9.....	VI
ANNEXE III - « JOURNAL OF GENE MEDICINE », ESSAIS CLINIQUES UTILISANT CRISPR/CAS9.....	VII
ANNEXE IV - LES 4 PHASES DE DÉVELOPPEMENT D'UN MÉDICAMENT EN TERME D'OBJECTIFS ET DE CARACTÉRISTIQUES.....	X
ANNEXE V - FORMULAIRE <i>CERFA</i> DE DEMANDE D'AGRÉMENT D'UTILISATION CONFINÉE D'OGM DANS LE CADRE D'UNE UTILISATION EN THÉRAPIE GÉNIQUE.....	XII
ANNEXE VI - LISTE DES PIÈCES À VERSER À L'ANMS POUR UNE DEMANDE INITIALE D'AUTORISATION D'ESSAI CLINIQUE DE THÉRAPIE GÉNIQUE AVEC OGM EN FRANCE	X

ANNEXE I - « EU CLINICAL TRIAL REGISTER », TRIAL 2017-003351-38/DE.

Source : [23]



Clinical trials

The European Union Clinical Trials Register allows you to search for protocol and results information on:

- interventional clinical trials that are conducted in the European Union (EU) and the European Economic Area (EEA);
- clinical trials conducted outside the EU / EEA that are linked to European paediatric-medicine development.

Learn [more about the EU Clinical Trials Register](#) including the source of the information and the legal basis.

The EU Clinical Trials Register currently displays **33151** clinical trials with a EudraCT protocol, of which **5362** are clinical trials conducted with subjects less than 18 years old. The register also displays information on **18700** older paediatric trials (in scope of Article 45 of the Paediatric Regulation (EC) No 1901/2006).

Please enter search term... X

Examples: Cancer AND drug name. Pneumonia AND sponsor name.
[How to search \[pdf\]](#)

Advanced Search: [Search tools](#)

[< Back to search results](#)

Summary	
EudraCT Number:	2017-003351-38
Sponsor's Protocol Code Number:	CTX001-111
National Competent Authority:	Germany - PEI
Clinical Trial Type:	EEA CTA
Trial Status:	Ongoing
Date on which this record was first entered in the EudraCT database:	2017-12-07
Trial results	

Index	
A. PROTOCOL INFORMATION	
B. SPONSOR INFORMATION	
C. APPLICANT IDENTIFICATION	
D. IMP IDENTIFICATION	
D.8 INFORMATION ON PLACEBO	
E. GENERAL INFORMATION ON THE TRIAL	
F. POPULATION OF TRIAL SUBJECTS	
G. INVESTIGATOR NETWORKS TO BE INVOLVED IN THE TRIAL	
N. REVIEW BY THE COMPETENT AUTHORITY OR ETHICS COMMITTEE IN THE COUNTRY CONCERNED	
P. END OF TRIAL	

A. Protocol Information		
A.1	Member State Concerned	Germany - PEI
A.2	EudraCT number	2017-003351-38
A.3	Full title of the trial	A Phase 1/2 Study of the Safety and Efficacy of a Single Dose of Autologous CRISPR-Cas9 Modified CD34+ Human Hematopoietic Stem and Progenitor Cells (hHSPCs) in Subjects with Transfusion-Dependent β Thalassemia
A.3.1	Title of the trial for lay people, in easily understood, i.e. non-technical, language	A study to learn about the safety and efficacy of CTX001 (the "study drug product") to treat beta-thalassemia
A.4.1	Sponsor's protocol code number	CTX001-111
A.7	Trial is part of a Paediatric Investigation Plan	No
A.8	EMA Decision number of Paediatric Investigation Plan	

B. Sponsor Information		
B.Sponsor: 1		
B.1.1	Name of Sponsor	CRISPR Therapeutics AG
B.1.3.4	Country	Switzerland
B.3.1	Status of the sponsor and	Commercial
B.3.2		
B.4 Source(s) of Monetary or Material Support for the clinical trial:		
B.4.1	Name of organisation providing support	CRISPR Therapeutics AG
B.4.2	Country	Switzerland

B.5 Contact point designated by the sponsor for further information on the trial

B.5.1	Name of organisation	CRISPR Therapeutics
B.5.2	Functional name of contact point	Senior Medical Director
B.5.3	Address:	
B.5.3.1	Street Address	610 Main Street
B.5.3.2	Town/ city	Cambridge, MA
B.5.3.3	Post code	02139
B.5.3.4	Country	United States
B.5.4	Telephone number	+1617-307-7264
B.5.6	E-mail	clinicaltrials@crisprtx.com

D. IMP Identification

D.IMP: 1		
D.1.2 and D.1.3	IMP Role	Test
D.2 Status of the IMP to be used in the clinical trial		
D.2.1	IMP to be used in the trial has a marketing authorisation	No
D.2.5	The IMP has been designated in this indication as an orphan drug in the Community	No
D.2.5.1	Orphan drug designation number	
D.3 Description of the IMP		
D.3.1	Product name	CTX001
D.3.2	Product code	CTX001
D.3.4	Pharmaceutical form	Dispersion for infusion
D.3.4.1	Specific paediatric formulation	No
D.3.7	Routes of administration for this IMP	Intravenous use
D.3.8 to D.3.10 IMP Identification Details (Active Substances)		
D.3.8	INN - Proposed INN	Autologous CRISPR-Cas9 Modified CD34+ Human Hematopoietic Stem and Progenitor Cells (hHSPCs)
D.3.9.2	Current sponsor code	CTX001
D.3.10	Strength	
D.3.10.1	Concentration unit	Other
D.3.10.2	Concentration type	not less than
D.3.10.3	Concentration number	3
D.3.11 The IMP contains an:		
D.3.11.1	Active substance of chemical origin	No
D.3.11.2	Active substance of biological/ biotechnological origin (other than Advanced Therapy IMP (ATIMP))	No
The IMP is a:		
D.3.11.3	Advanced Therapy IMP (ATIMP)	Yes
D.3.11.3.1	Somatic cell therapy medicinal product	Yes
D.3.11.3.2	Gene therapy medicinal product	No
D.3.11.3.3	Tissue Engineered Product	No
D.3.11.3.4	Combination ATIMP (i.e. one involving a medical device)	No
D.3.11.3.5	Committee on Advanced therapies (CAT) has issued a classification for this product	No
D.3.11.4	Combination product that includes a device, but does not involve an Advanced Therapy	No
D.3.11.5	Radiopharmaceutical medicinal product	No
D.3.11.6	Immunological medicinal product (such as vaccine, allergen, immune serum)	No
D.3.11.7	Plasma derived medicinal product	No
D.3.11.8	Extractive medicinal product	No
D.3.11.9	Recombinant medicinal product	No
D.3.11.10	Medicinal product containing genetically modified organisms	Yes
D.3.11.11	Herbal medicinal product	No
D.3.11.12	Homeopathic medicinal product	No
D.3.11.13	Another type of medicinal product	No

D.8 Information on Placebo

E. General Information on the Trial

E.1 Medical condition or disease under investigation		
E.1.1	Medical condition(s) being investigated	Transfusion-Dependent β Thalassemia
E.1.1.1	Medical condition in easily understood language	Transfusion-Dependent β Thalassemia
E.1.1.2	Therapeutic area	Diseases [C] - Congenital, Hereditary, and Neonatal Diseases and Abnormalities [C16]
MedDRA Classification		
E.1.2 Medical condition or disease under investigation		

E.1.2	Version	20.0
E.1.2	Level	PT
E.1.2	Classification code	10043391
E.1.2	Term	Thalassaemia beta
E.1.2	System Organ Class	10010331 - Congenital, familial and genetic disorders
E.1.3	Condition being studied is a rare disease	Yes
E.2	Objective of the trial	
E.2.1	Main objective of the trial	<p>Part A: To evaluate the safety and efficacy of a single dose of autologous CRISPR-Cas9 modified CD34+ hHSPCs (CTX001) in subjects with transfusion-dependent β-thalassemia (TDT)</p> <p>Part B: Evaluate long-term safety of CTX001 in subjects who received a single dose of CTX001 for treatment of TDT</p>
E.2.2	Secondary objectives of the trial	<p>Part A:</p> <ul style="list-style-type: none"> • To quantify percentage of edited alleles in peripheral blood leukocytes and bone marrow cells • To assess the production of HbF post-CTX001 infusion • To assess the effects of infusion of CTX001 on disease-specific events and clinical status <p>Part B:</p> <ul style="list-style-type: none"> • To evaluate efficacy up to 5 years after CTX001 infusion in subjects who received CTX001 for treatment of TDT
E.2.3	Trial contains a sub-study	No
E.3	Principal inclusion criteria	<p>Part A:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Age ≥ 18 and ≤ 35 years of age. 2. Able to provide written informed consent. 3. Diagnosis of transfusion-dependent β-thalassemia (TDT) as defined by: <ol style="list-style-type: none"> a. Documented homozygous β-thalassemia (with the exception of the $\beta 0/\beta 0$ genotype) or compound heterozygous β-thalassemia including β-thalassemia/hemoglobin E (HbE). Subjects can be enrolled based on historical data, but a confirmation of the genotype using the study central laboratory will be required before busulfan conditioning. The $\beta 0/\beta 0$ genotypes are defined using the HbVar Database. b. A history of at least 100 mL/kg/year or 10 units/year of packed Red Blood Cell (RBC) transfusions in the prior 2 years before signing the consent. 4. Karnofsky performance status of $\geq 80\%$. 5. Eligible for autologous stem cell transplant as per investigator's judgment. 6. Access to detailed medical records on packed RBC transfusions, including volume or units of packed RBCs and associated pre-transfusion Hb values, and in-patient hospitalizations, for at least the 2 years prior to consent. 7. Female subjects of childbearing potential (postmenarcheal, has an intact uterus and at least 1 ovary, and is less than 1 year postmenopausal) must agree to use acceptable method(s) of contraception from consent through at least 6 months after CTX001 infusion. 8. Male subjects must agree to use effective contraception (including condoms) from start of mobilization through at least 6 months after CTX001 infusion. 9. Willing to participate in long-term follow-up for up to 15 years after CTX001 infusion <p>Part B:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Subjects must have received CTX001 infusion
E.4	Principal exclusion criteria	<p>Part A:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. An available 10/10 Human Leukocyte Antigen (HLA)-matched related donor. 2. Prior allo-hematopoietic stem cell transplant (HSCT). 3. Subjects with associated α-thalassemia and >1 alpha chain deletion. 4. Subjects with a $\beta 0/\beta 0$ thalassemia genotype or sickle cell beta thalassemia variant 5. Clinically significant and active bacterial, viral, fungal, or parasitic infection as determined by the investigator. 6. White blood cell (WBC) count $< 3 \times 10^9/L$ or platelet count $< 50 \times 10^9/L$ not related to hypersplenism. 7. History of a significant bleeding disorder. 8. History of any illness or any clinical condition that, in the opinion of the investigator, might confound the results of the study or pose an additional risk in administering study drug to the subject. This may include, but is not limited to: immediate family member with a known family cancer syndrome, history of relevant drug allergies; history of cardiovascular or central nervous system disease; history or presence of clinically significant pathology; history of uncontrolled seizure disorders, or history of mental disease. 9. Any prior or current malignancy or myeloproliferative disorder or a significant immunodeficiency disorder. 10. Advanced liver disease, defined as: <ol style="list-style-type: none"> a. Aspartate transaminase (AST), alanine transaminase (ALT) > 3 x the upper limit of normal (ULN), or direct bilirubin value > 2 x the ULN, or b. Baseline prothrombin time (International Normalized Ratio; INR) > 1.5 x ULN, or c. History of cirrhosis or any evidence of bridging fibrosis, or active hepatitis on liver biopsy. Liver biopsy is required when liver iron concentration (LIC) is ≥ 15 mg/g on T2* MRI of liver. If a liver biopsy has been performed less than 6

months prior to consent, it does not need to be repeated.

11. A cardiac T2* <10 ms by MRI or left ventricular ejection fraction (LVEF) <45% by echocardiogram.

12. Baseline estimated glomerular filtration rate <60 mL/min/1.73 m².

13. Diffusing capacity of the lungs for carbon monoxide (DLco) <50% of predicted (corrected for hemoglobin and/or alveolar volume).

14. Prior treatment with gene therapy.

15. Intolerance, contraindication, or known sensitivity to plerixafor, granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) products (e.g., filgrastim), or busulfan. Prior anaphylaxis with excipients of CTX001 product (Dimethyl sulfoxide [DMSO], Dextran).

16. Positive serology for human immunodeficiency virus-1 (HIV-1) or human immunodeficiency virus-2 (HIV-2), hepatitis B virus (HBV; hepatitis B core antibody [HBcAb] and positive HBV polymerase chain reaction [PCR]), or hepatitis C virus (HCV) (positive HCV PCR). Positive serology for syphilis, toxoplasmosis or any other infectious disease marker as required by local testing for cellular processing.

17. Participation in another clinical study with an investigational drug within 30 days of screening or fewer than 5 half-lives of the investigational agent, whichever is longer from screening.

18. An assessment by the investigator that the subject would not comply with the study procedures outlined in the protocol.

19. Pregnant or breastfeeding females.

Part B:

1. There are no exclusion criteria.

E.5 End points

E.5.1 Primary end point(s)

Part A:

Safety:

- Proportion of subjects with engraftment. Engraftment is defined as ANC \geq 500/ μ L for three consecutive days. Engraftment failure is defined as any subject not achieving neutrophil engraftment by Day +42 following CTX001 infusion or if backup unmodified CD34+ cells are utilized.
- Time to engraftment.
- Frequency and severity of collected AEs from signing of informed consent through Month 24 visit as assessed by the National Cancer Institute (NCI) Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) v4.03.
- Incidence of transplant related mortality (TRM) at 100 days and 1 year post-CTX001 infusion. TRM is defined as death possibly related to the transplantation procedure as assessed by the investigator.
- All-cause mortality.

Primary Efficacy:

- Proportion of subjects achieving transfusion reduction for at least 6 months (TR6).

Part B:

- New malignancies
- New or worsening hematologic disorders (e.g. immune-mediated cytopenias, aplastic anemia, primary immunodeficiencies)
- All-cause mortality
- Frequency and severity of serious adverse events (SAEs) occurring up to 5 years after CTX001 infusion
- Frequency and severity of CTX001-related AEs

E.5.1.1 Timepoint(s) of evaluation of this end point

Part A:

- Safety: see above
- Proportion of subjects achieving TR6: 3 months post-CTX001 infusion for at least 6 months at the time of analysis

Part B:

Safety: up to 15 years after CTX001 infusion

E.5.2 Secondary end point(s)

Part A:

Key Secondary Efficacy:

- Proportion of subjects achieving transfusion independence for at least 6 months (TI6).

Secondary Endpoints:

- Proportion of subjects achieving transfusion reduction for at least 12 months (TR12).
- Proportion of subjects achieving transfusion independence for at least 12 months (TI12).
- Proportion of alleles with intended genetic modification present in peripheral blood leukocytes.
- Proportion of alleles with intended genetic modification present in bone marrow cells.
- Change in fetal hemoglobin concentration (pre-transfusion) over time.
- Change in health-related quality of life (HRQoL) from baseline over time using EQ-5D-5L and FACT-BMT.
- Change in parameters of iron overload, including:
 - Liver iron concentration (LIC) and cardiac iron content (CIC) from baseline as assessed by T2* MRI.
 - Change in serum ferritin level from baseline over time.
- Proportion of subjects receiving iron chelation therapy over time.

Part B:

- Change in Hb concentrations over time
- Change in HbF concentrations over time
- Annualized frequency of TDT related transfusions, and annualized number of units of transfusion
- Change in parameters of iron overload, including:
 - liver iron concentration (LIC) over 4 years after CTX001 infusion as assessed by T2* MRI

		o Cardiac iron concentration (CIC) over 4 years after CTX001 infusion as assessed by T2* MRI
		o Change in serum ferritin level over 5 years after CTX001 infusion
E.5.2.1	Timepoint(s) of evaluation of this end point	<p>Part A:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Proportion of subjects achieving TI6: 3 months post-CTX001 infusion for at least 6 months • Proportion of subjects achieving TR12: 3 months post-CTX001 infusion for at least 12 months • Proportion of subjects achieving TI12: 3 months post-CTX001 infusion for at least 12 months • Proportion of alleles with intended genetic modification present in peripheral blood leukocytes and bone marrow cells, change in HbF levels (pre-transfusion): at Months 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12, 18, 24 • Change in HRQoL: at Months 3, 6, 12, 18, 24 • Change in parameters of iron overload: <p>o Change in serum ferritin level: continuous variable over time.</p> <p>o Change in LIC: at Months 12 and 24</p> <p>o Change in Cardiac T2*: at Months 12 and 24</p> <p>Part B:</p> <p>Up to 5 years after CTX001 infusion</p>
E.6 and E.7	Scope of the trial	
E.6	Scope of the trial	
E.6.1	Diagnosis	No
E.6.2	Prophylaxis	No
E.6.3	Therapy	Yes
E.6.4	Safety	Yes
E.6.5	Efficacy	Yes
E.6.6	Pharmacokinetic	Yes
E.6.7	Pharmacodynamic	Yes
E.6.8	Bioequivalence	No
E.6.9	Dose response	No
E.6.10	Pharmacogenetic	No
E.6.11	Pharmacogenomic	No
E.6.12	Pharmacoeconomic	No
E.6.13	Others	No
E.7	Trial type and phase	
E.7.1	Human pharmacology (Phase I)	Yes
E.7.1.1	First administration to humans	Yes
E.7.1.2	Bioequivalence study	No
E.7.1.3	Other	Yes
E.7.1.3.1	Other trial type description	Phase 1/2
E.7.2	Therapeutic exploratory (Phase II)	Yes
E.7.3	Therapeutic confirmatory (Phase III)	No
E.7.4	Therapeutic use (Phase IV)	No
E.8	Design of the trial	
E.8.1	Controlled	No
E.8.1.1	Randomised	No
E.8.1.2	Open	Yes
E.8.1.3	Single blind	No
E.8.1.4	Double blind	No
E.8.1.5	Parallel group	No
E.8.1.6	Cross over	No
E.8.1.7	Other	No
E.8.2	Comparator of controlled trial	
E.8.2.1	Other medicinal product(s)	No
E.8.2.2	Placebo	No
E.8.2.3	Other	No
E.8.2.4	Number of treatment arms in the trial	1
E.8.3	The trial involves single site in the Member State concerned	No
E.8.4	The trial involves multiple sites in the Member State concerned	Yes
E.8.4.1	Number of sites anticipated in Member State concerned	2
E.8.5	The trial involves multiple Member States	Yes
E.8.5.1	Number of sites anticipated in the EEA	5
E.8.6	Trial involving sites outside the EEA	
E.8.6.1	Trial being conducted both within and outside the EEA	Yes
E.8.6.2	Trial being conducted completely outside of the EEA	No
E.8.6.3	If E.8.6.1 or E.8.6.2 are Yes, specify the regions in which trial sites are planned	Canada Germany Italy United Kingdom

E.8.7	Trial has a data monitoring committee	Yes
E.8.8	Definition of the end of the trial and justification where it is not the last visit of the last subject undergoing the trial	End of study will be defined as the date the last subject completes the 15-year follow-up period. The Sponsor will notify all applicable regulatory agencies in accordance with local requirements when the study has ended.
E.8.9	Initial estimate of the duration of the trial	
E.8.9.1	In the Member State concerned years	16
E.8.9.1	In the Member State concerned months	9
E.8.9.1	In the Member State concerned days	0
E.8.9.2	In all countries concerned by the trial years	16
E.8.9.2	In all countries concerned by the trial months	9
E.8.9.2	In all countries concerned by the trial days	0

F. Population of Trial Subjects

F.1 Age Range		
F.1.1	Trial has subjects under 18	No
F.1.1.1	In Utero	No
F.1.1.2	Preterm newborn infants (up to gestational age < 37 weeks)	No
F.1.1.3	Newborns (0-27 days)	No
F.1.1.4	Infants and toddlers (28 days-23 months)	No
F.1.1.5	Children (2-11years)	No
F.1.1.6	Adolescents (12-17 years)	No
F.1.2	Adults (18-64 years)	Yes
F.1.2.1	Number of subjects for this age range:	12
F.1.3	Elderly (>=65 years)	No
F.2 Gender		
F.2.1	Female	Yes
F.2.2	Male	Yes
F.3 Group of trial subjects		
F.3.1	Healthy volunteers	No
F.3.2	Patients	Yes
F.3.3	Specific vulnerable populations	Yes
F.3.3.1	Women of childbearing potential not using contraception	No
F.3.3.2	Women of child-bearing potential using contraception	Yes
F.3.3.3	Pregnant women	No
F.3.3.4	Nursing women	No
F.3.3.5	Emergency situation	No
F.3.3.6	Subjects incapable of giving consent personally	No
F.3.3.7	Others	No
F.4 Planned number of subjects to be included		
F.4.1	In the member state	4
F.4.2	For a multinational trial	
F.4.2.1	In the EEA	10
F.4.2.2	In the whole clinical trial	12
F.5	Plans for treatment or care after the subject has ended the participation in the trial (if it is different from the expected normal treatment of that condition)	All subjects infused with CTX001 will be asked to continue in the long-term follow up part of the study (Part B)

G. Investigator Networks to be involved in the Trial

N. Review by the Competent Authority or Ethics Committee in the country concerned

N.	Competent Authority Decision	Authorised
N.	Date of Competent Authority Decision	2018-07-13
N.	Ethics Committee Opinion of the trial application	Favourable
N.	Ethics Committee Opinion: Reason(s) for unfavourable opinion	
N.	Date of Ethics Committee Opinion	2018-07-25

P. End of Trial

P.	End of Trial Status	Ongoing
----	---------------------	---------

**ANNEXE II - "CLINICALTRIALS.GOV",
ESSAIS CLINIQUES UTILISANT LA MÉTHODE
CRISPR/CAS9**

Source : [24]

ClinicalTrials.gov Search Results 07/27/2018

Title	Status	Study Results	Conditions	Interventions	Locations
1 Study of CRISPR-Cas9 Mediated PD-1 and TCR Gene Knockout in Mesothelin-Targeted CAR-T Cells in Patients With Mesothelin Positive Multiple Solid Tumors	Recruiting	No Results Available	-Solid Tumor, Adult	-Biological: anti-mesothelin CAR-T cells	-Biotherapeutic Department and Hematology Department of Chinese PLA General Hospital, Beijing, China
2 Examining the Knowledge, Attitudes, and Beliefs of Sickle Cell Disease Patients, Parents of Patients With Sickle Cell Disease, and Providers Towards the Integration of CRISPR in Clinical Care	Recruiting	No Results Available	-Sickle Cell Disease		-National Human Genome Research Institute (NHGRI), Bethesda, Maryland, United States
3 A Feasibility and Safety Study of Universal Dual Specificity CD19 and CD20 or CD22 CAR-T Cell Immunotherapy for Relapsed or Refractory Leukemia and Lymphoma	Recruiting	No Results Available	-B Cell Leukemia -B Cell Lymphoma	-Biological: Universal Dual Specificity CD19 and CD20 or CD22 CAR-T Cells	-Biotherapeutic Department and Hematology Department of Chinese PLA General Hospital, Beijing, China
4 A Study Evaluating UCART019 in Patients With Relapsed or Refractory CD19+ Leukemia and Lymphoma	Recruiting	No Results Available	-B Cell Leukemia -B Cell Lymphoma	-Biological: UCART019	-Biotherapeutic Department and Hematology Department of Chinese PLA General Hospital, Beijing, China
5 PD-1 Knockout Engineered T Cells for Advanced Esophageal Cancer	Recruiting	No Results Available	-Esophageal Cancer	-Other: PD-1 Knockout T Cells	-Hangzhou Cancer Hospital, Hangzhou, Zhejiang, China
6 PD-1 Knockout Engineered T Cells for Muscle-Invasive Bladder Cancer	Not yet recruiting	No Results Available	-Invasive Bladder Cancer Stage IV	-Biological: PD-1 Knockout T Cells -Drug: Cyclophosphamide	-Department of Urology Peking University First Hospital, Beijing, China
7 PD-1 Knockout Engineered T Cells for Castration Resistant Prostate Cancer	Not yet recruiting	No Results Available	-Hormone Refractory Prostate Cancer	-Drug: IL-2 -Biological: PD-1 Knockout T Cells -Drug: Cyclophosphamide	-Department of Urology Peking University First Hospital, Beijing, China
8 PD-1 Knockout Engineered T Cells for Metastatic Renal Cell Carcinoma	Not yet recruiting	No Results Available	-Metastatic Renal Cell Carcinoma	-Drug: IL-2 -Biological: PD-1 Knockout T Cells -Drug: Cyclophosphamide	
9 PD-1 Knockout Engineered T Cells for Metastatic Non-small Cell Lung Cancer	Recruiting	No Results Available	-Metastatic Non-small Cell Lung Cancer	-Drug: IL-2 -Drug: Cyclophosphamide -Other: PD-1 Knockout T Cells	-West China Hospital, Sichuan University, Chengdu, Sichuan, China
10 PD-1 Knockout EBVCTLs for Advanced Stage Epstein-Barr Virus (EBV) Associated Malignancies	Recruiting	No Results Available	-Stage IV Gastric Carcinoma -Stage IV Nasopharyngeal Carcinoma -T-Cell Lymphoma Stage IV -Stage IV Adult Hodgkin Lymphoma -Stage IV Diffuse Large B-Cell Lymphoma	-Drug: Fludarabine -Drug: Cyclophosphamide -Drug: Interleukin-2	-The Comprehensive Cancer Center of Nanjing Drum Tower Hospital, Nanjing, Jiangsu, China -The Comprehensive Cancer Center of Nanjing Drum Tower Hospital, Nanjing, Jiangsu, China
11 A Safety and Efficacy Study of TALEN and CRISPR/Cas9 in the Treatment of HPV-related Cervical Intraepithelial Neoplasia	Not yet recruiting	No Results Available	-Human Papillomavirus-Related Malignant Neoplasm -HIV-1 infection	-Biological: TALEN -Biological: CRISPR/Cas9	-The First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou, Guangdong, China
12 Safety of Transplantation of CRISPR/Cas9 Modified CD34+ Cells in HIV-Infected Subjects With Hematological Malignancies	Recruiting	No Results Available		-Genetic: CCR5 gene modification	-307 Hospital of PLA (Affiliated Hospital of Academy of Military Medical Sciences), Beijing, Beijing, China
13 Study of People With Metastatic Gastrointestinal Epithelial Cancer Administering Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Which the Gene Encoding CISH Was Inactivated Using the CRISPR/Cas9 System	Not yet recruiting	No Results Available	-Gastrointestinal Epithelial Cancer -Gastrointestinal Neoplasm -Cancer of Gastrointestinal Tract -Cancer, Gastrointestinal	-Drug: Cyclophosphamide -Drug: Fludarabine -Drug: Aldesleukin -Biological: CISH inactivated TIL	-National Institutes of Health Clinical Center, Bethesda, Maryland, United States
14 Stem Cells in NFI Patients With Tumors of the Central Nervous System	Recruiting	No Results Available	-Neurofibromatosis Type 1 -Tumors of the Central Nervous System	-Diagnostic Test: Collection of Stem Cells	-Children's National Medical Center, Washington, District of Columbia, United States

**ANNEXE III - « JOURNAL OF GENE
MEDICINE », ESSAIS CLINIQUES UTILISANT
CRISPR/CAS9.**

Source : Journal of Gene Medicine - Mis à Jour en Novembre 2017



Displaying records **1** through **9** of **9** records found

Trial ID	Title
CN-0058	A Dose-escalation Phase I Trial of PD-1 Knockout Engineered T Cells for the Treatment of Metastatic Non-small Cell Lung Cancer
CN-0059	A Safety and Efficacy Study of Transcription Activator-like Effector Nucleases and Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat/Cas9 in the Treatment of HPV-related Cervical Intraepithelial Neoplasia
CN-0060	A Phase II Trial of PD-1 Knockout Engineered T Cells for the Treatment of Advanced Esophageal Cancer
CN-0061	A Dose-escalation Phase I Trial of PD-1 Knockout Engineered T Cells for the Treatment of Muscle-invasive Bladder Cancer
CN-0062	A Dose-escalation Phase I Trial of PD-1 Knockout Engineered T Cells for the Treatment of Castration Resistant Prostate Cancer
CN-0063	A Dose-escalation Phase I Trial of PD-1 Knockout Engineered T Cells for the Treatment of Metastatic Renal Cell Carcinoma
CN-0064	A Phase I/II Trial of PD-1 Knockout EBV-CTLs for Advanced Stage EBV Associated Malignancies
CN-0076	Safety and Feasibility Study of Allotransplantation of CRISPR/Cas9 CCR5 Gene Modified CD34+ Hematopoietic Stem/Progenitor Cells in HIV-infected Subjects With Hematological Malignancies
CN-0077	Phase I/II Study to Determine the Safety, Tolerability, Biological Activity and Efficacy of Universal CRISPR-Cas9 Gene-Editing CAR-T Cells Targeting CD19(UCART019) in Patients With Relapsed or Refractory CD19+ Leukemia and Lymphoma

ANNEXE IV - LES 4 PHASES DE DÉVELOPPEMENT D'UN MÉDICAMENT EN TERME D'OBJECTIFS ET DE CARACTÉRISTIQUES.

Source : EUPATI - Académie Européenne des Patients

Disponible sur : <https://www.eupati.eu/fr/glossary/essais-de-phase-iv/>

Phases de développement clinique



	Phase I	Phase II	Phase III	Phase IV
Objectifs	<ul style="list-style-type: none"> o Tolérance et sécurité d'emploi o Propriétés pharmacocinétiques o Propriétés pharmacodynamiques 	<ul style="list-style-type: none"> o Effet thérapeutique o Dose optimale o Sécurité d'emploi (toxicité) o Preuve du concept 	<ul style="list-style-type: none"> o Confirmation de l'efficacité et de la sécurité d'emploi 	<ul style="list-style-type: none"> o Données en situation réelle o Surveillance de la sécurité d'emploi (pharmacovigilance) o Optimisation thérapeutique des médicaments autorisés
Caractéristiques	<ul style="list-style-type: none"> o Faible nombre de participants (n = 20-100) o Volontaires sains normaux (peu de patients) o Centres spécialisés o Ouverte 	<ul style="list-style-type: none"> o Premiers essais chez des patients atteints de la maladie étudiée (n = 100-500) o Établissements médicaux et cabinets privés o Ouverte o En insu o Comparative o Multidose 	<ul style="list-style-type: none"> o Essais à grande échelle (n = 1000- >5000) o Établissements médicaux et cabinets privés o Multicentrique o En insu o Comparative 	<ul style="list-style-type: none"> o Très grand nombre de patients o Évaluations à long terme o Développement supplémentaire (nouvelles indications par ex.)

ANNEXE V - FORMULAIRE CERFA DE DEMANDE D'AGRÉMENT D'UTILISATION CONFINÉE D'OGM DANS LE CADRE D'UNE UTILISATION EN THÉRAPIE GÉNIQUE

Source : Ministère de la recherche - Formulaires.modernisation.gouv.fr
Disponible sur : <https://www.formulaires.modernisation.gouv.fr/gf/cerfa_12536.do>

**DEMANDE D'AGREMENT D'UTILISATION CONFINEE D'ORGANISMES
GENETIQUEMENT MODIFIES (OGM)
DANS LE CADRE D'UNE UTILISATION EN THERAPIE GENIQUE
(décret n° 93-773 du 27mars 1993 et arrêté du 27 décembre 1994)**

Préambule : ce formulaire est à remplir par chaque service du centre hospitalier (= site) concerné par un essai clinique (1 formulaire par service).

1 – ORGANISME PROMOTEUR DE L'ESSAI :

NOM de l'organisme :	
Adresse de l'organisme :	Rue n° : Code postal : Commune :
Téléphone :	
Intitulé de l'essai :	
Réf. CGG (1)	

(1) Commission du génie génétique

2 – DESCRIPTION, ORIGINE ET CLASSEMENT DE L'OGM MIS EN ŒUVRE DANS L'ESSAI :

3 – DIRECTEUR DE L'HOPITAL / CLINIQUE : RESPONSABLE JURIDIQUE DU SITE HOSPITALIER

NOM :		Date :
Prénom :		<u>Signature</u> :
Téléphone :		
Adresse du site hospitalier	Nom de l'hôpital : Rue n° : Code postal : Commune :	

7 -PRESCRIPTIONS RELATIVES A L'UTILISATION CONFINEE D'OGM

- Le service concerné par la présente demande d'agrément doit être en conformité avec les prescriptions de confinement décrites dans les tableaux récapitulatifs A, B, C, ci-joints.
- Un plan détaillé des locaux est à joindre au formulaire pour l'utilisation des OGM de classe 2 ou 3.

Après lecture du tableau rappelant les prescriptions de confinement,

je, soussigné(e) ⁽¹⁾ atteste que le service concerné par la présente demande d'agrément, (salle opératoire, pharmacie, laboratoire, chambre) ⁽²⁾ remplit les prescriptions de confinement listées ci-dessous, pour le niveau de confinement revendiqué.

Cocher la case correspondante : L1 ou L2 , TL1 ou TL2

Fait le : à :

Signature du responsable juridique :

(1) responsable juridique
(2) rayer les mentions inutiles

RAPPEL DES PRESCRIPTIONS DE CONFINEMENT
(voir guide de la Commission du génie génétique : adresse internet : <http://www.recherche.gouv.fr/commis/genetique/principe/principe.htm>)

- TABLEAUX A, B et C

A - <u>CONCEPTION DES LIEUX</u>	Pharmacie/laboratoire/ Salle opératoire		Chambre hospitalière	
	Niveau de confinement		Niveau de confinement	
	L1	L2	TL1	TL2
1- Signalisation du local (pictogramme "danger biologique")	Non	Oui	Non	Oui
2 - Séparation des autres locaux au moins par une porte	Oui	Oui	Oui	Oui
3 - Accès réglementé et verrouillable. Accès possible pour les seuls travailleurs autorisés	Non	Oui	Non	Oui
4 - Possibilité de fermer hermétiquement le lieu de travail pour permettre la désinfection (fumigation)	Non	Optionnel	Non	Optionnel

B - AMENAGEMENTS INTERNES	Pharmacie/laboratoire/ Salle opératoire		Chambre hospitalière	
	Niveau de confinement		Niveau de confinement	
	L1	L2	TL1	TL2
1 - Poste de sécurité microbiologique	Non	Oui, type II	Non	Oui, type II
2 - Vêtements de protection	Oui	Oui	Oui	Oui
3 - Aménagements pour le rangement des vêtements de protection dans le local	Oui	Oui	Oui	Oui
4 - Lavage des mains : lavabos dont les robinets peuvent être manœuvrés sans utiliser les mains	Non	Oui (*)	Non	Oui (*)
5 - Résistance des surfaces à l'eau, nettoyage aisé sans endroits inaccessibles au nettoyage	Oui (sols)	Oui (sols)	Oui (sols)	Oui (sols)
6 - Surface des paillasse imperméables à l'eau, résistante aux acides, alcalis, solvants et désinfectants	Oui	Oui	Oui	Oui
7 - Présence d'un autoclave (**)	Oui, sur le site	Oui, dans le bâtiment	Oui, sur le site	Oui, dans le bâtiment

C - PRATIQUES OPERATOIRES (**)	Pharmacie/laboratoire/ Salle opératoire		Chambre hospitalière	
	Niveau de confinement		Niveau de confinement	
	L1	L2	TL1	TL2
1-Stockage des agents biologiques en lieu sûr	Oui	Oui	Oui	Oui
2 - Utilisation de conteneurs spécifiques pour aiguilles contaminées, objets piquants ou tranchants souillés	Oui	Oui	Oui	Oui
3 - Contrôle de la dissémination des aérosols formés	Oui	Oui	Oui	Oui
4 - Gants.	Optionnel	Optionnel	Optionnel	Optionnel
5 - Inactivation du matériel contaminé et des déchets.	Oui	Oui	Oui	Oui
6 - Décontamination des équipements avant sortie du local (centrifugeuses, PSM.)	Oui	Oui	Oui	Oui

Lexique :

Oui : exigé.

Non : non exigé.

Optionnel : doit être décidé, au cas par cas, sur la base de l'évaluation des risques, à la suite de laquelle ces mesures devront ou non - être appliquées.

(*) pour les nouvelles installations.

(**) consulter la note « le traitement des déchets issus d'OGM » sur le site de la Commission :

<http://www.enseignementsup-recherche.gouv.fr/commis/genetique/index.htm>

**ANNEXE VI - LISTE DES PIÈCES À
VERSER À L'ANMS POUR UNE DEMANDE
INITIALE D'AUTORISATION D'ESSAI CLINIQUE
DE THÉRAPIE GÉNIQUE AVEC OGM EN
FRANCE**

Source : [51]

Liste des pièces à verser à l'ANMS pour une demande initiale d'Autorisation d'Essai Clinique de thérapie génique avec OGM en France

1) Courrier de demande d'autorisation d'essai clinique (lettre de couverture)

2) Formulaire de demande d'autorisation d'essai clinique (FAEC)

3) Protocole de l'essai clinique et son résumé

- Protocole de l'essai (pièce requise dans tous les cas) Il doit contenir le N°EudraCT.
- Résumé du protocole (pièce requise dans tous les cas)
- **Informations complémentaires pour les essais cliniques de phase précoce :**
 - le choix de mener la recherche sur des patients ~~ou des volontaires sains~~ ;
 - le choix de la forme pharmaceutique et de la voie d'administration du ME ;
 - le choix de la première dose administrée, de la dose maximale prévue ;
 - le choix de la progression des doses et les modalités de suivi de la sécurité des doses et de décision du passage à la dose suivante ;
 - la durée d'exposition au ME pour une personne ;
 - les paramètres d'évaluation de la tolérance et/ou de l'activité pharmacologique ;
 - les modalités détaillées de réalisation de la recherche, notamment des séquences ou périodes d'administration du ME aux personnes y compris la chronologie d'administration du ME à chaque personne se prêtant à la recherche ;
 - les modalités de prises de décision relatives à la conduite de l'essai y compris la définition des critères d'arrêt de traitement ;
 - les modalités de communication aux centres investigateurs des effets indésirables graves.
- **Avis d'une association de patients** (si applicable, mais fortement recommandé dans le cas présent)

4) Brochure pour l'investigateur (BI)

- Résumé des caractéristiques du produit (RCP) (seulement pour les médicament avec AMM ce qui n'est pas la cas présent)
- Information de référence sur la sécurité (IRS) permettant de déterminer le caractère attendu/inattendu d'un effet indésirable

5) Dossier du médicament expérimental (DME)

- Conformité aux bonnes pratiques de fabrication du ME
- Données relatives au médicament expérimental (DME complet)
- Dossier du médicament expérimental simplifié (par référence à d'autres documents)

6) Autres documents

- Copie de l'avis du comité de protection des personnes
- Avis scientifique sur l'essai (le cas échéant)
- Contenu de l'étiquetage du médicament expérimental
- **Utilisation dans l'essai d'organismes génétiquement modifiés (OGM)**
- Dossier technique relatif à tout autre produit que le ME ou le MA (anciennement MNE)
- **Fiche VISA : agrément des locaux de recherche clinique de chaque centre investigateur participant à l'essai clinique en fonction du classement du MTG ou OGM établi par le HCB. Décret n°93-773 du 27 mars 1993 et arrêté du 27 décembre 1994.**
- **Annexe 2 : Principes applicables à l'évaluation du risque pour l'environnement décrit en termes généraux l'objectif à atteindre, les éléments à prendre en considération et les principes généraux ainsi que la méthodologie à suivre pour effectuer l'évaluation des risques pour l'environnement. Directive 2001/18/CE du 12 mars 2001.**
- **Annexe 3A : Informations devant figurer dans la notification concernant la dissémination des OGM autres que les plantes supérieures. Directive 2001/18/CE du 12 mars 2001.**
- **Formulaire de synthèse de la notification concernant la dissémination volontaire d'OGM dans l'environnement à d'autres fins que leur mise sur le marché. Directive 2001/18/CE du 12 mars 2001.**
- **Fiche d'information destinée au public présente les buts et les utilisations prévues de la dissémination, la description synthétique et les méthodes de surveillance. Cette fiche d'information permet de procéder à une consultation du public sur cette dissémination et doit donc préciser les modalités de cette consultation et la date limite de réponse de 30 jours après sa publication sur le site internet de l'ANSM. Directive 2001/18/CE du 12 mars 2001.**

ESSAIS CLINIQUES « FIRST IN MAN », APPLICATION CLINIQUE DE LA MÉTHODE D'ÉDITION DU GÉNOME CRISPR/CAS9

Sacrée " **Découverte** de l'année 2015" par le magazine « Science », la méthode d'**édition du génome CRISPR/Cas9** fonctionne comme des ciseaux génétiques permettant de modifier le génome de façon ciblée, simple, et rapide. Nous ne possédons que très peu de recul concernant son application clinique. Cependant, le potentiel et les perspectives qu'offrent CRISPR/Cas9 sont immenses. C'est pourquoi, plusieurs essais cliniques first in man utilisant la méthode sont déjà en cours dans le monde. La complexité réside dans l'absence de réglementation spécifique à l'édition du génome* en Europe, ce qui a pour effet un manque de **réglementation** particulière pour encadrer ce type d'essais cliniques. Par ailleurs, les activités opérationnelles autour de la conduite de ces essais cliniques sont elles-mêmes impactées par l'utilisation de CRISPR/Cas9 et les parties prenantes doivent composer avec les spécificités propres à ce produit d'investigation particulier. Une réflexion réglementaire a pu montrer que ce genre d'**essais cliniques de première administration chez l'homme** peut s'inscrire dans le cadre réglementaire d'un **médicament de thérapie génique avec Organisme Génétiquement Modifié**. Ensuite, l'analyse des opérations cliniques autour de l'application clinique de CRISPR/Cas9, nous prouve qu'il s'agit d'un challenge qui est cependant réalisable. Enfin, la mise en place de ces essais redonne de l'espoir aux patients atteints de maladies monogéniques, jusqu'alors incurables. Au vu des importantes **considérations éthiques**, si les résultats d'essais cliniques sont positifs, il faudra s'attacher à ce que l'utilisation thérapeutique de CRISPR/cas9 soit réfléchie et encadrée.

Mots-clés : découverte, édition du génome CRISPR/Cas9, réglementation, essais cliniques de première administration chez l'homme, thérapie génique avec OGM, considérations éthiques.

« FIRST IN MAN » CLINICAL TRIALS, CLINICAL APPLICATION OF THE GENOME EDITING METHOD CRISPR/CAS9

Recognized by Science magazine as "**the breakthrough** of the year 2015", **CRISPR/Cas9** is a **genome editing** method acting as molecular scissors that can easily and quickly cut DNA by targeting a specific gene. Data regarding the clinical application of this method are scarce. However, CRISPR/cas9 is very promising and offers such prospects that several **first in man clinical trials** are currently ongoing in the world. The difficulty for these trials lies in the fact that there is no specific regulation to govern human gene editing and associated clinical trials. Furthermore, due to the specificities of this Investigational Medicinal Product, the clinical operations supporting such kind of clinical trial are undoubtedly impacted. Setting up of the trials requires both adaptability and strict compliance with the regulations from the stakeholders.

Thanks to this regulatory reflection, we demonstrated that regulations on **gene therapy with a Genetically Modified Organism** are applicable for this kind of **first in man clinical trial**. In addition, the analysis of the clinical operations necessary to carry out the clinical application of CRISPR/Cas9 shows that it is challenging but not unachievable. Finally, carrying out such clinical trial brings new hope to the patients suffering from incurable monogenic disease. Hence, if results from clinical trials are positive in the future, a thoughtful approach and an adapted **legislative framework** will have to be set up to oversee the therapeutic use of CRISPR/Cas9, keeping in mind the important **ethical considerations**.

Key-words : breakthrough, CRISPR/Cas9 genome editing, first in man clinical trial, gene therapy with a Genetically Modified Organism, legislative framework, ethical considerations.