

**MEMOIRE
POUR LE DIPLOME D'ÉTUDES SPECIALISEES
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Soutenu publiquement le 20 avril 2012
Par M. Eric Alsac**

**Conformément aux dispositions du Décret du 10 septembre 1990
Tient lieu de
THESE EN VUE DU DIPLOME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Les anticorps monoclonaux anti-CD20 de nouvelles générations:
Entre améliorations du profil bénéfiques / risques
et enjeux stratégiques**

Membres du jury:

Président: Madame GRAS, Hélène, Professeur de l'université de Sciences
Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

Assesseur: Monsieur BERTIN, Benjamin, Maître de conférences de l'université de Sciences
Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

Assesseur: Monsieur SERGHERAERT, Eric, Maître de conférences de l'université de
Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

Membre extérieur: Monsieur COUVREUR, Stéphane, Pharmacien responsable, Bayer
Healthcare



Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX
☎ 03.20.96.40.40 - 📠 : 03.20.96.43.64
<http://pharmacie.univ-lille2.fr>



Université Lille 2
Droit et Santé

Université Lille 2 – Droit et Santé

Président :	Professeur Christian SERGHERAERT
Vice- présidents :	Madame Stéphanie DAMAREY Professeur Marie-Hélène FOSSE-GOMEZ Professeur Régis MATRAN Professeur Salem KACET Professeur Paul FRIMAT Professeur Xavier VANDENDRIESSCHE Professeur Patrick PELAYO Madame Claire DAVAL Madame Irène LAUTIER Monsieur Larbi AIT-HENNANI Monsieur Rémy PAMART
Secrétaire général :	Monsieur Pierre-Marie ROBERT

Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Doyen :	Professeur Luc DUBREUIL
Vice-Doyen, 1 ^{er} assesseur :	Professeur Damien CUNY
Assesseurs :	Mme Nadine ROGER Professeur Philippe CHAVATTE
Chef des services administratifs :	Monsieur André GENY

Liste des Professeurs des Universités :

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Physique
M.	BAILLEUL	François	Pharmacognosie
M.	BERTHELOT	Pascal	Chimie Thérapeutique 1
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie
Mme	CAPRON	Monique	Immunologie
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie – Pharmacie clinique
M.	CHAVATTE	Philippe	Chimie Thérapeutique
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences végétales et fongiques
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques
Mlle	DELBAERE	Stéphanie	Physique
M.	DEPREZ	Benoît	Chimie Générale
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie Générale
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences végétales et fongiques
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie
Mlle	GAYOT	Anne	Pharmacotechnie Industrielle
M.	GESQUIERE	Jean-Claude	Chimie Organique
M.	GOOSSENS	Jean François	Chimie Analytique
Mme	GRAS	Hélène	Chimie Thérapeutique 3
M.	IMBENOTTE	Michel	Toxicologie
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie Cellulaire

M.	LUC	Gerald	Physiologie
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie Générale
Mme	MUHR – TAILLEUX	Anne	Biochimie
Mme	PAUMELLE-LESTRELIN	Réjane	Biologie Cellulaire
Mme	PERROY – MAILLOLS	Anne Catherine	Droit et déontologie pharmaceutique
Mlle	ROMOND	Marie Bénédicte	Bactériologie
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie Industrielle
M.	STAELS	Bart	Biologie Cellulaire
M	TARTAR	André	Chimie Organique
M.	VACCHER	Claude	Chimie Analytique
M.	VION	Daniel	Droit et déontologie pharmaceutique

Liste des Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie
M	BRUNET	Claude	Pharmacologie
Mme	CAPRON	Monique	Immunologie
M.	DINE	Thierry	Pharmacie clinique
M.	DUBREUIL	Luc	Bactériologie et Virologie Cliniques
M.	DUTHILLEUL	Patrick	Hématologie
M.	GAMOT	André	Chimie Analytique
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie
M.	LHERMITTE	Michel	Toxicologie
M.	LUYCKX	Michel	Pharmacie clinique
M.	ODOU	Pascal	Pharmacie Galénique
M.	DEPREUX	Patrick	Chimie Organique (ICPAL)
M.	BONTE	Jean-Paul	Chimie Analytique et (ICPAL)

Liste des Maitres de Conférences

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	AGOURIDAS	Laurence	Chimie Générale
Mme	ALIOUAT	Cécile Marie	Parasitologie
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie
Mme	BANTUBUNGI	Kadiombo	Biologie cellulaire
Mme	BARTHELEMY	Christine	Pharmacie Galénique
M.	BEGHYN	Terence	Chimie Thérapeutique 3
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie
M.	BERTHET	Jérôme	Physique
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle
M.	BOCHU	Christophe	Physique
M.	BOUTILLON	Christophe	Chimie Organique
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie
Mme	CACHERA	Claude	Biochimie
M.	CARATO	Pascal	Chimie Thérapeutique 2
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie
Mme	CARON	Sandrine	Biologie cellulaire
Mlle	CHABÉ	Magali	Parasitologie
Mlle	CHARTON	Julie	Chimie Organique
M	CHEVALIER	Dany	Toxicologie
M.	COCHELARD	Dominique	Biomathématiques
Mlle	DANEL	Cécile	Chimie Analytique
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie
Mlle	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques

Melle	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire
M.	FARCE	Amaury	Chimie Thérapeutique 2
Mlle	FLAMENT	Marie-Pierre	Pharmacotechnie Industrielle
Mlle	FLIPO	Marion	Chimie Organique
Mme	FOULON	Catherine	Chimie Analytique
Melle	GARAT	Anne	Toxicologie
M.	GELEZ	Philippe	Biomathématiques
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie
Mme	GOFFARD	Anne	Virologie
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie
M.	KAMBIA	Kpakpaga Nicolas	Pharmacologie
M.	KARROUT	Youness	Pharmacotechnie Industrielle
Mlle	LALLOYER	Fanny	Biochimie
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique 1
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie Analytique
Mme	LORIN-LECOEUR	Marie	Chimie Analytique
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie
M.	MOREAU	Pierre Arthur	Sciences végétales et fongiques
Melle	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle
Mme	NEUT	Christel	Bactériologie
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques
M.	PIVA	Frank	Pharmacie Galénique
Mme	POMMERY	Nicole	Toxicologie
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques
Melle	RIVIERE	Céline	Pharmacognosie
Mme	ROGER	Nadine	Immunologie
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie
M.	SERGHERAERT	Eric	Droit et déontologie pharmaceutique
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie Industrielle
Mlle	SINGER	Elisabeth	Bactériologie
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie
Mme	THUILLIER	Pascale	Hématologie
Mme	VANHOUTTE	Geneviève	Biochimie
Mme	VITSE	Annie	Parasitologie
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie organique
M.	YOUS	Saïd	Chimie Thérapeutique 1
M.	FURMAN	Christophe	Pharmacobiochimie (ICPAL)
Mme	GOOSSENS	Laurence	Chimie Organique (ICPAL)
M.	MILLET	Régis	Chimie Thérapeutique (ICPAL)

Liste des Maitres de Conférences - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie
Mme	BALDUYCK	Malika	Biochimie
M.	DECAUDIN	Bertrand	Pharmacie Clinique
Mme	ODOU	Marie Françoise	Bactériologie

Professeurs Agrégés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	MAYES	Martine	Anglais
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et déontologie pharmaceutique

Professeurs Certifiés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	HUGES	Dominique	Anglais
Mlle	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeurs Associé - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	ABADIE	Eric	Droit et déontologie pharmaceutique

Maîtres de Conférences ASSOCIES - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	BERTOUX	Elisabeth	Pharmacie Clinique - Biomathématiques
M.	CREN	Yves	Information Médicale - Biomathématiques
M.	FIEVET	Pierre	Information Médicale
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacie Clinique
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacie Clinique
M.	WATRELOS	Michel	Droit et déontologie pharmaceutique
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques - Pharmacie virtuelle

AHU

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	LANNOY	Damien	Pharmacie Galénique
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacie Galénique

Remerciements

A mon directeur de thèse:

Madame le Professeur Hélène Gras,

*Pour avoir accepté d'encadrer la réalisation de ce travail,
Pour l'honneur que vous me faites de présider ce jury,
Veuillez trouver ici le témoignage de mes sincères remerciements et de ma profonde reconnaissance.*

Aux membres du jury:

Monsieur Stéphane Couvreur,

*Pour avoir accepté de m'accompagner dans la rédaction de cette thèse,
Pour l'honneur que vous me faites de participer à mon jury de thèse,
Veuillez recevoir l'expression de mes sincères remerciements.*

Monsieur Eric Sergheraert,

*Pour votre aide lors de la rédaction de cette thèse,
Pour l'honneur vous me faites d'être présent ce jour et de siéger parmi les membres de ce jury,
Veuillez recevoir l'expression de mes sincères remerciements.*

Monsieur Benjamin Bertin,

*Pour l'honneur que vous me faites de siéger parmi les membres de ce jury,
Veuillez recevoir l'expression de mes sincères remerciements.*

Un grand merci également...

A mes parents et toute ma famille,
Pour avoir toujours été là pour moi.

A Aurélie,

Pour ta patience, et ton soutien.

A mes amis,

Pour tous les bons moments partagés.



Université Lille Nord de France
Pôle de Recherche
et d'Enseignement Supérieur



Université Lille 2
Droit et Santé

Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX
Tel. : 03.20.96.40.40 - Télécopie : 03.20.96.43.64
<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses; celles-ci sont propres à leurs auteurs.

Table des matières

Remerciements	6
Table des matières	8
Table des illustrations	9
Introduction	11
A. Le rituximab: l'anticorps anti-CD20 monoclonal de référence	12
I. Un acteur important du monde du médicament	12
1. Une place majeure dans le traitement des lymphomes malins	13
2. Un nouveau rôle dans le traitement de la polyarthrite rhumatoïde	17
3. Autre indication du rituximab	19
4. Un médicament important en termes de chiffre d'affaires	20
II. Structure d'un anticorps chimérique tel que le rituximab	22
1. Structure générale d'un anticorps	22
2. Structure d'un anticorps chimérique tel que le rituximab	25
III. Les cibles des anticorps monoclonaux anti-CD20	26
1. Rôle des lymphocytes B dans le lymphome non Hodgkinien	26
2. Rôle des lymphocytes B dans les pathologies auto-immunes	27
3. Le CD20: une cible de choix	28
IV. Mécanismes d'action des anticorps monoclonaux anti-CD20	30
1. Événements intervenant en amont de la liaison aux CD20	30
2. Propriétés effectrices du rituximab suite à la liaison aux CD20	31
B. Les anticorps anti-CD20 de nouvelles générations: des améliorations en termes de rapport bénéfiques / risques	36
I. Humaniser les anticorps monoclonaux pour réduire l'immunogénicité	36
1. L'immunogénicité des anticorps monoclonaux est responsable de réactions d'hypersensibilité	36
2. Les anticorps monoclonaux de seconde génération de type humanisés	39
3. L'ofatumumab: un anticorps de seconde génération totalement humain	46
II. Glycosyler les anticorps monoclonaux pour améliorer leur efficacité	53
1. Glycosylation naturelle des anticorps IgGs humains	53
2. Modifier la glycosylation des anticorps monoclonaux anti-CD20 afin d'optimiser leur efficacité	55
3. Les anticorps monoclonaux anti-CD20 de troisième génération	57
C. Les enjeux stratégiques liés aux anticorps anti-CD20 de nouvelles générations	63
I. Les biobetters du rituximab représentent de grandes opportunités pour les laboratoires concernés	63
1. Le GA101: un remplaçant de choix pour le rituximab de Roche	63
2. Les autres biobetters peuvent aussi bénéficier de l'expiration des brevets du rituximab ...	71
II. Ces opportunités créent une véritable « guerre » des anticorps monoclonaux anti-CD20	78
1. Les brevets sont au cœur d'une « guerre » des anti-CD20	78
2. Cette guerre des anti-CD20 peut avoir des répercussions sur les partenariats	82
Conclusion	85
Bibliographie et webographie	87

Table des illustrations

Liste des figures

Figure 1. Evolution du nombre de cas et de décès chez l'homme et la femme de 1990 à 2010 en France.....	14
Figure 2. Schéma d'articulations atteintes de rhumatismes et polyarthrites rhumatoïdes.....	17
Figure 3. Evolution des ventes du rituximab tous marchés confondus (\$ millions).....	21
Figure 4. Mise en évidence des chaînes lourdes et légères d'un anticorps.....	22
Figure 5. Mise en évidence des fragments d'un anticorps.....	23
Figure 6. Structure en 3 dimensions d'un anticorps – mise en évidence des régions.....	24
Figure 7. Schéma d'un anticorps chimérique (humain / murin).....	25
Figure 8. Schéma représentatif de la progression d'une polyarthrite rhumatoïde au niveau d'une articulation.....	28
Figure 9. Schéma représentatif de l'expression des CD20 sur les cellules B.....	29
Figure 10. Cascade d'activation entraînant la signalisation cellulaire.....	32
Figure 11. Cascade d'activation entraînant l'apoptose induite par la fixation d'un anticorps.....	33
Figure 12. Cascade d'activation entraînant la cytotoxicité dépendante du complément.....	33
Figure 13. Cascade d'activation entraînant la cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps.....	34
Figure 14. Evaluation de la survie globale de patients traités par rituximab en fonction du polymorphisme de leur récepteur Fcγ - RIIIA.....	35
Figure 15. Schéma représentatif de la diminution de l'immunogénicité selon le type d'anticorps.....	37
Figure 16. Structure d'un anticorps chimérique comparativement à celle d'un anticorps humanisé obtenu par technique de CDR grafting.....	39
Figure 17. Schéma illustrant les greffes de segments de régions murines sur une région variable d'une chaîne légère d'un anticorps humain.....	41
Figure 18. Comparaison des CDRs de différents anticorps monoclonaux.....	42
Figure 19. Suivi du taux de lymphocytes B après injection de veltuzumab à trois différents dosages (chaque courbe représentant un patient).....	44
Figure 20. Analyse du nombre de cellules B au cours d'un traitement par ocrelizumab à différents dosages.....	45
Figure 21. Schéma représentatif des sites de liaison du rituximab et de l'ofatumumab.....	47
Figure 22. Mise en évidence in vitro du nombre de CD20 nécessaire pour activer la cytotoxicité dépendante du complément suite à un traitement à base de rituximab ou d'ofatumumab.....	48
Figure 23. Mise en évidence in vitro de l'activité de l'ofatumumab comparativement à celle du rituximab sur des cellules B exprimant un niveau faible de CD20.....	48
Figure 24. Mise en évidence in vivo de l'activité de l'ofatumumab comparativement au rituximab – mesure de la survie globale.....	49
Figure 25. Mise en évidence in vivo de l'activité de l'ofatumumab et du rituximab sur des cellules soit résistantes au rituximab soit à l'ofatumumab.....	49
Figure 26. Structure d'une immunoglobuline G avec l'oligosaccharide lié à l'asparagine 297.....	54
Figure 27. Structure de base de l'heptasaccharide lié à l'asparagine 297.....	54
Figure 28. Structure des huit complexes oligosaccharidiques potentiellement formés par les lignées cellulaires de type CHO, NS0 et Sp2/0.....	55
Figure 29. Analyse par CLHP de la structure des oligosaccharides des fragments Fc des IgGs humaines (gauche) et des IgGs produites par CHO (droite).....	56
Figure 30. Comparaison de l'efficacité du GA101 et du rituximab seul ou en association.....	58
Figure 31. Comparaison de la cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps entre le LFB R603 et le rituximab en fonction de la concentration en produit.....	60
Figure 32. Comparaison des cytotoxicités cellulaires dépendantes des anticorps médianes entre le LFB R603 et le rituximab à concentrations fixes (1ng/ml et 100ng/ml).....	60
Figure 33. Principaux biosimilaires en fonction de leur statut (en développement ou en études cliniques) et chiffre d'affaires 2010 du biologics de référence.....	64
Figure 34. Evolution du chiffre d'affaires estimé du rituximab suite à l'entrée de ses biosimilaires (\$mio).....	66
Figure 35. Evolution du chiffre d'affaires de Remicade® et Simponi® de 2006 à 2011 (\$mio).....	69

Liste des tableaux

Tableau 1. Résultats de l'étude clinique de phase III du rituximab dans les lymphomes non Hodgkiniens (suivi du critère principal: survie sans événement)	16
Tableau 2. Proportion des patients traités par rituximab formant des HACA au cours des études cliniques.....	38
Tableau 3. Résultats de l'étude clinique de phase I / II du veltuzumab dans le traitement des lymphomes non Hodgkiniens	43
Tableau 4. Résultats de l'étude clinique de phase II de l'ofatumumab dans la leucémie lymphoïde chronique en fonction du type de patients.....	51
Tableau 5. Tableau récapitulatif des différents anticorps monoclonaux anti-CD20 de nouvelles générations	62
Tableau 6. SWOT du GA101 pour le laboratoire Roche	70
Tableau 7. SWOT de l'ofatumumab pour le laboratoire GSK	73
Tableau 8. SWOT du veltuzumab pour le laboratoire Immunomedics	75
Tableau 9. SWOT du LFB-R603 pour le laboratoire LFB	77

Dans un monde de l'industrie pharmaceutique de plus en plus concurrentiel et soumis à des pressions importantes de la part des autorités de santé, l'innovation semble toujours être un facteur de réussite pour les laboratoires impliqués. En effet, l'entrée sur le marché des génériques et, à présent, des biosimilaires contraint de nombreuses sociétés pharmaceutiques à adapter leur business model et leurs plans de recherche et développement afin d'assurer la mise sur le marché de nouveaux traitements de premier choix pour les patients et maintenir ainsi des revenus stables ou toujours en progression.

Le marché des anticorps monoclonaux anti-CD20 illustre bien aujourd'hui ces problématiques. En effet, le rituximab (Rituxan[®] / Mabthera[®]), blockbuster commercialisé par le laboratoire Roche et référence de cette catégorie d'anticorps, verra ses principaux brevets arriver à expiration dès 2014, laissant ainsi la possibilité aux biosimilaires de se placer comme traitements alternatifs de certaines pathologies telles que les lymphomes non Hodgkiniens, leucémies lymphoïdes chroniques ou polyarthrites rhumatoïdes.

Le laboratoire Roche a bien sûr été l'un des premiers à s'engager dans la recherche et le développement des anticorps monoclonaux anti-CD20 de nouvelle génération ou biobetters afin de contrer l'entrée des biosimilaires et proposer une alternative innovante aux patients. Ainsi, l'ocrelizumab, anticorps monoclonal anti-CD20 humanisé de seconde génération aurait pu être celle-ci mais Roche a dû abandonner ses essais cliniques car le rapport bénéfices / risques s'avérait insuffisant. Roche place cependant aujourd'hui de nombreux espoirs dans le GA101, anticorps de troisième génération modifié par glycosylation afin de remplacer le rituximab.

D'autres biotechnologies ou grands groupes pharmaceutiques se sont également placés sur ce marché des biobetters des anti-CD20 tels que GSK avec l'ofatumumab (Arzerra[®]), anticorps monoclonal anti-CD20 entièrement humain, Immunomedics avec le veltuzumab, anticorps anti-CD20 humanisé, ou encore le Laboratoire Français de Fractionnement et de Biotechnologie (LFB) avec le LFB-R603, anticorps anti-CD20 de troisième génération.

Le marché des anti-CD20 représente ainsi des enjeux aussi bien stratégiques que financiers pour les laboratoires impliqués, avec des problématiques et des opportunités différentes selon la position et la capacité financière de ceux-ci. Cependant, les enjeux semblent particulièrement importants aux vues des conflits naissants, à la fois entre concurrents et principalement basés sur les brevets, mais aussi entre partenaires.

Cette thèse d'exercice sur les anticorps monoclonaux anti-CD20 de nouvelles générations a donc pour objectif de mettre en relation les potentielles améliorations du rapport bénéfices / risques dans les pathologies ciblées avec les enjeux stratégiques que représentent ces nouveaux produits.

Elle se compose ainsi de trois parties: tout d'abord, l'analyse de l'anticorps de référence, le rituximab, ainsi que de la cible, les CD20 présents sur les lymphocytes B, ensuite, l'analyse des anticorps monoclonaux anti-CD20 de nouvelles générations d'un point de vue clinique afin de mettre en avant les améliorations du rapport bénéfices / risques et enfin, les enjeux stratégiques que ces derniers représentent pour les biotechnologies impliquées.

A. Le rituximab: l'anticorps anti-CD20 monoclonal de référence

Le rituximab représente un acteur majeur dans l'industrie du médicament aussi bien en termes de chiffre d'affaires qu'en termes d'évolution dans la prise en charge des patients souffrant de pathologies telles que le lymphome non Hodgkinien, la polyarthrite rhumatoïde ou la leucémie lymphoïde chronique.

Cette première partie a pour objectif de poser les bases de cet exposé afin de comprendre en quoi les anticorps anti-CD20 de nouvelles générations trouvent potentiellement une place dans le monde du médicament. En effet, il est tout d'abord indispensable de comprendre l'importance que le rituximab a développé au cours des années depuis son lancement en 1997 aussi bien au niveau de l'évolution de la prise en charge du patient qu'en termes de bénéfices apportés au laboratoire Roche au cours de ces années.

Ensuite, il semble important de comprendre la structure du rituximab, un anticorps monoclonal chimérique, ainsi que ses cibles pour enfin analyser son mécanisme d'action.

Par cette analyse, il sera possible de comprendre, dans la seconde partie, les améliorations possibles dans la prise en charge des patients et donc d'analyser les anticorps monoclonaux anti-CD20 de nouvelles générations.

I. Un acteur important du monde du médicament

Le rituximab, aujourd'hui l'un des médicaments les plus importants dans le monde de la santé, représente une avancée majeure dans la prise en charge de patients souffrant de certains cancers ou de pathologies inflammatoires. En effet, il a été le premier anticorps monoclonal mis sur le marché aux Etats-Unis en 1997, sous le nom de Rituxan[®], puis en Europe en 1998, sous le nom de Mabthera[®]. Le rituximab, découvert à l'origine par Biogen puis développé en collaboration avec Roche et Genentech, est aujourd'hui commercialisé dans la plupart des pays par le laboratoire Roche.

Grâce à son mécanisme d'action, ciblant les lymphocytes B, le rituximab s'est montré significativement efficace et a obtenu successivement des autorisations de mise sur le marché dans le lymphome non Hodgkinien, la polyarthrite rhumatoïde et la leucémie lymphoïde chronique. Ces nouvelles possibilités de traitement ont représenté une avancée majeure dans ces pathologies concernant la survie sans progression, se traduisant par des améliorations du service médical rendu (ASMR) importantes.

Le rituximab représente également aujourd'hui un produit majeur en termes de chiffre d'affaires puisque celui-ci s'élevait en 2010 à plus de sept milliards de dollars, en constante progression depuis son lancement. Le rituximab se place ainsi au quatrième rang des médicaments les plus vendus au monde en termes de chiffre d'affaires (ventes du Mabthera[®] et Rituxan[®] groupées en 2010).

Cependant, les prévisions de ventes annoncent une prochaine diminution des ventes à partir de 2015, date à laquelle les principaux brevets expieront, autorisant ainsi l'entrée des premiers biosimilaires.

¹(IMS Knowledge Link, 2011)

1. Une place majeure dans le traitement des lymphomes malins

a. Description des lymphomes non Hodgkiniens

Les lymphomes malins correspondent à une prolifération incontrôlée de cellules lymphoïdes à partir d'une même cellule-mère, principalement au niveau des ganglions lymphatiques. Ces ganglions sont, en effet, le siège des lymphocytes B via la zone corticale externe et celui des lymphocytes T et des cellules dendritiques via la zone paracorticale.

Ces tumeurs entraînent fréquemment l'apparition d'adénopathies superficielles, non inflammatoires, non douloureuses au niveau cervicale, sus-claviculaire et axillaire. Elles s'accompagnent également parfois de signes généraux tels que la fièvre, l'amaigrissement ainsi qu'une splénomégalie ou une hépatomégalie.

Le diagnostic des lymphomes non Hodgkiniens s'effectue grâce à un examen histologique, suite à une biopsie d'un ganglion ou d'un organe.

²(Site de la Caisse centrale de réassurance, 2011)

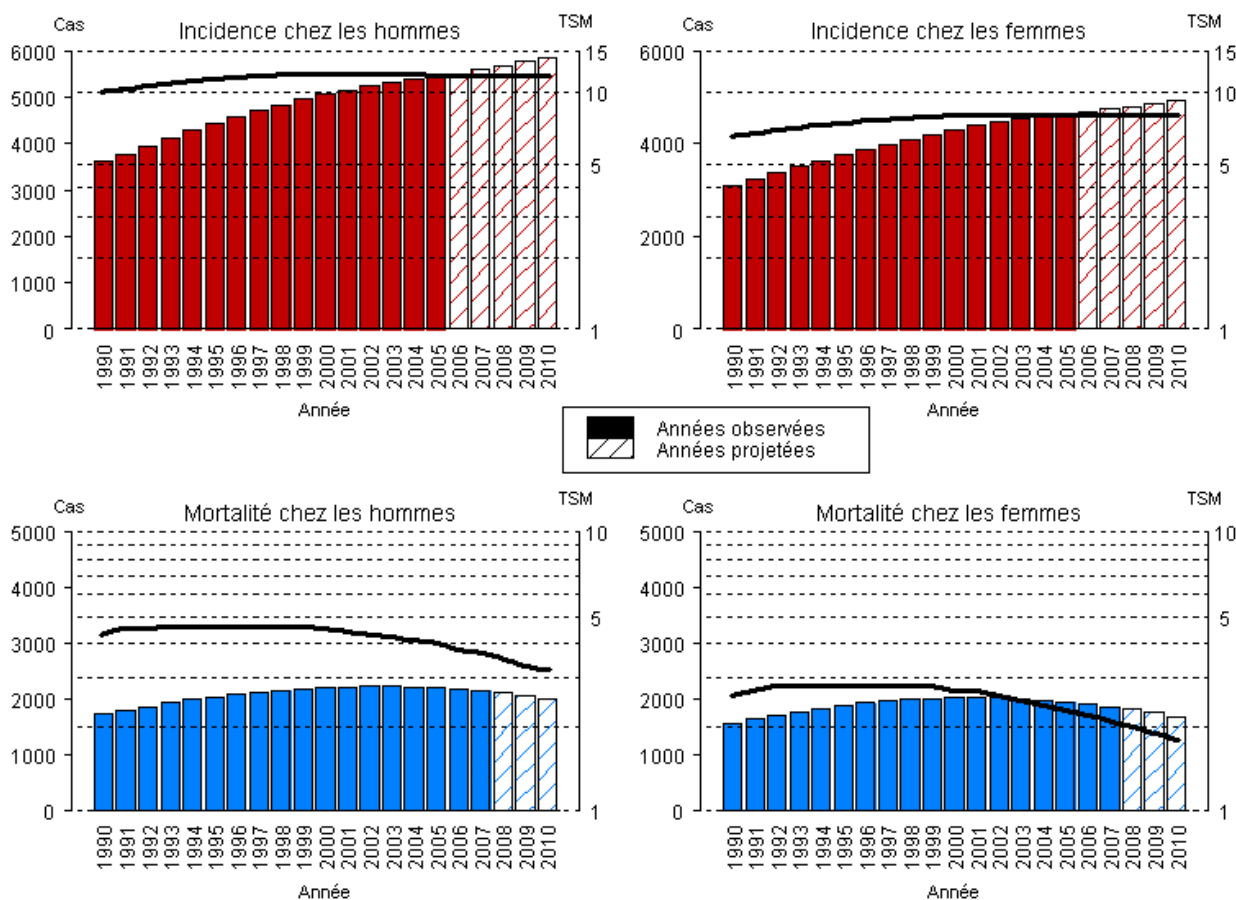
L'incidence des lymphomes non Hodgkiniens en France montre un nombre de 5851 nouveaux cas par an pour les hommes et 4926 pour les femmes en 2005. Cette incidence augmente chaque année, due en partie à l'amélioration des techniques de diagnostic.

L'incidence par classe d'âge montre que l'âge moyen de diagnostic est de 65 ans pour les deux sexes. Cependant on retrouve des cas de lymphomes non Hodgkiniens dans toutes les catégories d'âge.

La mortalité quant à elle, diminue de façon significative depuis 2002 pour s'établir à 2007 décès chez l'homme et 1697 chez la femme en 2007. Cette décroissance s'explique là encore par l'amélioration des diagnostics précoces mais également par la qualité des nouveaux traitements mis en place dans ces pathologies.

³(InVS, 2007)

Figure 1. Evolution du nombre de cas et de décès chez l'homme et la femme de 1990 à 2010 en France



On compte aujourd'hui environ 40 types de lymphomes, classés selon l'OMS en fonction:

- De la topographie prédominante: ganglionnaire, splénique ou extracellulaire
- De la morphologie: taille des cellules, forme du noyau...
- Des données immunophénotypiques afin de distinguer les lymphocytes B des T
- Des données génétiques
- Des données cliniques

Cette classification distingue alors les lymphomes B, caractérisés par la prolifération des cellules lymphoïdes B, des lymphomes T, caractérisés par la prolifération des cellules lymphoïdes T.

Les lymphomes B représentent 85% des lymphomes de l'adulte.

Parmi les lymphomes B, on retrouve les lymphomes dits folliculaires ou indolents (25% des lymphomes non Hodgkiniens) qui sont des tumeurs composées de cellules B centro-folliculaires et de cellules dendritiques folliculaires.

On retrouve également des lymphomes diffus à grandes cellules, dits agressifs (35% des lymphomes non Hodgkiniens) survenant parfois par la transformation de lymphomes folliculaires.

Ces deux types de lymphomes B sont les plus importants en termes de nombre de cas et sont également ceux ciblés par une thérapie à base de rituximab.

⁴(Jaffe ES, 2001)

b. Stratégies de traitement à base de rituximab

Le rituximab, qui a obtenu son Autorisation de mise sur le marché en France en 1998 et est commercialisé sous le nom de Mabthera[®], fut tout d'abord indiqué dans le traitement des lymphomes folliculaires de stades III et IV en cas de chimiorésistances ou à partir de la seconde rechute après chimiothérapie.

En 2003, le Mabthera[®] obtenait une première extension d'indication, avec une amélioration majeure de niveau I du service médical rendu pour le traitement des patients souffrant de lymphome non Hodgkinien agressif diffus à grandes cellules B, en association à une chimiothérapie de type CHOP (Cyclophosphamide, Doxorubicine, Vincristine, Prednisone). Cette autorisation s'est basée sur la présentation d'une étude randomisée chez 399 patients âgés de 60 à 80 ans naïfs, souffrant d'un lymphome agressif à grandes cellules B et traités soit par une chimiothérapie CHOP standard toutes les 3 semaines sur huit cycles, soit par une chimiothérapie CHOP associée au Mabthera[®] 375mg/m².

Le critère principal de jugement était la survie sans événement de type rechute, décès et les critères secondaires se basaient sur la survie globale, la survie sans progression et la survie sans récurrence. L'analyse de l'efficacité étant réalisée en deux temps: une analyse intermédiaire à 12 mois et une analyse principale à 24 mois.

Les résultats ont montré que la survie sans événement (critère principal) a été supérieure dans le groupe traité par chimiothérapie + rituximab lors de l'analyse intermédiaire à 12 mois (68% contre 48%) ainsi que lors de l'analyse finale à 24 mois (57% contre 37%). La survie globale a été également améliorée de façon significative à 24 mois (70% contre 57%).

⁵(Avis de la Commission de la Transparence Mabthera, HAS, 2003)

Tableau 1. Résultats de l'étude clinique de phase III du rituximab dans les lymphomes non Hodgkiniens (suivi du critère principal: survie sans événement)

	12 mois		18 mois		24 mois	
	CHOP N=159	R-CHOP N=169	CHOP N=197	R-CHOP N=202	CHOP N=197	R-CHOP N=202
Survie sans événement	48%	68%	43,2%	61,8%	37,3%	57%
p	s		s		s	
Survie globale	68%	83%	61,1%	73,5%	57,3%	70,2%
p	s		s		s	
survie sans progression	54%	74%	ND	ND	ND	ND
p	s					
survie sans récidive	64%	80%	ND	ND	ND	ND
p	s					
réponse complète après 8 cycles.	59%	71%	ND	ND	ND	ND
p	s					

(1) : patients n'ayant pas reçu de traitement antérieur pour lymphome agressif diffus à grandes cellules B

ND : Analyse non disponible

En 2005, le Mabthera® obtenait une nouvelle extension d'indication avec une ASMR jugée importante de niveau II dans le cadre du traitement, en association à une chimiothérapie de type CVP (Cyclophosphamide, Doxorubicine, Prednisolone), des patients souffrant de lymphome folliculaire de stades III – IV et n'ayant jamais été traités auparavant. Cette extension se basait sur les résultats d'une étude de phase III randomisée, effectuée sur 322 patients et comparant l'efficacité et la tolérance d'une chimiothérapie associée au rituximab (375mg/m² administré le 1^{er} jour du cycle de la chimiothérapie) à une chimiothérapie CVP simple (toutes les 3 semaines pendant 8 cycles).

Le critère principal de cette étude était le temps jusqu'à échec du traitement, c'est-à-dire le temps écoulé entre le début du traitement et la survenue d'un événement tel que la progression ou la rechute tumorale. Les critères secondaires étaient quant à eux le taux de réponses objectives, la durée de la réponse, la survie globale et le temps jusqu'à instauration d'un nouveau traitement anti tumoral.

L'analyse, effectuée sur 18 et 24 mois, a permis de mettre en évidence un temps jusqu'à progression (critère primaire d'efficacité) significativement en faveur du rituximab: 27 mois contre 7 avec une chimiothérapie traditionnelle. Les 4 critères secondaires ont également été atteints au cours de cette étude.

⁶(Avis de la Commission de Transparence Mabthera, HAS, 2005)

En 2009, le Mabthera obtenait de la même façon une nouvelle extension d'indication avec une ASMR de type I en association cette fois avec toutes les chimiothérapies.

Par ces différentes études, le rituximab en association à une chimiothérapie standard de première intention est devenu le traitement de référence en première ligne des lymphomes folliculaires.

La survenue des principaux effets indésirables rencontrés au cours de ces études n'a pas été globalement supérieure en termes de fréquence et de gravité dans les groupes traités

avec du rituximab ou dans les autres. Cependant, les principaux effets indésirables relevés ont été des bronchites, des zonas, des sinusites, des dyspnées, des tremblements, des douleurs abdominales, de l'hypertension et des fibrillations auriculaires.

⁶(Avis de la Commission de Transparence Mabthera, HAS, 2005)

2. Un nouveau rôle dans le traitement de la polyarthrite rhumatoïde

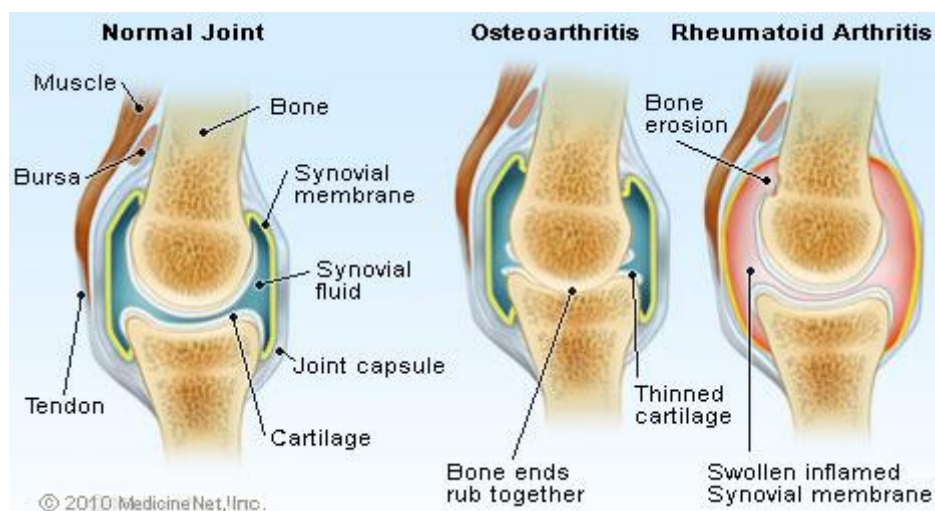
a. Description de la polyarthrite rhumatoïde

La polyarthrite rhumatoïde (PR) est le plus fréquent des rhumatismes inflammatoires chroniques se traduisant par l'apparition d'une synovite inflammatoire, c'est-à-dire une lésion élémentaire responsable de la destruction articulaire. Sa prévalence est estimée à entre 0,3 et 0,8% de la population adulte, l'âge moyen de début est 50 ans et elle est trois fois plus fréquente chez la femme que chez l'homme.

Plusieurs phases caractérisent l'évolution de la synovite rhumatoïde: l'initiation, le recrutement cellulaire et l'inflammation, la prolifération synoviale et enfin la destruction de l'articulation.

Dans 70% des cas de polyarthrite rhumatoïde, il n'existe aucun signe extra-articulaire. Elle ne touche alors que les poignets ou les articulations métacarpo-phalangiennes par phases et est fréquemment responsable de réveils nocturnes et d'un déverrouillage matinal supérieur à 30min. On remarque également à la palpation de l'articulation un gonflement lié à la formation de la synovite.

Figure 2. Schéma d'articulations atteintes de rhumatismes et polyarthrites rhumatoïdes



Dans 10 à 15% des cas, il est possible d'observer une polyarthrite aiguë fébrile avec altération de l'état général et une fièvre supérieure à 38.5C. Plus rarement, d'autres manifestations peuvent accompagner une polyarthrite rhumatoïde telles que des anomalies cardiaques, des signes cutanés, des signes digestifs, des anomalies digestives...

Le diagnostic s'effectue bien sûr tout d'abord par un interrogatoire et un examen clinique, puis par certains examens complémentaires tels que des radiographies des mains et des poignets, des analyses biologiques (numération formule sanguine, vitesse de sédimentation, bilan hépatocellulaire).

Il est également possible de doser le facteur rhumatoïde par néphélobimétrie ou par ELISA. Cependant, la présence de ce facteur n'est pas obligatoirement liée à la traduction clinique d'une polyarthrite rhumatoïde.

⁷(Cofer Univ Lille 2, 2011)

b. Stratégies de traitement à base de rituximab

Le rituximab a obtenu, en 2006, une autorisation de mise sur le marché avec une ASMR de type II pour le traitement des polyarthrites rhumatoïdes actives, sévères en association au méthotrexate chez des patients adultes ayant présenté une réponse inadéquate ou une intolérance aux traitements de fond dont au moins un anti-TNF.

Aucun autre traitement n'est disponible en cas d'échec ou intolérance à un anti-TNF. Ces anti-TNF tels que l'infliximab Remicade® (MSD, Johnson & Johnson) ou l'etanercept Enbrel® (Amgen, Pfizer) représentent le traitement principal d'une polyarthrite rhumatoïde en cas d'échec du méthotrexate.

Trois études ont été réalisées et présentées pour l'obtention de cette extension d'AMM dans le cadre de la polyarthrite rhumatoïde. Seule l'étude REFLEX a été réalisée dans l'indication de l'AMM.

Cette étude contrôlée, randomisée en double aveugle a évalué l'efficacité et la tolérance du Mabthera® en association avec le méthotrexate chez 520 patients atteints de polyarthrite rhumatoïde et ayant eu une réponse inadéquate à un ou plusieurs anti-TNF pendant 24 semaines.

Le critère principal de jugement était le taux de réponse ACR 20 à la semaine 24. ACR désigne un critère composite avec ses paramètres biologiques et cliniques incluant raideur, gonflement et douleur articulaire. Le taux ACR 20 se caractérise donc par une amélioration de 20% du nombre d'articulations sensibles et enflées et une amélioration de 20% d'au moins trois des paramètres suivants: évaluation globale par le patient, évaluation globale par le médecin, évaluation de la douleur par le patient, incapacité et un marqueur de l'inflammation.

Les critères secondaires étaient quant à eux la proportion de patients répondeurs à l'ACR 50/70 à la semaine 24, la variation du DAS 28 (score se calculant sur 28 articulations prenant en compte le nombre d'articulations douloureuses, le nombre de synovites et l'évaluation de l'intensité de la douleur par le patient), la proportion de patients répondeurs selon les critères de l'EULAR (changements du score DAS 28 classé en trois catégories: bon, moyen, pas de réponse), l'ACRn, le FACIT-score (score caractérisant la fatigue du patient), le SF-36 (évaluant la qualité de vie du patient en fonction de sa santé) et le score de Sharp modifié (prenant en compte les lésions de l'avant pied ainsi que les luxations et subluxations).

Tous les patients ont reçu 10 à 25 mg/semaine de méthotrexate, 5mg/semaine de folates, 100mg de méthylprednisolone et 60mg de prednisolone, 30 min avant l'injection de Mabthera® ou de placebo. Ces patients ont ensuite reçu soit un placebo, soit deux perfusions d'1g de Mabthera® à 2 semaines d'intervalles. Les patients ont été ainsi traités pendant 24 semaines puis suivis pendant 18 mois.

Les résultats de cette étude ont montré que le taux de réponse ACR 20 à la semaine 24 a été statistiquement plus élevé ($p < 0,001$) dans le groupe traité par Mabthera® en association avec le méthotrexate (51% soit 153 / 298) que dans le groupe ayant reçu le méthotrexate avec le placebo (18% soit 36 / 201).

Le Mabthera® en association avec le méthotrexate a également montré des résultats statistiquement supérieurs au méthotrexate seul sur les critères secondaires ACR 50, 70, DAS 28 et réponse EULAR.

Les résultats de cette étude concernant la tolérance ont montré des effets indésirables globalement similaires à ceux rencontrés lors du traitement par le Mabthera® des patients souffrant de lymphomes non Hodgkiniens.

Le Mabthera® se place donc aujourd'hui efficacement dans la stratégie thérapeutique de la polyarthrite rhumatoïde. En effet, la prise en charge des patients nouvellement diagnostiqués comporte toujours la prescription d'anti-inflammatoires d'action immédiate (AINS, corticoïdes), puis le méthotrexate seul en tant que traitement de fond. En cas de réponse inadéquate ou de contre-indication, le recours à un anti-TNF peut s'imposer. Cependant, selon les experts, environ 30% des patients ont une réponse inadéquate ou insuffisante aux anti-TNF à 2 ans. Le Mabthera®, en association au méthotrexate, se place alors dans la prise en charge de ces patients.

⁸(Avis de la Commission de Transparence Mabthera, HAS, 2006)

3. Autre indication du rituximab

En 2010, le Mabthera® a obtenu une dernière indication avec une ASMR de niveau IV dans le traitement de première ligne de la leucémie lymphoïde chronique (LLC) en association à une chimiothérapie de type Fludarabine / Cyclophosphamide.

Cette pathologie se caractérise par la prolifération de lymphocytes (de type B dans 95% des cas) au niveau sanguin. Son incidence en France en 2005 s'élevait à 3224 nouveaux cas dont 58% survenant chez l'homme, la mortalité, quant à elle, s'élevait à 1059 décès.

⁹(InVs - 2005)

Dans 1/3 des cas environ, il n'existe aucun signe clinique de cette maladie. La forme clinique la plus fréquente reste la découverte d'une adénopathie ou d'une splénomégalie; plus rarement, des complications infectieuses peuvent survenir.

La prise en charge thérapeutique du patient dépend grandement de son état général et du stade de la maladie. Cependant, avant que le Mabthera® n'obtienne son indication dans la leucémie lymphoïde chronique, le traitement de 1^{ère} ligne se composait d'alkylants tels que le Chlorambucil, d'analogues des purines tels que la Fludarabine et de combinaisons incluant Cyclophosphamide, Vincristine et Prednisone.

Les résultats d'une étude de phase III comparant le Mabthera® en association avec une chimiothérapie ont montré un gain absolu de 7,6 mois en termes de durée médiane de survie sans progression par rapport à un groupe traité par une chimiothérapie (Fludarabine / Cyclophosphamide) simple.

Grâce à ces résultats, le Mabthera® se place comme une meilleure option en première ligne de traitement par rapport à une chimiothérapie simple.

¹⁰(Avis de la Commission de Transparence Mabthera, HAS, 2010)

4. Un médicament important en termes de chiffre d'affaires

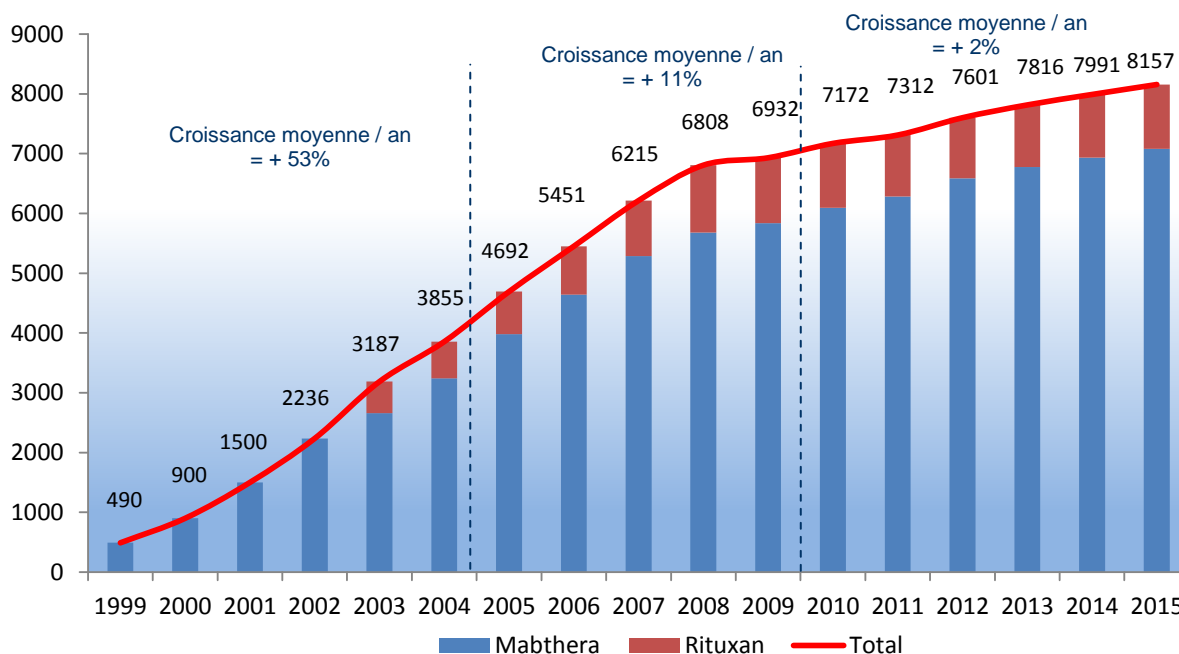
Comme décrit précédemment, le rituximab a obtenu plusieurs indications depuis son lancement en 1997 aux Etats-Unis et 1998 en Europe. Ces extensions d'autorisation de mise sur le marché ont permis de soutenir une réelle croissance en termes de chiffre d'affaires et d'augmenter petit à petit la contribution de ce médicament pour les laboratoires Genentech puis Roche, suite à l'acquisition du premier en 2009.

En 2010, les ventes groupées du rituximab (Rituxan® et Mabthera®) tous pays confondus s'élevaient à plus de 7 milliards de dollars, en croissance de 2% par rapport à 2009 (à taux de change constant). Les ventes de rituximab représentaient ainsi 19% des ventes totales du laboratoire Roche (Chiffre d'affaires Roche 2010 = 37,3 milliards de dollars).

Cette croissance est légèrement ralentie depuis 2008, principalement due au cycle de vie traditionnel du médicament, mais elle reste tout de même soutenue par l'indication obtenue en 2010 pour les leucémies lymphoïdes chroniques et par l'extension de la distribution de ce produit dans les pays émergents.

Le rituximab représente aujourd'hui le second médicament le plus important en termes de chiffre d'affaires pour Roche juste derrière Avastin® et le quatrième médicament au monde en termes de chiffre d'affaires tous produits confondus, derrière Humira®, Avastin® et Crestor®. ¹¹(Roche – Annual report, 2010)

Figure 3. Evolution des ventes du rituximab tous marchés confondus (\$ millions)



Les prévisions de croissance du rituximab de 2011 à 2015 restent positives mais montrent une croissance nettement plus faible, conséquence d'une part du cycle de vie du médicament et d'autre part d'une nouvelle concurrence. En effet, en 2010, l'ofatumumab (Arzerra®) du laboratoire GSK, un anticorps entièrement humain anti-CD20 a obtenu une autorisation de mise sur le marché en Europe dans le traitement des leucémies lymphoïdes chroniques et des études de phase III sont actuellement en cours pour les traitements des lymphomes non Hodgkiniens et de la polyarthrite rhumatoïde. Ce médicament représente le principal concurrent du rituximab dans ces indications car il présente l'avantage d'être entièrement humain et donc de diminuer le risque d'immunogénicité. Cependant, les futures ventes du rituximab dépendront de sa faculté à obtenir de nouvelles indications.

¹²(Datamonitor, 2011)

En effet, plusieurs études cliniques de phase III sont en cours, dans le but d'obtenir de nouvelles indications. Parmi celles-ci se trouvent, une étude testant une nouvelle forme sous-cutanée du rituximab débutée en 2010, une étude testant l'efficacité du rituximab dans le traitement des anémies hémolytique auto-immune, débutée en 2010 ou encore une étude dans le cadre des rejets de transplants rénaux.

¹³(Site Clinicaltrials.gov, Rituximab Clinical studies)

A partir de 2015, les ventes de rituximab devraient commencer à diminuer sensiblement du fait de l'expiration des principaux brevets et donc de la possible entrée de biosimilaires. La plupart des grands génériqueurs investissent dans ces biosimilaires comme par exemple Teva qui a signé un partenariat avec la biotechnologie Lonza afin de produire ce type de produit.

¹⁴(Datamonitor, 2011)

II. Structure d'un anticorps chimérique tel que le rituximab

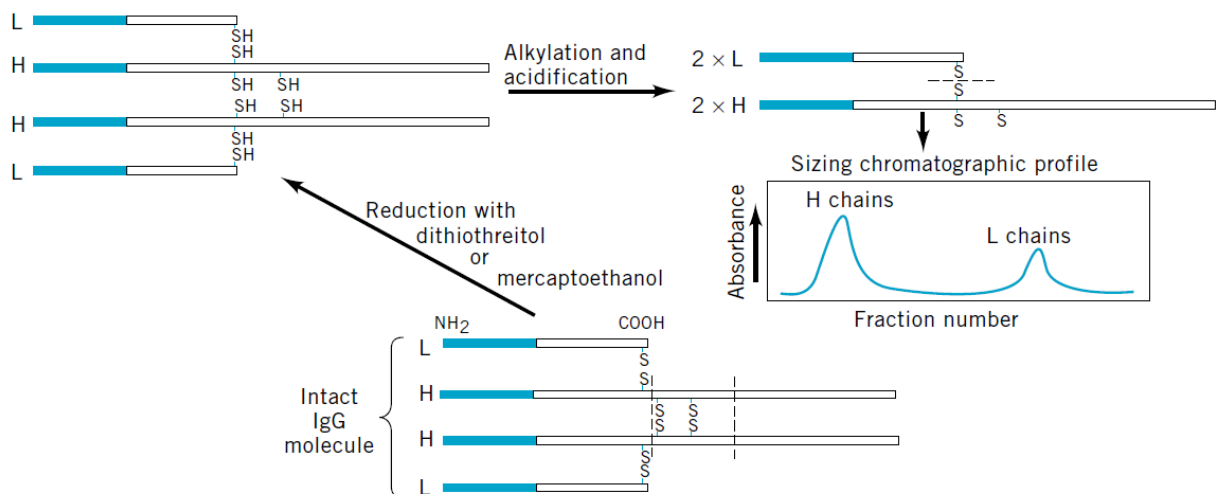
Le rituximab est un anticorps monoclonal chimérique murin / humain de type IgG1. Sa structure générale est donc identique à celle d'un anticorps classique, cependant, des fragments d'anticorps humain ont été greffés avec des parties d'anticorps de souris.

Afin de comprendre sa structure, il convient donc d'abord d'étudier celle d'une immunoglobuline classique de type G.

1. Structure générale d'un anticorps

Au début des années 1960, Rodney Porter et Gerald Edelman élucidaient la structure chimique des anticorps ou immunoglobulines. En effet, ils ont réussi à extraire des sous-unités en traitant des IgGs de rat avec du dithiothreitol (un agent réducteur qui détruit les ponts disulfures), de l'iodoacétamide (un agent alkylant qui inhibe la reformation de ces ponts disulfures) et enfin avec un agent dénaturant qui détruit les liaisons non-covalentes. Ils ont ainsi eu l'opportunité d'identifier deux types de chaînes dans chaque anticorps: des chaînes lourdes (H) d'un poids de 50kD et des chaînes légères (L) d'un poids de 23kD. Compte tenu du fait que la molécule globale pèse 150kD, ils ont en déduit que chaque IgG contenait deux chaînes lourdes et deux chaînes légères liées par des ponts disulfures et des liaisons non-covalentes.

Figure 4. Mise en évidence des chaînes lourdes et légères d'un anticorps



¹⁵(Mayer G. 2006)

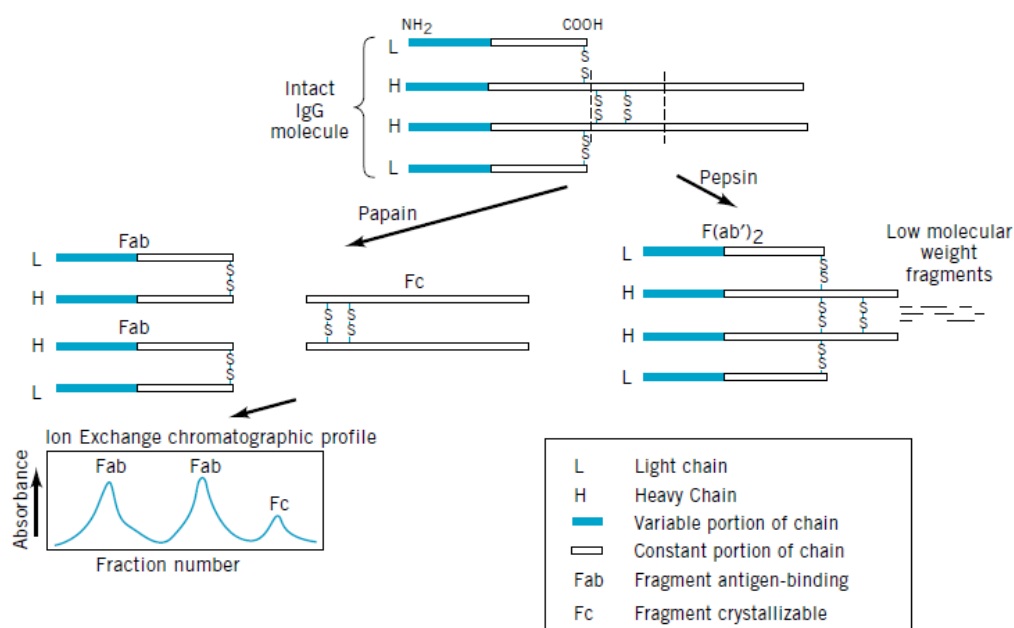
a. Structure d'un anticorps: Identification des fragments

Par la suite, Porter et Edelman ont tenté de fragmenter les anticorps avec une enzyme protéolytique (la papaïne) en présence de cystéine comme agent réducteur. Par hydrolyse des liaisons peptidiques, ils ont découvert 3 fragments (I, II et III) d'un poids moléculaire équivalent (50kD) mais de charges différentes.

- Deux de ces trois fragments étaient identiques et capables de fixer un antigène; ils furent donc appelés Fragments Fab pour Fragments of Antigen – Binding.
- Le dernier fragment ne se liait pas à l'antigène mais cristallisait à froid; il fut donc appelé Fragment Fc pour Fragment Cristallisable.

Lors d'études similaires, Alfred Nisonoff utilisait de la pepsine à la place de la papaïne afin d'hydrolyser d'autres sites de l'anticorps. Il découvrait ainsi un fragment de 100kD, capable de lier l'antigène, qu'il nomma $F(ab')_2$. Il démontrait par cette méthode que les deux fragments Fab étaient également liés par des ponts disulfures et des liaisons covalentes. Grâce à des études supplémentaires, Porter détermina que les fragments Fab composaient l'intégralité des chaînes légères et une partie des chaînes lourdes.

Figure 5. Mise en évidence des fragments d'un anticorps



¹⁵(Mayer G. 2006)

b. Structure d'un anticorps: Identification des régions

Une fois la structure générale des anticorps identifiée, d'autres études ont été menées afin d'identifier les parties clés des chaînes de ces immunoglobulines et donc le site de liaison aux antigènes.

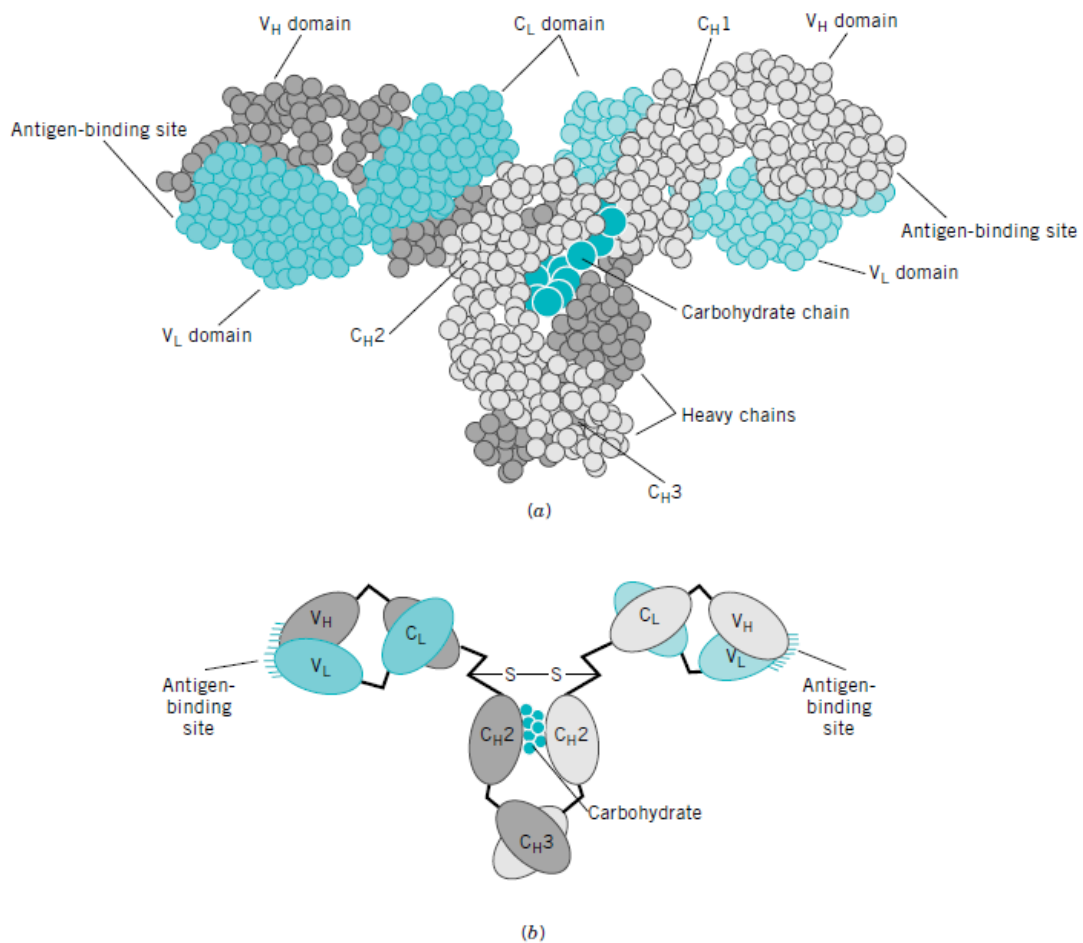
Ces études ont permis d'identifier une large région, appelée région constante (C), du fait qu'elle soit constante quel que soit le type d'anticorps. Cette région se termine par une extrémité de type carboxyl COOH. Une seconde région, variable (V) selon le type d'anticorps

et se terminant par un groupement aminé a ensuite été identifiée. De plus, on retrouve sur cette partie 3 régions appelées hypervariables ou CDRs pour Complementary Determining Regions se situant à proximité des groupements aminés terminaux

Ces régions constantes et variables ont été retrouvées à la fois sur les chaînes légères et lourdes des anticorps. En effet, on remarque que les chaînes légères d'un anticorps comportent un domaine V_L et un domaine constant C_L . De la même façon, les chaînes lourdes comportent une région variable V_H et trois régions constantes C_H .

Une fois les chaînes lourdes et légères liées, on remarque que les CDRs forment une fissure définissant le site de liaison à l'antigène.

Figure 6. Structure en 3 dimensions d'un anticorps – mise en évidence des régions

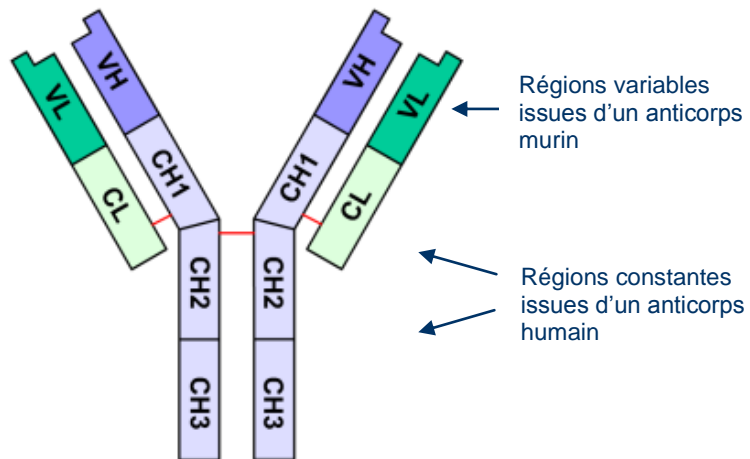


¹⁵(Mayer G. 2006)

2. Structure d'un anticorps chimérique tel que le rituximab

Dans le cadre des anticorps thérapeutiques chimériques tels que le rituximab, les parties constantes des chaînes lourdes et légères (C_H et C_L) d'un anticorps humain ont été greffées sur les parties variables respectives (V_H et V_L) d'un anticorps murin. Il est ainsi considéré qu'un anticorps de ce type est humain à 60%.

Figure 7. Schéma d'un anticorps chimérique (humain / murin)



¹⁶ (Site Masterbiologie.fr, 2012)

III. Les cibles des anticorps monoclonaux anti-CD20

Les maladies auto-immunes sont définies par une perte de la tolérance physiologique aux composants du soi. En effet, le soi est alors reconnu comme étranger par le système immunitaire qui tente alors de détruire ces cellules via la prolifération des lymphocytes T. Cependant, suite à de nombreuses études des mécanismes de ces pathologies, le rôle des lymphocytes B a également été mis en avant dans ces pathologies.

Par la suite, l'analyse de la structure de ces lymphocytes et de leur fonctionnement a permis de mettre en avant le rôle clé des CD20, présents en surface des lymphocytes et déclenchant, lors de leur activation, une série de mécanismes permettant la destruction de la cellule cible.

1. Rôle des lymphocytes B dans le lymphome non Hodgkinien

90% des lymphomes non Hodgkiniens ont pour origine une multiplication incontrôlée des lymphocytes B anormaux.

Les rôles normaux des lymphocytes B sont:

- La reconnaissance des antigènes (ou non soi) sous forme naïve, c'est-à-dire sans qu'ils soient associés au complexe majeur d'histocompatibilité CMH
- La présentation des antigènes dégradés en peptides aux lymphocytes T du CMH (responsables de la destruction des agents étrangers)
- La synthèse d'anticorps via leur transformation en plasmocytes.

Le dérèglement de la production de lymphocytes B au niveau des cellules souches dans la moelle osseuse entraîne leur accumulation et donc la formation de tumeurs principalement au niveau des ganglions lymphatiques.

Il existe une trentaine de lymphomes non Hodgkiniens, classés selon la nature de la cellule d'origine, des critères architecturaux (prolifération diffuse ou folliculaire), des critères cytologiques (cellules petites, grandes ou mixtes) et de l'aspect du noyau (clivé ou non clivé). Deux grandes catégories de lymphomes peuvent alors être mises en évidence:

- Les lymphomes de faible malignité ou indolents, se développant aux dépens de tissu ne contenant pas de tissu lymphoïde et caractérisés par une évolution lente mais aussi par une moindre sensibilité aux traitements
- Les lymphomes de forte malignité ou agressifs, parmi lesquels on retrouve le lymphome diffus à grandes cellules B, représentant environ 35% des lymphomes diagnostiqués. Son évolution est assez rapide mais il a une bonne chimiosensibilité et a, de ce fait, un bon pronostic à long terme.

²(Site de la Caisse centrale de réassurance, 2011)

Cibler les lymphocytes B est donc une stratégie de premier choix dans le traitement du lymphome non Hodgkinien afin de contrôler leur multiplication et donc de limiter la croissance et la prolifération des tumeurs.

2. Rôle des lymphocytes B dans les pathologies auto-immunes

L'analyse des infiltrats lymphoïdes observés dans de nombreuses pathologies auto-immunes et traduisant la présence de réaction immunitaire a mis en évidence la présence de lymphocytes B.

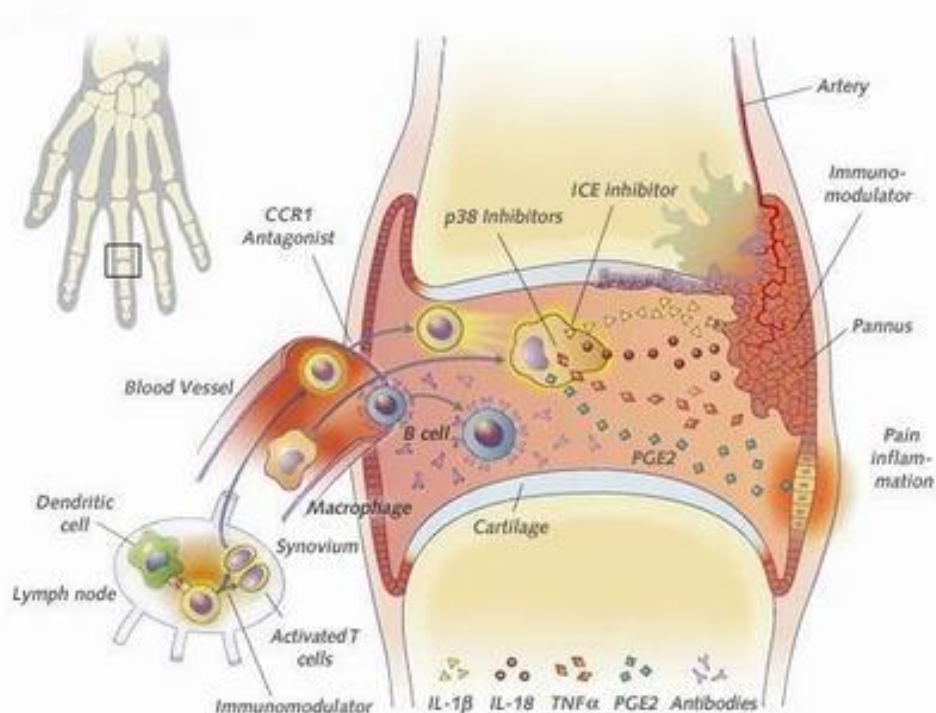
De plus, certains activateurs des lymphocytes B ont été mis en avant dans les pathologies auto-immunes, en particulier le système BAFF. Cette cytokine de la famille des TNF (Tumor Necrosis Factor) participe à l'activité de maladies auto-immunes telles que le lupus ou la polyarthrite rhumatoïde. BAFF, présente sur les monocytes et les cellules dendritiques, va se fixer sur son récepteur (BAFF-R) à la surface des lymphocytes B, entraînant ainsi un signal de survie et participant à la communication isotopique. L'importance de BAFF et des lymphocytes B a d'ailleurs été mise en évidence à l'aide de souris transgénique BAFF/BAFF, développant de façon significativement supérieure des lupus ou des polyarthrites rhumatoïdes.

Trois rôles clés des lymphocytes B ont été mis en évidence dans les maladies auto-immunes, faisant d'eux une cible particulièrement intéressante.

- Les lymphocytes B sont d'excellents présentateurs d'auto-antigènes, capables d'activer les lymphocytes T auto-réactifs impliqués dans la destruction du soi. Ceci a été mis en évidence par des souris transgéniques caractérisées par l'apparition de pathologies telles que des arthrites ou des néphropathies. En effet, si les lymphocytes B de ces souris sont incapables de produire des IgGs membranaires, il n'y a pas d'infiltration de lymphocytes T. En revanche, si elles produisent des immunoglobulines de membranes, un infiltrat de lymphocytes T se forme, entraînant des manifestations auto-immunes.
- Les lymphocytes B sont capables de sécréter différentes cytokines telles que les TNF α , les lymphotoxines, IL10 et IL4 et des chémokines. Certaines d'entre elles telles que TNF α exercent un rôle dans la réponse immunitaire innée, d'autres telles que IL10 ont un rôle immunorégulateur en provoquant l'activation des lymphocytes T régulateurs, contrôlant ainsi les réactions auto-immunes.
- Les lymphocytes auto-réactifs ont des propriétés particulières démontrant également leur rôle dans les pathologies auto-immunes. En effet, ces lymphocytes particuliers producteurs de facteurs rhumatoïdes par exemple sont activés par des immuns complexes qui sont capables de stimuler le récepteur à l'antigène (BCR) et TLR, normalement stimulé par de l'ADN bactérien.

¹⁷(Sibilia J. 2004)

Figure 8. Schéma représentatif de la progression d'une polyarthrite rhumatoïde au niveau d'une articulation



¹⁸(Site medicalook.com, 2011)

Les lymphocytes B sont donc bien au carrefour de l'immunité innée et adaptative, hyperactive dans le cas des maladies auto-immunes telles que la polyarthrite rhumatoïde, faisant d'eux une cible particulièrement intéressante en vue du ralentissement de la progression de ce type de pathologies.

3. Le CD20: une cible de choix

Le CD20 est une phosphoprotéine transmembranaire de 33 à 37kDa présente en grande quantité sur les lymphocytes B. Le rôle physiologique de cette protéine reste encore incertain même si certaines études de cellules lymphoïdes tumorales montrent son implication dans la régulation des flux calciques.

Cependant, dans le cadre d'un traitement par un anticorps anti-CD20, son rôle physiologique importe peu, le but étant d'avoir un point de fixation pour les fragments Fab de l'anticorps.

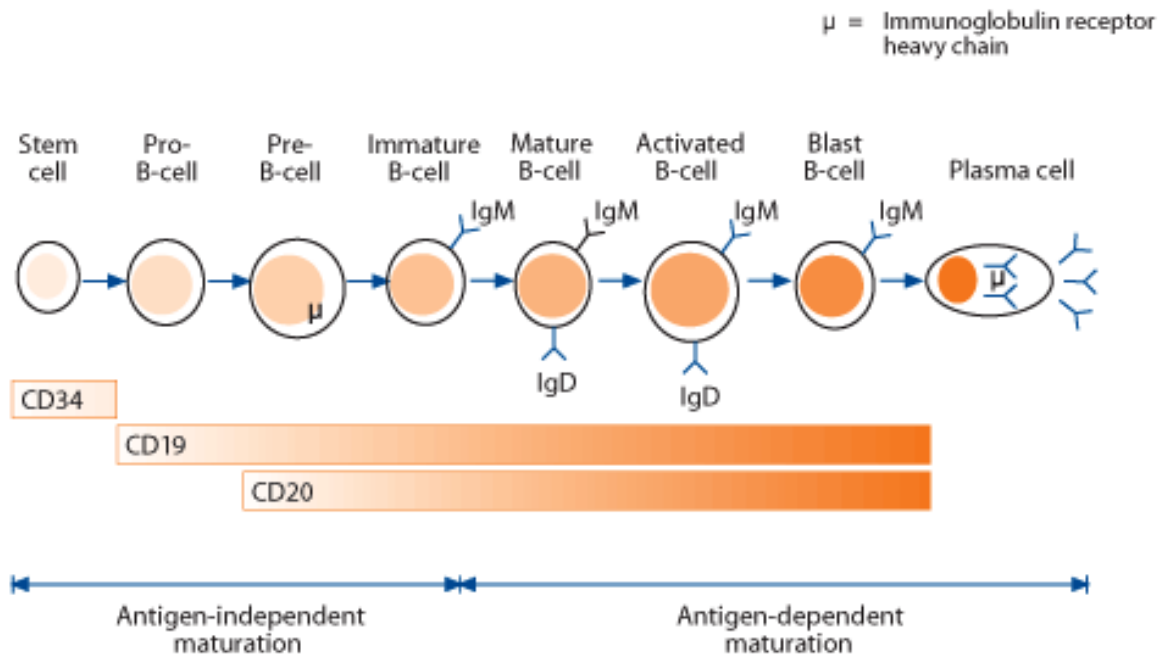
De ce point de vue, les CD20 sont des cibles très intéressantes pour deux raisons majeures :

- Les CD20 sont exprimées à la surface de la plupart des cellules B malignes impliquées dans les lymphomes non Hodgkiniens ainsi que des cellules B normales, mais elles sont absentes des cellules souches et des plasmocytes.

Ceci permet l'éradication des cellules cibles sans altérer trop fortement le taux de cellules B et d'immunoglobulines et donc d'éviter potentiellement certaines infections. En effet, les cellules B pourront continuer de se différencier grâce aux

cellules souches, conservant ainsi un niveau normal. Le taux d'immunoglobulines étant quant à lui maintenu par les plasmocytes.

Figure 9. Schéma représentatif de l'expression des CD20 sur les cellules B



- Les CD20 sont exprimées en grande quantité à la surface cellulaire et ne sont pas internalisées après fixation d'un anticorps anti-CD20, permettant ainsi l'initiation d'une réponse immunitaire durable et l'induction de l'apoptose.

¹⁹(Site mabthera.com, 2011)

IV. Mécanismes d'action des anticorps monoclonaux anti-CD20

1. Evénements intervenant en amont de la liaison aux CD20

Plusieurs événements interviennent en amont de la liaison des anticorps monoclonaux anti-CD20 et donc du rituximab à leur cible, les CD20. Ces événements déterminent avec quelle quantité ils vont atteindre les lymphocytes B et ainsi permettre la cytotoxicité.

a. Niveau de rituximab présent dans le sérum

Du fait qu'il soit un anticorps monoclonal, le rituximab ne se comporte pas, une fois injecté par voie intraveineuse, comme tout autre traitement de chimiothérapie. En effet, sa pharmacocinétique est non seulement influencée par ces caractéristiques mais aussi par la présence de CD20 circulantes ou cellulaires.

La demi-vie d'un anticorps monoclonal est donc en grande partie déterminée par le fragment Fab de celui-ci. La véritable quantité disponible dépend également grandement de la quantité de CD20 accessibles, soit présentes à la surface des cellules B, soit circulantes. L'avantage des CD20 est tout de même qu'elles soient en grande partie présentes en surface et en faible quantité en circulation.

Par ces propriétés, des doses répétées de rituximab permettent d'augmenter la quantité de cet anticorps dans le sérum du fait de la diminution du nombre de CD20 circulantes. Un essai non randomisé sur des patients atteints de lymphomes réfractaires a d'ailleurs démontré que l'utilisation en monothérapie d'une dose par semaine pendant huit semaines au lieu des quatre semaines habituelles entraînait une meilleure réponse.

²⁰(*Smith M R, 2003*)

b. Distribution du rituximab dans les tissus

La distribution du rituximab dans le corps peut également affecter l'efficacité de la molécule. En effet, plus le rituximab diffusera dans les tissus, plus son efficacité diminuera compte tenu du fait qu'il doit prioritairement cibler les lymphocytes présents dans le sang et dans les ganglions lymphatiques. Les caractéristiques de diffusion du rituximab ainsi que son affinité pour les CD20 expliquent donc grandement son efficacité.

D'une part, le rituximab a une affinité assez constante et élevée pour les CD20 sur les cellules B humaines présentes dans le sang, ce qui limite sa diffusion et augmente donc son efficacité. D'autre part, ces propriétés physiques, telles que sa grande taille, limitent sa diffusion vers les tissus à l'état libre.

Ces propriétés doivent être gardées en mémoire lorsque l'on désire modifier des anticorps monoclonaux qui ont pour cibles des cellules sanguines, car la diminution de la taille, par exemple dans le cadre des anticorps modifiés avec un seul fragment Fc, induit automatiquement une diffusion plus élevée.

²⁰(*Smith M R, 2003*)

c. Niveau d'expression des CD20

Le lien entre l'expression des CD20 et la réponse clinique a été observé en étudiant la réponse dans différents types de lymphomes. Par exemple, la réponse aux traitements est plus faible dans le cadre de lymphomes à petits lymphocytes, qui expriment moins de CD20, que dans les lymphomes folliculaires.

Cependant, l'influence du niveau d'expression des CD20 sur la réponse reste assez faible. En effet, certains auteurs ont démontré l'efficacité du rituximab chez les patients traités pour des lymphomes non Hodgkiniens réfractaires ou pour des lymphomes à petites cellules malgré la faible expression des CD20 dans ces types de pathologies.

¹⁹(*Smith M R, 2003*)

2. Propriétés effectrices du rituximab suite à la liaison aux CD20

Comme pour tout anticorps anti-CD20, les fragments Fab du rituximab lui permettent de se fixer à sa cible, les CD20 des lymphocytes B. La présence des deux fragments Fab est nécessaire à la reconnaissance de cet antigène afin de former des complexes immuns. Ces réseaux permettent ainsi d'accélérer les processus de destruction des lymphocytes B, cellules cibles.

Le fragment Fc, quant à lui, formant la partie effectrice, a la capacité de détruire la cellule via différents mécanismes, variant selon le type d'anticorps.

Dans le cadre du rituximab, quatre types de mécanismes d'action peuvent être mis en jeu: la signalisation cellulaire, l'apoptose induite par le rituximab, la cytotoxicité dépendante des anticorps (ADCC) et la cytotoxicité dépendante du complément (CDC).

Cependant, le rôle exact de ces mécanismes ainsi que leurs efficacités dans les différents types de pathologies ne sont pas encore précisément définis.

a. La signalisation cellulaire

Une fois le rituximab lié au CD20 grâce à ces fragments Fab, une cascade de signalisation se met en place à l'intérieur de la cellule cible. Cet effet est indépendant du fragment Fc de l'anticorps et engendre l'apoptose de la cellule.

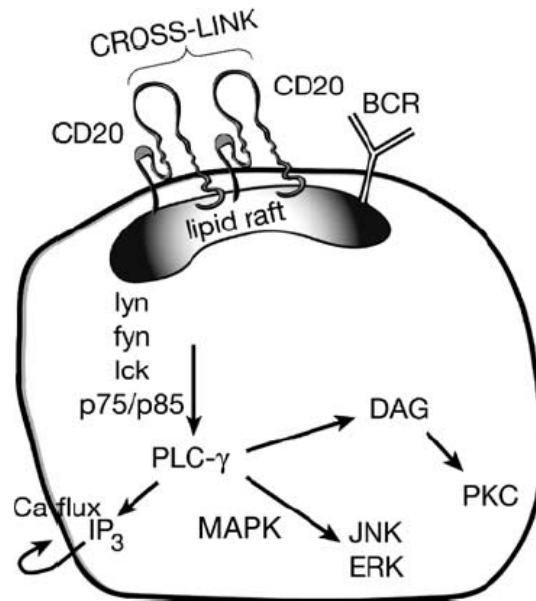
Cette cascade implique principalement des protéines de type tyrosine kinase (lyn, fyn, lck) et induit l'activation de la phospholipase C.

Cette activation induit ensuite celle de MAP kinases telles que JNK, ERK.

La phospholipase C clive également PIP3, générant de l'inositol triphosphate provoquant un flux de calcium lié à l'apoptose cellulaire.

Cette activation entraîne alors l'arrêt du cycle cellulaire puis l'apoptose de la cellule.

Figure 10. Cascade d'activation entrainant la signalisation cellulaire



¹⁹(Smith M R – 2003)

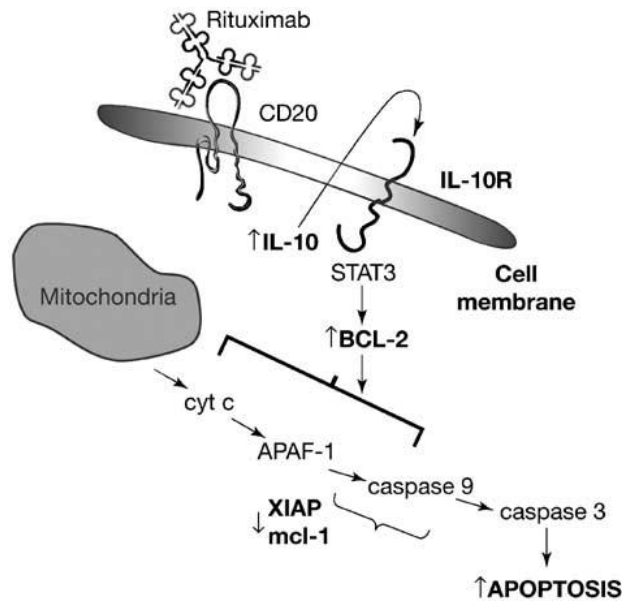
b. Apoptose induite par la liaison du rituximab aux CD20

Le rituximab peut également entrainer directement l'apoptose de sa cible. Le rituximab active ici la voie mitochondriale, provoquant la libération de cytochromes c qui induisent ensuite la caspase 3, responsable de l'apoptose des cellules.

De plus, dans un modèle cellulaire spécifique, il a été démontré que le rituximab pouvait inhiber l'expression de Bcl-2, molécule anti-apoptotique. L'expression de cette molécule est d'ailleurs habituellement associée à un mauvais pronostic dans le lymphome diffus à grandes cellules. Cependant, en présence d'un traitement à base de rituximab et de chimiothérapie, son expression n'aurait plus d'impact pronostic.

L'importance de cette apoptose induite par le rituximab dans le mécanisme d'action global reste tout de même aujourd'hui toujours à confirmer.

Figure 11. Cascade d'activation entrainant l'apoptose induite par la fixation d'un anticorps



¹⁹ (Smith M R – 2003)

c. Cytotoxicité dépendante du complément (CDC)

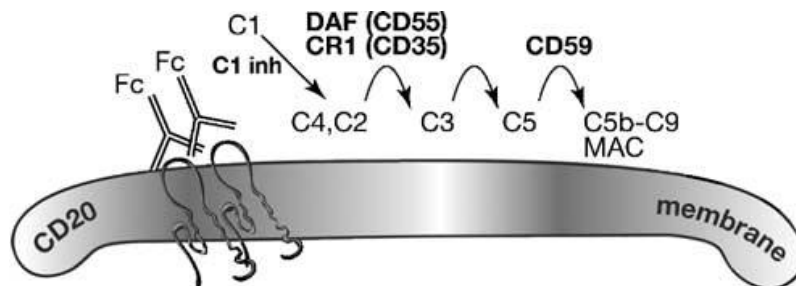
Contrairement aux deux mécanismes précédemment décrits, la cytotoxicité dépendante du complément est entraînée via le fragment Fc du rituximab.

En effet, les compléments de C1 à C5 sont activés successivement par le fragment Fc provoquant ainsi la lyse cellulaire.

La régulation de ce phénomène est liée à des protéines inhibitrices du complément telles que CD35, CD55 ou CD59. L'analyse de l'expression de ces protéines inhibitrices du complément peut prédire in vitro l'efficacité de cette voie d'action.

La corrélation avec une efficacité clinique est cependant, là encore, toujours en discussion.

Figure 12. Cascade d'activation entrainant la cytotoxicité dépendante du complément



¹⁹ (Smith M R – 2003)

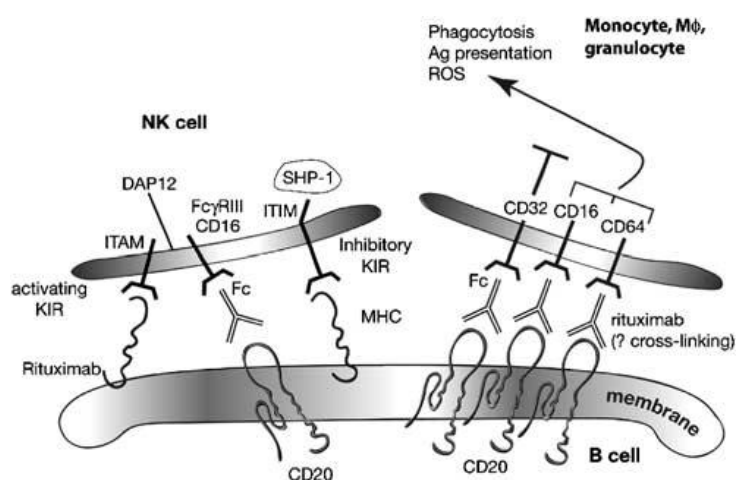
d. Cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (ADCC)

La cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps s'effectue par la fixation de cellules telles que les monocytes, les macrophages, les cellules NK au fragment Fc du rituximab.

Cette fixation intervient grâce aux récepteurs des fragments Fc dont on retrouve trois formes:

- Les récepteurs de haute affinité (Fcγ – RI ou CD64)
- Les récepteurs de faible affinité (Fcγ – RIIIA ou CD16)
- Les récepteurs inhibiteurs (Fcγ – RIIIB ou CD32). On remarque, dans ce dernier type de récepteurs, que les souris déficientes sont hypersensibles à la cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps.

Figure 13. Cascade d'activation entraînant la cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps



¹⁹ (Smith M R – 2003)

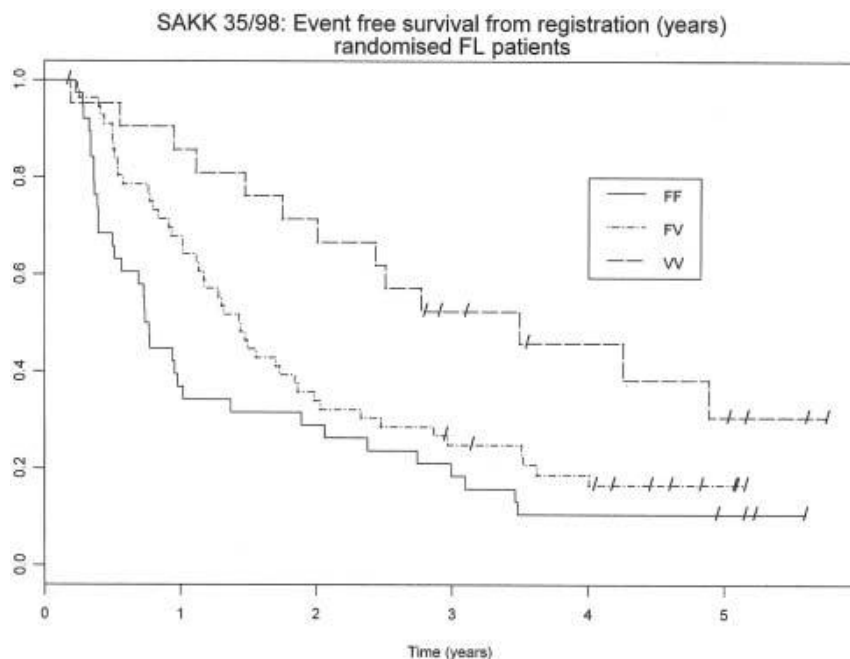
Le polymorphisme de ces récepteurs Fcγ peut également moduler l'efficacité du rituximab. En effet, quelques cas illustrant ce phénomène ont été mis en évidence:

- Chez des patients souffrant de lymphomes folliculaires et ayant un polymorphisme du Fcγ – RIIIA avec une valine en position 158 (V158), on observe une rémission complète induite par le rituximab.

Cette réponse en fonction du polymorphisme a été mise en évidence lors d'une étude sur 49 patients traités avec du rituximab dans le cadre de lymphomes non Hodgkiniens. Le taux de réponse à 12 mois s'élevait à 90% chez les patients homozygotes à la valine en position 158, comparé à une efficacité de 51% chez les patients homozygotes à phénylalanine (F158).

D'autres études ont permis d'évaluer le rôle exact du génotype du récepteur Fcγ-RIIIA en réponse au rituximab en termes de survie globale. Les patients homozygotes V158 ont une survie sans événement médiane de 41 mois contre 9 mois pour les patients homozygotes F158.

Figure 14. Evaluation de la survie globale de patients traités par rituximab en fonction du polymorphisme de leur récepteur Fcγ - R11A



²¹(Friedberg J. W., 2005)

De la même façon, il a été observé qu'une histidine en position 131 (H131) à la place d'une arginine (R131) augmentait également l'efficacité du rituximab.

- Dans le cadre des maladies auto-immunes telles que la polyarthrite rhumatoïde, il a également été démontré que le polymorphisme du récepteur Fcγ – R11A pouvait influencer la déplétion des lymphocytes B.

Cette cytotoxicité dépendante des anticorps serait également dépendante du complément car le rituximab ne semble pas capable de détruire les cellules T des souris déficientes en C1q.

¹⁹ (Smith M. R., 2003)

En conclusion de cette première partie, le rituximab se présente aujourd'hui comme un acteur clé du monde du médicament d'une part au niveau de l'amélioration de la prise en charge des patients souffrant de lymphomes non Hodgkiniens, de polyarthrite rhumatoïde ou de leucémie lymphoïde chronique et d'autre part au niveau de son chiffre d'affaires, contribuant grandement au succès du laboratoire Roche ces dernières années.

Grâce à sa structure, le rituximab cible efficacement les CD20, phosphoprotéines transmembranaires des lymphocytes B. En se fixant sur celles-ci, le rituximab entraîne différents mécanismes provoquant l'apoptose des lymphocytes et limite ainsi l'extension des pathologies pour lesquelles la prolifération incontrôlée de ceux-ci est à l'origine.

Le rituximab a prouvé une grande efficacité dans ces pathologies, cependant certains phénomènes de résistances ainsi que des problèmes de tolérance liés à l'immunogénicité peuvent survenir. C'est pourquoi le développement de plusieurs anticorps monoclonaux anti-CD20 de nouvelles générations est actuellement en cours, soit pour diminuer les effets indésirables, soit pour améliorer l'efficacité des traitements.

B. Les anticorps anti-CD20 de nouvelles générations: des améliorations en termes de rapport bénéfices / risques

Le rituximab se présente aujourd'hui comme la référence dans la prise en charge thérapeutique des patients souffrant de pathologies impliquant les lymphocytes B. Cependant, il existe des résistances et des risques d'immunogénicité. En effet, le polymorphisme des récepteurs présents sur les cellules NK ou une faible concentration en CD20 à la surface des lymphocytes B peuvent par exemple, limiter l'efficacité du rituximab. De plus, le rituximab entraîne un risque d'immunogénicité comme tout anticorps monoclonal chimérique. Bien que celui-ci soit faible, il provoque une certaine baisse de l'efficacité et une augmentation des effets indésirables.

Se basant sur ces faiblesses, de nouveaux anticorps monoclonaux anti-CD20 sont en cours de développement afin soit de diminuer l'immunogénicité (anticorps humanisés ou humains de seconde génération) soit d'améliorer directement l'efficacité (anticorps « glycoengineerés » de troisième génération). Roche est bien sûr un acteur prépondérant dans le développement de ces nouveaux anticorps, cherchant ainsi une alternative efficace au rituximab après la prochaine perte de ses brevets et la potentielle arrivée de biosimilaires. Cette seconde partie a donc pour but de présenter ces anticorps de nouvelles générations et plus précisément d'étudier dans quels buts ils ont été développés, quelles sont leurs structures, comment ils agissent et enfin quels potentiels avantages ils ont par rapport au traitement de référence: le rituximab.

I. Humaniser les anticorps monoclonaux pour réduire l'immunogénicité

1. L'immunogénicité des anticorps monoclonaux est responsable de réactions d'hypersensibilité

a. Principe général des réactions d'immunogénicité

L'immunogénicité a toujours été un problème important en termes de tolérance pour les anticorps monoclonaux. En effet, par leur taille importante et du fait qu'ils soient reconnus comme du non-soi, les anticorps monoclonaux induisent la production d'anticorps spécifiques qui les cibleront. Celle-ci peut entraîner une diminution de l'efficacité du traitement ou des réactions d'hypersensibilité pouvant avoir des conséquences graves pour la sécurité des patients.

L'incidence des patients développant des anticorps spécifiques lors de traitement à base d'anticorps monoclonaux, ainsi que la quantité d'anticorps produits et les véritables effets cliniques de ceux-ci sont impossibles à anticiper à partir des études précliniques. Cependant, la recherche de ces anticorps spécifiques dans le corps humain est possible lors des essais cliniques et elle représente une phase clé dans les études d'efficacité et de tolérance d'un nouvel anticorps monoclonal.

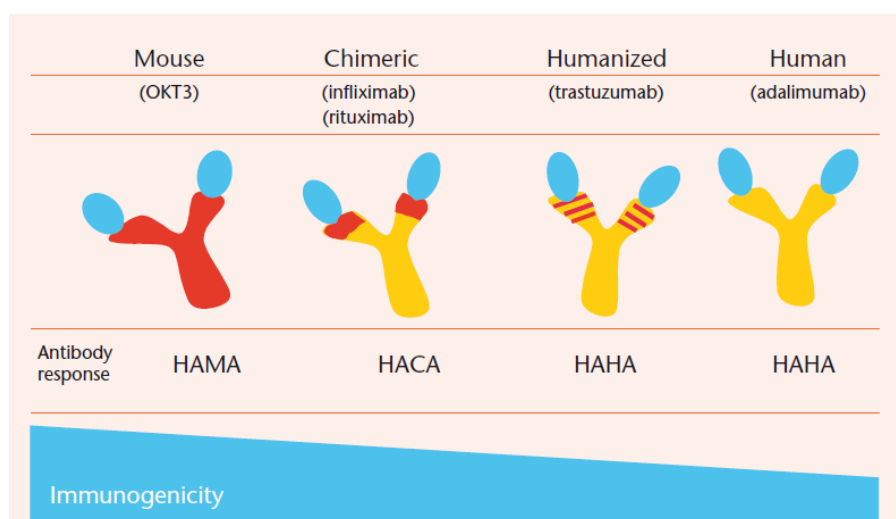
En termes d'efficacité, ces anticorps humains spécifiques peuvent limiter l'efficacité des anticorps monoclonaux en se liant directement au site actif ou en provoquant une barrière stérique proche de ce site cible. La présence de ces anticorps, appelés également dans ce cas neutralisant, n'affecte pas directement le patient au niveau clinique mais peut diminuer l'efficacité du traitement et donc nécessiter l'injection de doses plus importantes. En termes de tolérance, la présence de ces anticorps spécifiques peut entraîner des réactions d'hypersensibilité de type immuno-allergiques. Certaines réactions anaphylactiques ont d'ailleurs été rapportées lors de traitements à base de cetuximab, infliximab, ou basiliximab, trois anticorps chimériques. Ces chocs anaphylactiques ne se produisent qu'en cas de doses répétées d'anticorps monoclonaux et sont à distinguer des réactions survenant lors de la première injection.

²²(Descotes J., 2009)

La formation de ces anticorps spécifiques est plus ou moins importante en fonction du type d'anticorps monoclonal. En effet, on estime à environ 90%, la proportion de patients traités par des anticorps monoclonaux murins produisant des anticorps humain anti-souris (HAMA). Ce nombre se réduit lorsque l'on traite les patients avec des anticorps monoclonaux chimériques tels que le rituximab, mais on rapporte encore une proportion de 50% des patients produisant des anticorps humains anti-chimériques (HACA). L'humanisation de ceux-ci permet à nouveau de réduire cette immunogénicité tout comme la formation d'anticorps purement humains. Cependant, même avec ces derniers, 20% des patients produisent des anticorps antihumains (HAHA). De plus, ces réactions se produisent avec un ratio différent selon le profil génétique du patient, la présence de maladies sous-jacentes ou d'une autre immunothérapie associée.

²³(Site Biologicals.sanguin.nl, 2011)

Figure 15. Schéma représentatif de la diminution de l'immunogénicité selon le type d'anticorps



b. Formation d'anticorps humains anti-chimériques lors du traitement par le rituximab

Comme tout anticorps monoclonal, le rituximab entraîne la formation d'anticorps humains anti-chimériques, leur taux a d'ailleurs été mesuré au cours des études de phase III pour le traitement de la polyarthrite rhumatoïde et présenté au CHMP en vue de l'obtention de cette indication.

Les anticorps humains anti-chimériques étaient alors mesurés le premier jour du traitement puis à la semaine 24. Pour que la réponse soit alors jugée positive, le titre en HACA devait être supérieur à 5 RU/mL de sérum.

Les résultats ont montré qu'au cours de ces études, une proportion maximale de patients égale à 11,9% formaient des HACA contre 1,4% pour le placebo (Étude Image – rituximab 2 x 0.5g). Cependant, il n'est pas possible ici de définir si cette formation d'anticorps anti-chimériques est liée ou non au méthotrexate associé. En effet, le schéma thérapeutique utilisé pour cette étude est similaire au protocole standard de traitement d'une polyarthrite rhumatoïde par rituximab incluant une association avec le méthotrexate. Toutefois, lors d'une étude d'efficacité du traitement à base d'infliximab (Remicade®) dans la polyarthrite rhumatoïde, il s'avérait que l'association avec le méthotrexate permettait de réduire le risque de formation de HACA.

²⁴(Maini RN, 1998)

Tableau 2. Proportion des patients traités par rituximab formant des HACA au cours des études cliniques

Study, Phase	Dosing Regimen	Patients with Positive HACA Response
IMAGE, Phase III	placebo	1.4% (3/222)
	rituximab 2 x 0.5 g	11.9% (28/235)
	rituximab 2 x 1 g	7.8% (18/230)
SERENE, Phase III	placebo, rtx 2 x 0.5 g	3.6 % (5/137)
	rituximab 2 x 0.5 g	7.9% (12/152)
	rituximab 2 x 1 g	5.4% (8/149)
SUNRISE	2 x 1 g, no re-treatment	6.5% (2/31)
	2 x 1 g, placebo	6.7% (10/150)
	2 x 1 g, 2 x 1 g	5.9% (17/288)
MIRROR, Phase III	rituximab 2 x 0.5 g	6.2% (14/227)
	rituximab 2 x 1 g,	1.8% (2/114)

En termes de pharmacocinétique, la formation de ces HACA n'a pas eu d'effets significatifs sur la concentration post infusion de rituximab entre les patients ayant une réponse positive et ceux ayant une réponse négative.

En termes d'efficacité du rituximab chez ces patients ayant une réponse positive aux HACA, deux patients ont rapporté une diminution significative de l'efficacité du traitement. Enfin, en termes de tolérance, 2,2% des patients ayant une réponse positive aux HACA suite au traitement par rituximab ont rapporté des réactions d'hypersensibilité nécessitant l'arrêt du protocole, contre 0,52% si la réponse aux HACA était négative.

En conclusion, bien que le développement d'anticorps humains anti-chimériques reste rare dans le cadre d'un traitement par le rituximab associé au méthotrexate, des modifications de l'efficacité ou des réactions d'hypersensibilité ne sont pas à exclure.

²⁵(Assessment report for Mabthera, EMA, 2010)

2. Les anticorps monoclonaux de seconde génération de type humanisés

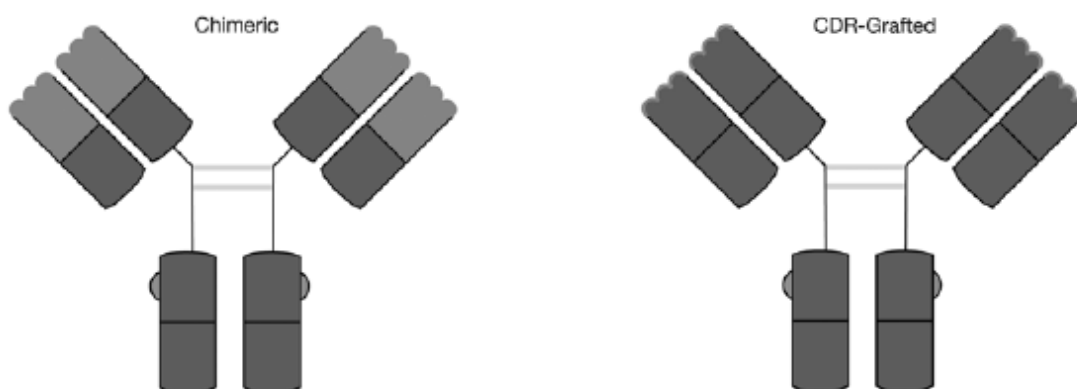
Dans le but de réduire cette immunogénicité liée à la formation d'anticorps humains anti-chimériques, mais également d'augmenter l'efficacité des anti-CD20, des anticorps dits de seconde génération ont été développés. Ces anticorps sont des anticorps humanisés sans modification de la glycosylation du fragment Fc.

a. Des anticorps chimériques aux anticorps humanisés

L'origine de ces anticorps humanisés provient du fait que Greg Winter en 1986, à découvert que seul le site de liaison (formé par les 6 CDRs) d'un anticorps humains était nécessaire d'être remplacé par celui d'un anticorps murin.

Ainsi, il est uniquement nécessaire de greffer les boucles de peptides formant les CDRs d'un anticorps murin (donneur) sur les régions variables ($V_H - V_L$) d'un anticorps humain (accepteur). Contrairement aux anticorps chimériques tels que le rituximab, pour lesquels l'intégralité des régions variables d'un anticorps murin était associée aux régions constantes d'un anticorps humains, ces anticorps de seconde génération se présentent comme des anticorps entièrement humains avec seulement les CDRs provenant d'anticorps murins. Cette technique d'humanisation est appelée CDR-grafting, en référence à son principe de formation.

Figure 16. Structure d'un anticorps chimérique comparativement à celle d'un anticorps humanisé obtenu par technique de CDR grafting



La plupart des anticorps humanisés réalisée par cette technique ont une affinité diminuée pour l'antigène cible compte tenu de la modification de certains acides aminés proches des CDRs essentiels au maintien de cette affinité.

Il est donc souvent obligatoire de greffer non seulement les CDRs mais également certains acides aminés de l'anticorps murin donneur.

²⁶(Saldanha J.W.,2008)

La formation de ces anticorps humanisés par technique de CDR grafting nécessite plusieurs étapes successives:

- Premièrement, il est nécessaire de cloner et séquencer les gènes des régions variables de l'anticorps murin. Ce clonage est effectué par une transcription inverse et réaction d'amplification en chaîne (RT-PCR). Les fragments d'ADN contenant les gènes codant pour ces régions variables sont alors séquencés afin de déterminer quelles sont les chaînes d'acides aminés des chaînes V_H et V_L .
- Ensuite, la seconde étape consiste à désigner l'anticorps humanisé. Il faut donc identifier les résidus des régions murines importants pour maintenir la structure des CDRs murins, afin de les transférer également sur l'anticorps humain.
Cet anticorps humain aura lui aussi été sélectionné à partir de son homologie avec les régions variables murines. Cette étape se réalisant à partir d'un modèle en 3 dimensions des régions variables permettant une comparaison entre les régions variables murines et régions humaines.
- Une fois les parties clés des régions variables murines identifiées et le choix du cadre humain effectué, il est nécessaire de déterminer les résidus murins indispensables au maintien de l'affinité pour l'antigène et ceux qui peuvent présenter une source d'immunogénicité.
Certains programmes informatiques sont capables de déterminer les résidus susceptibles de participer au site de liaison de l'antigène. Si ces résidus sélectionnés diffèrent entre les régions murines et humaines, il sera alors sûrement nécessaire d'inclure des acides aminés murins dans l'anticorps humanisé afin de conserver l'affinité.
- La dernière étape consiste à la production d'anticorps humanisés. Après synthèse des régions variables avec la conformation voulue, il faut choisir les vecteurs d'expression dans des cellules telles que les lignées CHO ou NHO qui permettront l'assemblage des différentes régions.
Il est ensuite nécessaire de vérifier l'affinité et l'activité biologique de l'anticorps.

Depuis les premières synthèses d'anticorps humanisés par CDR-grafting des évolutions techniques ont eu lieu afin de diminuer l'immunogénicité par exemple. En effet, des analyses ont permis de comprendre que seuls 20% à 33% des acides aminés des régions CDR sont critiques dans l'interaction antigène-anticorps. Ces résidus, appelés SDR (Specificity Determining Residues), sont uniques pour chaque anticorps.

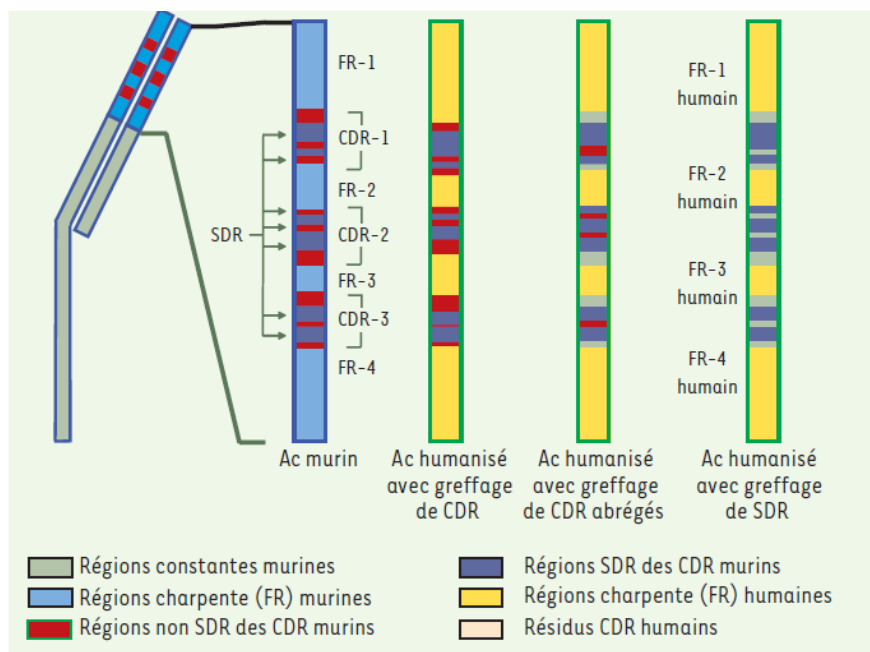
Une nouvelle technique a donc été mise en place afin de ne greffer que ces SDRs de l'anticorps murin sur l'anticorps humain. Cette approche permet de diminuer l'immunogénicité (puisque la proportion de fragment d'origine murine diminue) tout en maintenant l'affinité de l'anticorps.

Cette technique reste délicate à mettre en place car l'identification des SDRs demeure complexe.

Une technique intermédiaire dite des CDRs abrégés a été mise en place, elle consiste à greffer des parties de CDRs à l'intérieur desquelles des SDRs sont présents avec certitude.

L'immunogénicité est donc diminuée et il n'est alors pas obligatoire de connaître la position exacte des SDRs.

Figure 17. Schéma illustrant les greffes de segments de régions murines sur une région variable d'une chaîne légère d'un anticorps humain



²⁷(Bellet D., 2005)

b. Les anticorps monoclonaux humanisés anti-CD20 de seconde génération

Deux principaux anticorps monoclonaux anti-CD20 humanisés de seconde génération ont été développés afin d'améliorer l'efficacité et / ou de diminuer l'immunogénicité vis-à-vis du rituximab lors des traitements de pathologies telles que le lymphome non Hodgkinien ou la leucémie lymphoïde chronique. Ces deux anticorps ont présenté des résultats de phase I / II avec des efficacités et des tolérances différentes.

Le premier de ces deux anticorps monoclonaux humanisés est le veltuzumab, développé par le laboratoire Immunomedics et pour lequel des premiers résultats de phase I / II pour le traitement des lymphomes non Hodgkiniens sont disponibles.

Cet anticorps se caractérise par le fait qu'il présente quasiment les mêmes CDRs que le rituximab. En effet, il a été formé en utilisant la même immunoglobuline humaine que l'epratuzumab (anti-CD22), la structure de son cadre humain est donc à plus de 90% identique à celle de celui-ci. De plus, il ne diffère du rituximab que par un acide aminé (un acide aspartique à la place d'une asparagine en position 101) dans le CDR3 de la chaîne variable lourde V_H , ce qui lui confère des propriétés similaires en termes de liaison à l'antigène.

Figure 18. Comparaison des CDRs de différents anticorps monoclonaux

Table 1. Comparison of CDR3-V_H

Kabat numbering	95					100					101	102	
Veltuzumab	S	T	Y	Y	G	G	—	D	W	Y	F	D	V
D101N	●	●	●	●	●	●	—	●	●	●	●	N	●
CA20	●	●	●	●	●	●	—	●	●	●	●	●	●
Rituximab	●	●	●	●	●	●	—	●	●	●	●	N	●
1F5	●	H	●	G	S	N	Y	V	D	●	●	●	●

Residue marked as ● is identical to that of veltuzumab in the same position. Single letters represent amino acids.
 — indicates not applicable.

En termes de structure, cela signifie donc que le veltuzumab a un cadre formé à partir d'un anticorps humain et que seuls les CDRs murins du rituximab ont été greffés sur cette charpente. Une seule modification au niveau d'un des CDRs a été effectuée. Comparativement au rituximab, le veltuzumab a donc des régions murines beaucoup plus petites, puisqu'il ne s'agit que des CDRs, contrairement au rituximab pour lesquelles toutes les régions variables sont d'origines murines. Ceci devrait, comme vu précédemment, diminuer sensiblement l'immunogénicité.

Lors d'une étude préclinique évaluant l'activité anti-tumorale du veltuzumab, sur des souris immunodéficientes et porteuses de tumeurs de type Raji et comparativement à celle du rituximab, il a été démontré entre autre que la survie médiane était de 70 jours pour les souris traitées par le veltuzumab contre 98 jours pour celles traitées par rituximab.

Une étude de phase I / II a ensuite été menée sur 82 patients souffrant de lymphomes non Hodgkiniens, incluant 55 patients avec des lymphomes folliculaires et 27 avec des lymphomes des cellules B. Le veltuzumab était alors administré par voie intraveineuse une fois par semaine pendant 4 semaines à des doses variant de 80mg/m² à 750mg/m². Le traitement a été en général bien supporté avec aucun effet indésirable de grade 3-4 répertorié. En termes d'efficacité, le veltuzumab a également démontré des résultats intéressants avec 44% des patients souffrant de lymphome folliculaire (24 / 55) ayant une réponse objective. Le fait le plus marquant dans cette étude était que le veltuzumab se montrait déjà efficace après administration de faibles doses.

²⁸(Robak T., 2011)

Une nouvelle étude de phase I / II a alors été conduite sur 17 patients souffrant de lymphomes non Hodgkiniens, testant cette fois l'efficacité du veltuzumab via des injections sous-cutanées. Le veltuzumab a également été testé dans le cadre de cette étude chez les patients souffrant de leucémie lymphoïde chronique. Le but principal de cette étude était de déterminer la tolérance et l'immunogénicité d'un traitement à base de veltuzumab en sous-cutané à des doses de 80mg (3 patients), 160mg (7 patients) ou 320mg (5 patients), administrées une fois toutes les 2 semaines pendant 8 semaines. L'objectif primaire était ici d'évaluer le taux de réponse objective (réponse complète confirmée ou non, réponse partielle) et l'objectif secondaire était d'avoir les premières preuves d'efficacité et d'évaluer les caractéristiques pharmacocinétiques et pharmacodynamiques.

En termes de tolérance, 76% des patients traités ont eu un ou plusieurs effets indésirables lors de cette étude. La plupart de ces effets indésirables étant des réactions au point d'injection (35%), des douleurs au niveau des extrémités (24%), des infections des voies

respiratoires hautes (18%) ou des nausées (18%). Il n'y a eu, en tout cas, aucun cas d'effet indésirable sévère de grade 3 ou 4 lors de cette analyse. De même, l'analyse d'échantillons de sérums a montré que les réactions d'immunogénicité étaient inexistantes au cours de cette étude; en effet, tous les échantillons se sont montrés négatifs avec une concentration inférieure à 50ng/mL d'anticorps humain anti-veltuzumab.

En termes d'efficacité, le taux de réponse objective s'élevait à 47% (8 patients sur 17) avec 24% des patients (4 patients sur 17) montrant une réponse complète confirmée ou non. Le délai médian pour atteindre cette réponse était de 11 semaines après la première injection. Parmi les 9 patients n'ayant pas atteint une réponse objective, 2 ont montré une amélioration, 4 semaines après le traitement, 5 sont restés stables et 2 ont vu les lymphomes continuer à progresser.

Parmi les 17 patients inclus dans cet essai, 14 souffraient de lymphome folliculaire, parmi cette sous-catégorie, la moitié (7 patients) a montré une réponse objective. Parmi les 3 patients suivants, souffrant d'autres types de lymphomes, 2, ayant un taux de cellules B circulant élevé, n'ont pas atteint de réponse objective.

Tableau 3. Résultats de l'étude clinique de phase I / II du veltuzumab dans le traitement des lymphomes non Hodgkiniens

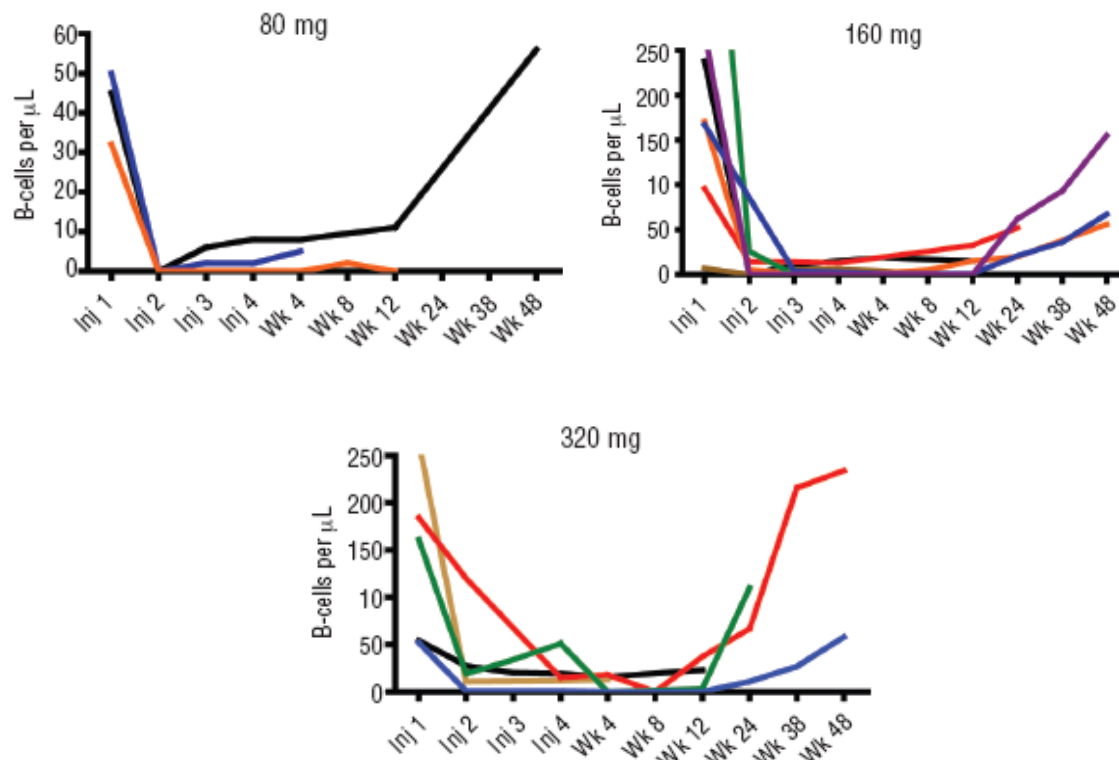
Table 2. Treatment responses.

		OR (PR + CR + CRu)	CRu/CR
All patients (n=17)		47% (8/17)	24% (4/17)
Dose level:	80 mg (n=3)	67% (2/3)	33% (1/3)
	160 mg (n=9)	44% (4/9)	33% (3/9)
	320 mg (n=5)	40% (2/5)	0% (0/5)
Prior treatment:	Yes (n=12)	50% (6/12)	25% (3/12)
	No (n=5)	40% (2/5)	20% (1/5)
Prior rituximab:	Yes (n=7)	43% (3/7)	14% (1/7)
	No (n=10)	50% (5/10)	30% (3/10)
Bulky disease > 5 cm:	Yes (n=2)	0% (0/2)	0% (0/2)
	No (n=15)	53% (8/15)	27% (4/15)
Follicular lymphoma (n=14)		50% (7/14)	21% (3/14)
FLIPI: 0-2 (n=9)		56% (5/9)	33% (3/9)
	3-5 (n=5)	40% (2/5)	0% (0/5)
Non-follicular lymphoma (n=3)*		33% (1/3)	33% (1/3)
Small lymphocytic lymphoma (n=2)		50% (1/2)	50% (1/2)
Marginal zone lymphoma† (n=1)		0% (0/1)	0% (0/1)

Note: Best objective response based on International Working Group criteria.³⁰ *One CR (all 3 treated at 160 mg). †Baseline B-cell level of 36,820 cells/ μ L. OR: objective response; CR: complete response; CRu: complete response unconfirmed; PR: partial response; FLIPI: Follicular Lymphoma International Prognostic Index.

Au cours de cette étude, le niveau de déplétion des cellules B au cours de la durée du traitement a également été étudié chez 15 patients (les 14 souffrant de lymphome folliculaire et le patient souffrant de lymphome en zone périphérique). Chez tous ces patients, une déplétion du nombre de lymphocytes B dès la première injection a été observée quel que soit le dosage. Le taux de lymphocytes B retrouvant ensuite son niveau d'origine au bout de 9 à 12 mois.

Figure 19. Suivi du taux de lymphocytes B après injection de veltuzumab à trois différents dosages (chaque courbe représentant un patient)



Au vue de ces résultats, le veltuzumab se présente comme un traitement prometteur, car il montre une efficacité dans le traitement des lymphomes non Hodgkiniens dès la première administration et à faible dose, permettant son injection par voie sous-cutanée. Le veltuzumab serait, selon les études précliniques, au moins aussi efficace que le rituximab et aux vues de sa structure, il aurait un mécanisme d'action similaire (cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps et cytotoxicité dépendante du complément élevées). Plusieurs autres études cliniques sont actuellement menées par le laboratoire Immunomedics ou par Nycomed, via un accord de licences, dans différentes pathologies ciblant les lymphocytes B en intraveineux ou sous-cutané, seul ou en association, avec pour objectif d'obtenir des autorisations de mise sur le marché dans le cadre de pathologies similaires à celles pour lesquelles le rituximab est efficace.

²⁹(Negrea G., 2010)

Le second anticorps monoclonal humanisé de seconde génération est l'ocrelizumab, développé par les laboratoires Roche et Biogen. L'ocrelizumab a été créé grâce à la méthode CDR grafting, mais contrairement au veltuzumab, il diffère du rituximab également par la structure de son fragment Fc. Cette différence en termes d'acides aminés lui confère une plus forte activité en termes de cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps et une activité plus faible en termes de cytotoxicité dépendante du complément. En effet, l'ocrelizumab a une affinité augmentée avec le récepteur FcγRIIIa des cellules NK via son fragment Fc, lui conférant ainsi une plus forte cytotoxicité.

L'ocrelizumab diffère également du rituximab au niveau de son fragment Fab, il se lie ainsi à un antigène différent sur le domaine extracellulaire des CD20.

Une première étude clinique de phase I / II a été menée afin de déterminer la sécurité, l'efficacité ainsi que les données pharmacocinétiques et dynamiques dans le cadre d'un traitement par l'ocrelizumab des lymphomes folliculaires réfractaires à une thérapie à base de rituximab. 47 patients furent inclus dans cette étude et recevaient une injection intraveineuse d'ocrelizumab à une concentration de 200, 375 ou 750 mg/m² toutes les 3 semaines. Les patients pouvant recevoir jusqu'à 8 injections.

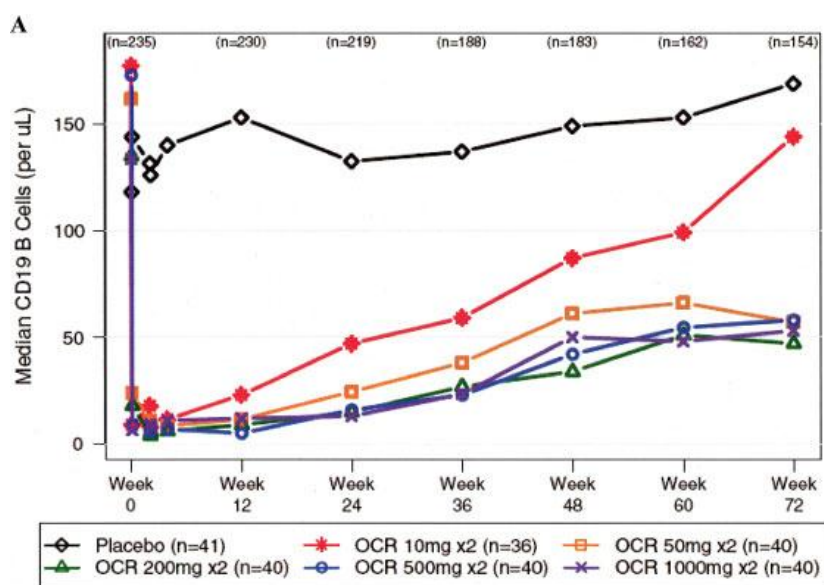
Les résultats de tolérance de cette étude ont démontré que l'ocrelizumab était bien toléré, avec des effets indésirables de grade 3-4 n'apparaissant que chez 9% des patients traités.

En termes d'efficacité, l'ocrelizumab a démontré une réponse objective chez 38% des patients, incluant une réponse complète chez 13% des patients. La survie sans progression médiane s'élevait quant à elle à 11,4 mois.

²⁶(Robak T., 2011)

L'ocrelizumab a également été testé chez des patients souffrant de polyarthrite rhumatoïde avec une injection tous les 15 jours pour un total de 5 injections avec des doses de 10 à 1000 mg. Les résultats ont montré, ici, une diminution du nombre de lymphocytes B immédiate après injection puis à long terme plutôt qu'à moyen terme, suggérant que l'ocrelizumab agissait également sur les lymphocytes B présents dans les tissus. La dose de 200mg a montré la plus forte réponse clinique et l'immunogénicité la plus faible. En effet, des anticorps humains anti-ocrelizumab se sont développés dans 19% et 10% des patients recevant des doses de 10 et 50 mg, représentant un taux élevé d'HABA. Bien que le lien entre le développement d'HABA et la faible efficacité à ces doses n'ait pas été mis en évidence, la formation de ces anticorps représentait le problème le plus important.

Figure 20. Analyse du nombre de cellules B au cours d'un traitement par ocrelizumab à différents dosages



³⁰(Genovese M., 2008)

L'ocrelizumab est ensuite entré en étude de phase III pour le traitement de la polyarthrite rhumatoïde et des lymphomes folliculaires. Cependant, Roche a été contraint de stopper ces études en mai 2010, compte tenu du fait que le ratio bénéfices / risques n'était plus favorable et tenant compte des molécules déjà disponibles sur le marché. L'analyse de la cause de ce manque d'efficacité ou de ce risque trop important n'a pas été publiée.

³¹(Roche communiqué de presse, 2010)

Roche espère tout de même aujourd'hui tirer profit de l'ocrelizumab dans le traitement de la sclérose en plaques, seule pathologie pour laquelle cette molécule est encore étudiée. Les résultats d'une étude de phase II ont d'ailleurs été publiés en octobre 2011 et ont montré que l'activité pathologique était significativement réduite pendant près de deux ans en cas de traitement par l'ocrelizumab. Cette étude de phase II, randomisée, multicentrique, contrôlée contre placebo et menée chez 220 patients atteints de sclérose en plaques récurrente – rémittente (RRMS) a, en effet, démontré une diminution du nombre total de lésions cérébrales actives et des poussées sur une période préalable de 24 semaines puis de 96 semaines.

Les effets indésirables sévères relevés à 24 et 96 semaines ont été relevés avec une faible incidence et étaient de types syndromes inflammatoires systémiques ou hypersensibilités.

³²(Roche communiqué de presse, 2011)

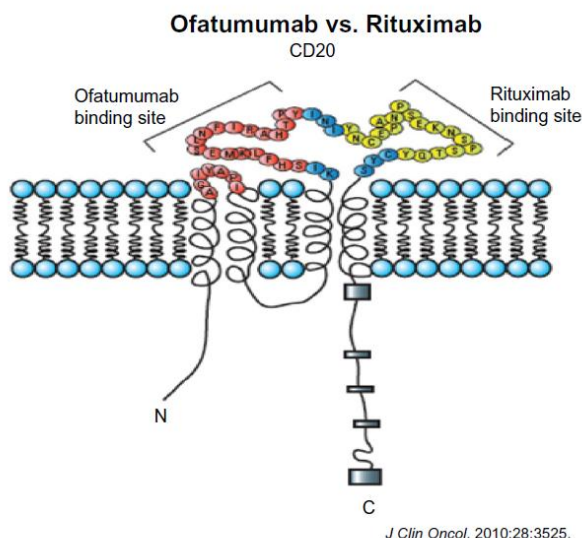
3. L'ofatumumab: un anticorps de seconde génération totalement humain

L'ofatumumab est le premier anticorps monoclonal de seconde génération à être entré sur le marché dans l'indication du traitement des leucémies lymphoïdes chroniques réfractaires à la fludarabine et à l'alemtuzumab. L'ofatumumab a obtenu son autorisation de mise sur le marché en octobre 2009 aux Etats-Unis et en 2010 en Europe et est aujourd'hui commercialisé sous le nom d'Arzerra® par le laboratoire GSK.

Par rapport aux deux premiers anticorps cités ci-dessus, l'ofatumumab présente la caractéristique d'être entièrement humain, réduisant théoriquement encore un peu plus le risque d'immunogénicité.

De plus, l'ofatumumab ne se lie pas au même site que le rituximab au niveau des CD20, permettant ainsi d'améliorer l'efficacité contre les lymphocytes B résistants à celui-ci. De plus, cette liaison à un épitope différent serait également responsable d'une amélioration de la cytotoxicité dépendante du complément. En effet, le site de liaison, plus proche de la membrane comparativement à celui du rituximab, conférerait cette cytotoxicité plus élevée.

Figure 21. Schéma représentatif des sites de liaison du rituximab et de l'ofatumumab



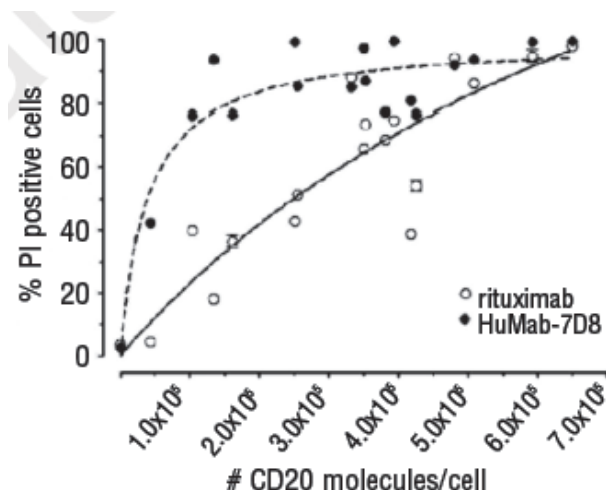
La cytotoxicité dépendante du complément dans le cadre d'un traitement au rituximab varie grandement en fonction de l'expression des CD20, présentes sur les lymphocytes B. Des études ont de ce fait démontré qu'en cas de non réponse au rituximab, dans le cadre d'un traitement des leucémies lymphoïdes chroniques, le nombre de CD20 était faible dans les cellules B malignes ciblées. De plus, par rapport aux autres lymphomes on compte 300 à 600 fois moins de CD20 à la surface des cellules B d'une leucémie lymphoïde chronique.

Afin de comparer l'efficacité, *in vitro* et *in vivo*, de l'ofatumumab avec celle du rituximab sur des cellules B malignes, un modèle a été développé afin d'obtenir des cellules B malignes avec un niveau d'expression variable de CD20. Ce niveau d'expression des CD20 est dans ce modèle la seule variable.

Trois tests majeurs *in vitro* ont démontré une plus grande cytotoxicité dépendante du complément avec l'ofatumumab lorsque le niveau d'expression des CD20 diminue:

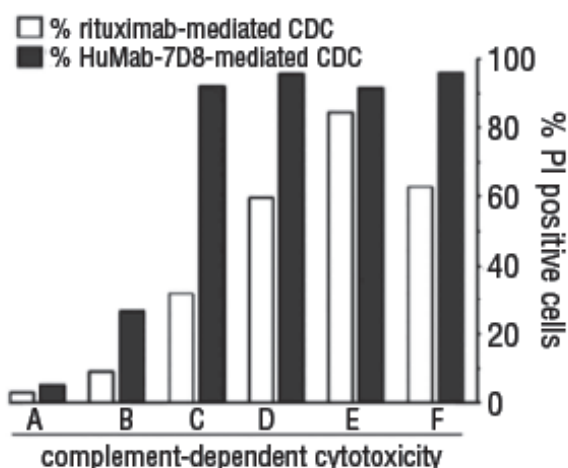
- Le premier test s'effectue sur des cellules B saturées en CD20. Les résultats montrent ici que les deux anticorps étudiés se lient avec une spécificité similaire élevée.
- Le deuxième test met en évidence l'influence du niveau d'expression des CD20 dans le cadre de la cytotoxicité dépendante du complément. Un nombre fixe de CD20 par cellules B a donc été déterminé (135000) afin d'être similaire à celui des cellules B d'une leucémie lymphoïde chronique. Les résultats ont montré ici que le rituximab nécessitait 5 à 6 fois plus de CD20 par rapport à l'ofatumumab afin d'entraîner une lyse cellulaire.

Figure 22. Mise en évidence in vitro du nombre de CD20 nécessaire pour activer la cytotoxicité dépendante du complément suite à un traitement à base de rituximab ou d'ofatumumab



- Enfin, un dernier test établi sur des cellules B exprimant un niveau faible de CD20 a mis en évidence que l'ofatumumab était plus efficace que le rituximab en termes de cytotoxicité dépendante du complément.

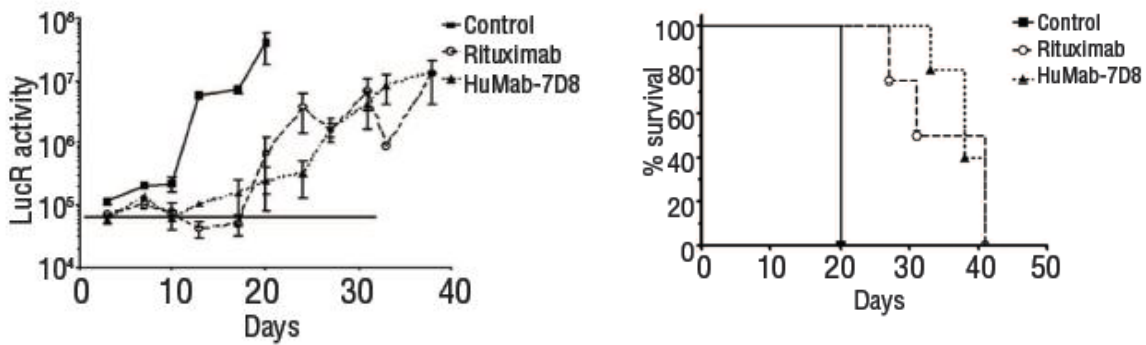
Figure 23. Mise en évidence in vitro de l'activité de l'ofatumumab comparativement à celle du rituximab sur des cellules B exprimant un niveau faible de CD20



In vivo cette fois, un modèle établi à partir de souris, pour lesquelles des cellules malignes exprimant un niveau variable de CD20 et un traceur à base de luciférase ont été injectés, a permis de comparer l'efficacité de l'ofatumumab à celle du rituximab.

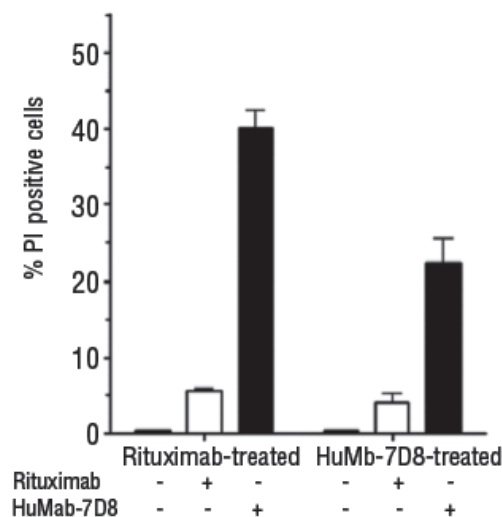
- Un premier test a été effectué afin de comparer l'efficacité des deux traitements par rapport à un contrôle en termes de niveau de CD20 (marquées à l'aide de transférase) et de survie globale. Les résultats ont démontré que les deux traitements diminuent bien le nombre de cellules marquées et améliorent la survie globale par rapport au placebo.

Figure 24. Mise en évidence in vivo de l'activité de l'ofatumumab comparativement au rituximab – mesure de la survie globale



- Le second test met en évidence l'efficacité de l'ofatumumab sur les cellules résistantes au rituximab. Ce test, mettant à nouveau en jeu des souris avec des CD20 marquées, s'établit en traitant une première fois ces souris avec le rituximab ou l'ofatumumab. Les deux traitements montrent une efficacité par rapport au placebo, pour lequel aucune cytotoxicité dépendante du complément n'a été mise en évidence. Les cellules résistantes aux deux traitements sont ensuite prélevées et mises en culture pendant 14 jours puis injectées pour tester la cytotoxicité dépendante du complément. Les résultats démontrent ici qu'en présence de rituximab, une lyse des cellules résistantes au rituximab n'apparaît que dans 5% des cas contre 40% dans le cadre d'un traitement à base d'ofatumumab. Pour les cellules résistantes à l'ofatumumab, une lyse de ces cellules apparaît dans 25% des cas après nouveau traitement par l'ofatumumab contre moins de 3% après rituximab.

Figure 25. Mise en évidence in vivo de l'activité de l'ofatumumab et du rituximab sur des cellules soit résistantes au rituximab soit à l'ofatumumab



³³(Van Meerten T., 2010)

Ces tests in-vitro et in-vivo démontrent bien l'efficacité de l'ofatumumab par rapport au rituximab en cas de faible expression des CD20. Par conséquent, l'ofatumumab pourrait

présenter une efficacité importante en cas de leucémie lymphoïde chronique, pathologie pour laquelle le niveau de CD20 est plus faible comparativement aux autres lymphomes. De plus, l'ofatumumab, présentant une immunogénicité plus faible compte tenu de sa structure entièrement humaine, pourrait également être efficace en cas de résistance au rituximab suite au développement d'anticorps humains anti anticorps chimériques.

Compte tenu de ces résultats prometteurs lors des études précliniques comparativement au rituximab, des essais cliniques de phases I et II ont été menés en vue de l'obtention de l'autorisation de mise sur le marché pour le traitement des leucémies lymphoïdes chroniques.

Une étude de phase I/II avec escalade de doses (Hx-CD20-402) et une étude de phase II non comparative (Hx-CD20-406) ont permis à l'ofatumumab (Arzerra®) d'obtenir une AMM conditionnelle par procédure centralisée en avril 2010. Cette AMM conditionnelle signifie que des preuves supplémentaires sont attendues pour ce produit et que toute nouvelle information sera donc réévaluée.

L'étude de phase II non comparative avait pour objectif principal d'évaluer l'efficacité de l'ofatumumab chez des patients atteints de leucémie lymphoïde chronique en échec ou intolérants à la fludarabine (après un minimum de 2 cycles) et à l'alemtuzumab (après un minimum de 12 administrations). Les 154 patients inclus dans cet essai recevaient, après une prémédication, 12 perfusions IV d'ofatumumab: une perfusion hebdomadaire pendant 8 semaines (300mg pour la première et 2000mg pour les suivantes) puis une perfusion mensuelle de 2000mg pendant 4 mois. Ces 154 patients étaient répartis en 3 sous-groupes: les patients réfractaires au traitement par fludarabine et alemtuzumab (n=59, population de l'AMM), les patients réfractaires à la fludarabine et intolérants à un traitement par alemtuzumab en raison d'une lymphadénopathie volumineuse (n=79) et les patients intolérants à un traitement par fludarabine et/ou alemtuzumab (n=16). 57% des patients inclus dans cet essai avaient par ailleurs reçu un traitement préalable par rituximab. Le critère principal d'efficacité était ici le pourcentage de réponse globale (réponse complète et partielle) sur une période de 24 semaines. De plus, la survie sans progression, la survie globale, la durée de la réponse ainsi que le délai de recours à une alternative thérapeutique étaient évalués parmi les critères secondaires.

Les résultats se sont montrés satisfaisants puisque, entre autre, le pourcentage de survie globale s'élevait à 52% dans l'ensemble de la population étudiée. Quant au sous-groupe de patients réfractaires à la fludarabine et à l'alemtuzumab, le pourcentage de réponse globale s'élevait ici à 58%.

Tableau 4. Résultats de l'étude clinique de phase II de l'ofatumumab dans la leucémie lymphoïde chronique en fonction du type de patients

	Population totale	Patients réfractaires au traitement par fludarabine et alemtuzumab, (correspondant à la population de l'AMM)	Patients réfractaires à la fludarabine et inéligibles/intolérants à un traitement par alemtuzumab en raison d'une lymphadénopathie volumineuse	« autres » patients
	N=154	n=59	n=79	N=16
Pourcentage de réponse globale (critère principal) [IC _{95%}]	52% (80/154) [41-62]	58% (34/59) [40-74]	47% (37/79) [32-62]	56% (9/16) [24-85x]
Pourcentage de : - réponse complète - réponse partielle - réponse stable - progression - réponse non évaluable	1% (1/154) 52% (79/154) 36% (55/154) 7% (11/154) 5% (8/154)	0 58% (34/59) 31% (18/59) 3% (2/59) 8% (5/59)	1% (1/79) 46% (36/79) 41% (32/79) 10% (8/79) 3% (2/79)	0 56% (9/16) 31% (5/16) 6% (1/16) 6% (1/16)
Médiane de survie sans progression [IC _{95%}]	6 mois [5,5-7,1]	5,7 mois [4,5-8]	5,9 mois [4,9-6,4]	8,9 mois [3,5-11,8]
Médiane de survie globale [IC _{95%}]	17,1 mois [11,1-20,2]	13,7 mois [9,4-non estimable]	15,4 mois [10,2-20,2]	non estimable

L'analyse de l'efficacité de l'ofatumumab chez les patients traités auparavant par rituximab n'a pas donné de résultats exploitables.

En termes de tolérance, des arrêts de traitement pour cause d'effets indésirables ont été rapportés chez 14% des patients. Des effets indésirables graves ont été rapportés chez 53% des patients parmi lesquels des infections bactériennes, virales et fongiques ont été les plus fréquentes. 26% des patients ont eu une infection nécessitant une hospitalisation et une antibiothérapie. Des toxicités hématologiques (12% des patients) et des troubles généraux (10% des patients) ont aussi été relevés.

Compte tenu du fait que ces résultats soient issus d'une étude de phase II non comparative, les données d'efficacité et de tolérance restent limitées. La réponse globale est relativement importante dans le groupe étudié en vue de l'obtention de l'AMM mais aucune réponse complète n'a été relevée. La fréquence des effets indésirables graves est par ailleurs assez importante puisque 20% de ces patients (population de l'AMM) ont dû arrêter le traitement à cause de problèmes de tolérance.

Suite à la présentation de ces premiers résultats, l'Arzerra® a obtenu une ASMR V (pas d'amélioration du service médical rendu) provisoire dans le cadre d'un traitement des leucémies lymphoïdes chroniques chez des patients réfractaires à la fludarabine et à l'alemtuzumab, en attente de résultats complémentaires.

³⁴(Avis de la Commission de Transparence HAS, 2010)

Grâce à cette première indication, l'ofatumumab se présente comme le premier anticorps monoclonal anti-CD20 entièrement humain à recevoir une indication dans une pathologie ciblant les lymphomes B. Il est, aujourd'hui, également étudié dans une étude de phase III afin d'être administré en 1^{ère} ligne des traitements des leucémies lymphoïdes chroniques (incluant les résultats complémentaires demandés par l'EMA lors de l'obtention de la 1^{ère} AMM), dans une autre étude de phase III pour le traitement des lymphomes folliculaires, et

enfin deux études de phase II pour les traitements des scléroses en plaque et des polyarthrites rhumatoïdes.

En cas de résultats satisfaisants, l'ofatumumab pourrait donc se présenter comme une alternative de choix au traitement par rituximab.

II. Glycosyler les anticorps monoclonaux pour améliorer leur efficacité

La partie précédente a mis en évidence les techniques d'humanisation des anticorps monoclonaux et donc l'intérêt de modifier le fragment variable d'un anticorps afin de diminuer l'immunogénicité et ainsi limiter les effets indésirables et améliorer l'efficacité.

Cette seconde partie présente cette fois une technique de modification des fragments Fc de ces anticorps humanisés. En effet, il a été démontré le rôle essentiel de l'oligosaccharide lié au domaine constant CH₂ dans l'activité d'un anticorps naturel humain, dans le cadre d'une polyarthrite rhumatoïde par exemple.

En partant de cette hypothèse, des techniques de glycosylation des anticorps monoclonaux anti-CD20 ont été mises en place afin d'améliorer l'efficacité des traitements comparativement au rituximab et essentiellement en présence de polymorphismes et de résistances.

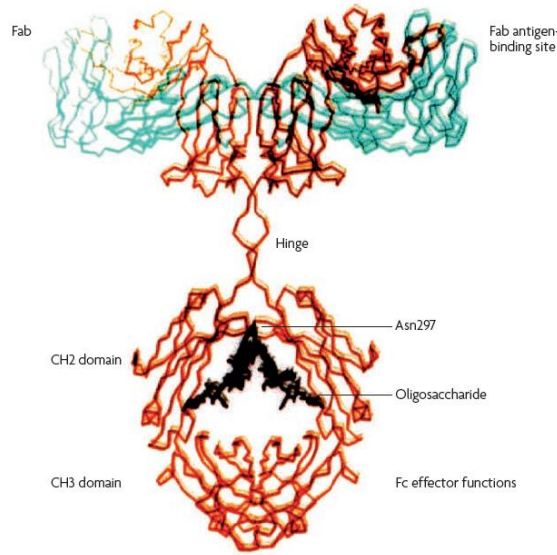
Plusieurs anticorps monoclonaux anti-CD20 « glycoengineerés », soit modifiés par glycosylation, ont déjà montré une certaine efficacité et sont actuellement en essais cliniques. Parmi ceux-ci se présentent le GA101 du laboratoire Roche actuellement en phase III pour les traitements des lymphomes non Hodgkiniens et leucémies lymphoïdes chroniques et le LFB-R603 du laboratoire français LFB actuellement en phase I / II pour le traitement des leucémies lymphoïdes chroniques.

1. Glycosylation naturelle des anticorps IgGs humains

Les IgGs humaines possèdent un site de glycosylation au niveau des chaînes lourdes du domaine constant (CH₂), et plus précisément au niveau de l'asparagine en position 297 (Asn297). Le sucre se liant à ce site joue un rôle important dans l'efficacité de l'anticorps via les fonctions du fragment Fc, c'est-à-dire, principalement la cytotoxicité dépendante du complément (CDC) et la cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (ADCC).

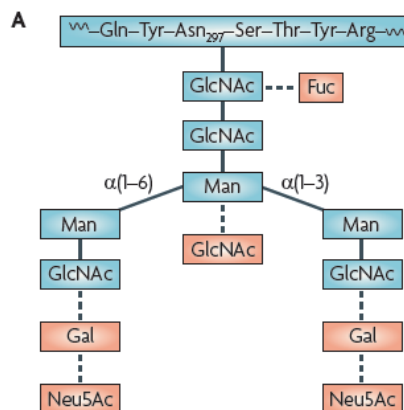
En effet, il a été démontré que les interactions du fragment Fc avec ses récepteurs FcγRI, FcγRII et FcγRIII et avec le complément C1q (Cf. A. IV. 2) sont hautement dépendantes de l'oligosaccharide lié à l'anticorps.

Figure 26. Structure d'une immunoglobuline G avec l'oligosaccharide lié à l'asparagine 297



Les oligosaccharides présents sur une IgG normale humaine sont des complexes à deux antennes et sont composés d'un corps de type heptasaccharidique avec addition variable de fucose, galactose, N-acétylglucosamine et acide sialique. La présence d'acide sialique étant tout de même rare puisqu'elle représente moins de 10% des structures.

Figure 27. Structure de base de l'heptasaccharide lié à l'asparagine 297



La structure du glycoforme des IgGs varie principalement en fonction de l'âge et de certaines pathologies inflammatoires. Par exemple, des IgGs avec du galactose sont plus fréquemment rencontrées chez un patient de 50 ans que chez un patient de 20 ans et une augmentation des oligosaccharides sans galactose mais avec fucose a été observée chez les patients souffrant de polyarthrite rhumatoïde.

Dans le cas d'une polyarthrite rhumatoïde, il a été démontré que l'absence de galactose est due à une modification lors de la synthèse de l'IgG et non à cause d'une suppression plus tardive dans le sang. Une augmentation du nombre de cytokines de type IL-6, qui agissent également dans la croissance des cellules B pourrait induire ces modifications. Au niveau de l'efficacité, la présence ou non de galactose influence principalement la liaison au récepteur FcγRIIIa plutôt que celle aux récepteurs FcγRIIa et FcγRIIb.

³⁵(Jefferis R., 2009) ³⁶(Abes R., 2010)

2. Modifier la glycosylation des anticorps monoclonaux anti-CD20 afin d'optimiser leur efficacité

La modification du domaine Fc des anticorps monoclonaux pour améliorer leur efficacité, essentiellement en améliorant la cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps, est devenue une technique de plus en plus explorée suite à plusieurs publications décrivant le rôle du récepteur FcγRIIIa présent en grande partie à la surface des cellules NK.

En effet, les études montrant que le polymorphisme de ce récepteur avait un impact important sur la réponse ou non au traitement par rituximab (Cf. A. IV. 2. d) et l'importance de l'activation de ce récepteur afin d'obtenir un contrôle de la progression de la tumeur et une augmentation de la survie lors d'essais sur un modèle murin, ont orienté les recherches vers la capacité d'un anticorps monoclonal a augmenté sa liaison à ce récepteur.

De plus, comme la glycosylation naturelle des anticorps humains est un paramètre déterminant pour son efficacité, les stratégies pour induire une glycosylation voulue et ainsi fixer l'oligosaccharide qui provoquerait la plus grande efficacité ont été explorées.

La technique la plus fréquemment rencontrée pour fixer un oligosaccharide particulier utilise des lignes cellulaires de type CHO, NS0 et Sp2/0.

Cependant, cette technique présente, à l'origine, quelques limites puisque, comme le montre l'analyse par chromatographie liquide haute performance, parmi les 8 types de glycoformes formés, les domaines Fc des IgGs sont principalement fucosylés et non galactosylés comme le sont les IgGs normales. En effet, sur cette CHLP, les oligosaccharides avec du fucose sont relativement bien présents sur le domaine Fc des IgGs produites par CHO (pic élevé pour l'oligosaccharide e) alors que ceux comportant du galactose sont bien moins représentés (pics faibles ou inexistant pour les oligosaccharides b, c, d, f, g et h). Or, des études³⁷(*Umana, P., 1999*) ont montré que les IgGs humaines avec du N-acétylglucosamine et/ou avec peu de fucose avaient une plus grande capacité de liaison au récepteur FcγRIIIa et donc de cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps.

Figure 28. Structure des huit complexes oligosaccharidiques potentiellement formés par les lignées cellulaires de type CHO, NS0 et Sp2/0

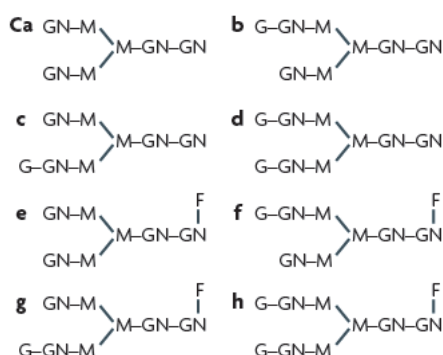
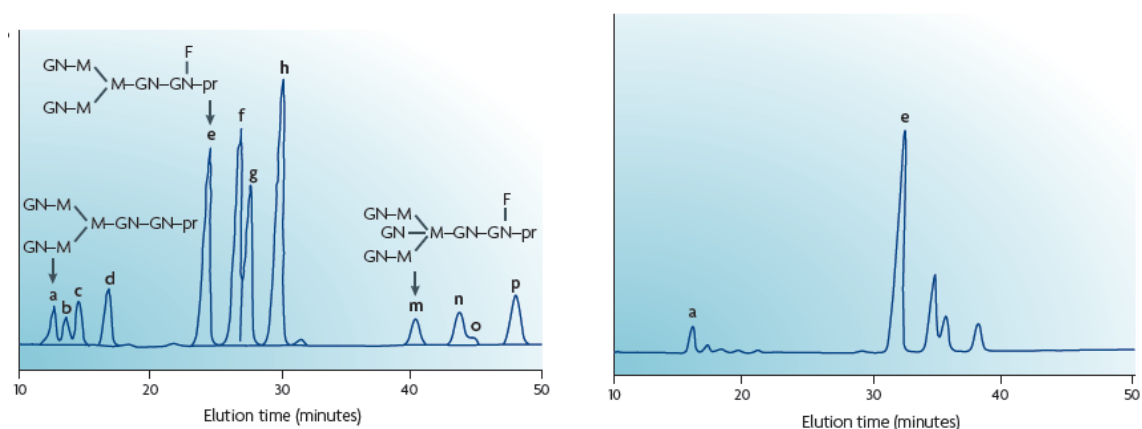


Figure 29. Analyse par CLHP de la structure des oligosaccharides des fragments Fc des IgGs humaines (gauche) et des IgGs produites par CHO (droite)



Les études du mécanisme d'action du rituximab et plus précisément des méthodes par lesquelles il permet le recrutement de cellules NK (cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps) ont d'une part mis en évidence le rôle prépondérant de la liaison au récepteur FcγRIIIa et d'autre part l'importance de l'absence de fucose sur le domaine Fc.

Comme vu précédemment, environ 90% des IgGs produites par lignées cellulaires de types CHO, NS0 ou Sp2/0 comportent du fucose sur le fragment Fc. Ces lignées cellulaires et plus précisément celles de type CHO ont donc dû être modifiées afin de produire des fragments Fc non fucosylés.

Des études préalables ont montré les différences de capacité de l'alemtuzumab (Campath), un anticorps monoclonal chimérique anti-CD52 à déclencher une cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps selon qu'il ait été produit par des lignées de types CHO, NS0 ou YB2/0. Ces études ont montré que la cytotoxicité dépendante des anticorps était augmentée lorsque l'alemtuzumab avait été créé par des cellules de type YB2/0. Or la seule différence entre cette lignée et les autres est qu'elle permet la production de fragment Fc avec un complexe oligosaccharidique comportant des résidus N-acétylglucosamine.

Grâce à ces observations, deux groupes d'études ont tenté de modifier les lignées de type CHO afin qu'elles expriment l'enzyme GnTII, permettant ainsi l'addition de N-acétylglucosamine sur les fragments Fc d'anticorps monoclonaux anti-CD20.

L'intérêt de lier du N-acétylglucosamine à un stade précoce lors de la fabrication de la glycoprotéine dans l'appareil de Golgi de la lignée CHO permet en réalité de bloquer la α(1-6) fucosyl transférase et donc d'empêcher l'addition de fucose et ainsi augmenter la liaison de l'anticorps au récepteur FcγRIIIa, améliorant la cytotoxicité dépendante des anticorps.

Les anticorps anti-CD20 ainsi produits ont une potentielle efficacité supérieure à celle du rituximab grâce à une meilleure cytotoxicité. Cependant, ce type de manipulation nécessite certaines précautions car une trop forte cytotoxicité augmenterait la destruction des cellules dès la première dose, engendrant ainsi une forte libération de cytokines et donc d'importants effets secondaires.

³³(Jefferis R., 2009)

3. Les anticorps monoclonaux anti-CD20 de troisième génération

a. GA101 (obinutuzumab): le premier anticorps monoclonal anti-CD20 de troisième génération en phase III

Le GA101 est un anticorps monoclonal de troisième génération appartenant au laboratoire Roche, suite à l'acquisition de la biotechnologie suisse GlycArt Biotechnology en juillet 2005. Roche a ainsi pu profiter du savoir-faire de cette biotechnologie en termes d'anticorps thérapeutiques et plus spécifiquement en termes de glycosylation de ceux-ci.

Le GA101 possède une structure similaire à celle d'un anticorps monoclonal de type humanisé, obtenu par CDR – grafting mais possède la particularité d'avoir été modifié par glycosylation ou « glycoengineered », comme vu précédemment, afin d'obtenir un fragment Fc non fucosylé, améliorant ainsi sa liaison aux récepteurs FcγRIIIa des cellules effectrices telles que les cellules NK et donc potentiellement son efficacité.

Des études précliniques ont été publiées et permettent d'analyser l'efficacité du GA101 et surtout de la comparer avec celle du rituximab dans un modèle murin avec des lymphomes folliculaires humains.

Les souris utilisées se voyaient donc injecter 10^6 lymphomes humains par voie sous-cutanée au jour 1, puis elles étaient réparties en groupe de dix une fois la tumeur palpable afin d'être traitée.

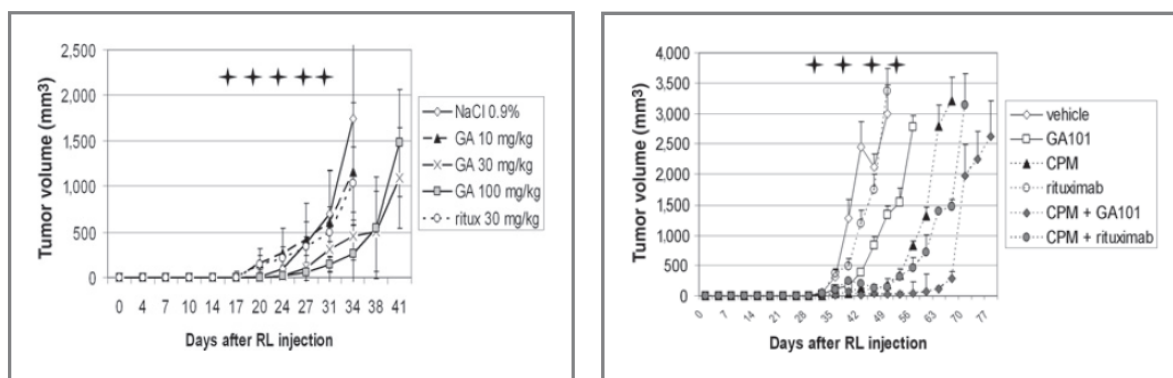
Dans une première série d'essais, le rituximab et le GA101 étaient utilisés en monothérapie à différents dosages, deux fois par semaine pour un total de 5 injections. Selon le groupe dans lequel elles étaient placées de manière randomisée, les souris pouvaient recevoir du NaCl 0.9% (contrôle), le rituximab (30mg/kg) ou le GA101 (10, 30 ou 100 mg/kg) par voie intraveineuse.

Dans une seconde série d'essais, le rituximab et le GA101 étaient également testés en association avec le cyclophosphamide: sept groupes de dix souris ont été mis en place recevant une injection par semaine pendant 4 semaines avec du NaCl 0.9% (contrôle), GA101 (30mg/kg), rituximab (30mg/kg), cyclophosphamide (50 mg/kg), rituximab + cyclophosphamide (50 mg/kg) ou GA101 + cyclophosphamide (50 mg/kg)

- Les résultats de la première série d'essais ont tout d'abord montré que l'effet du GA101 était dose dépendant. En effet, l'inhibition de la croissance de la tumeur, calculée en utilisant un ratio appelé TGI (Total Growth Inhibition), est la plus élevée dans le groupe recevant 100mg/kg de GA101 (85% contre respectivement 25% et 75% pour 10 et 30mg/kg). De plus, cette inhibition est significativement supérieure à celle du rituximab (TGI = 43%). Une rémission totale a d'ailleurs été observée dans 30% des cas dans le groupe traité par 100mg/kg de GA101 alors qu'aucune n'a été observée dans le groupe rituximab. Dans le cadre de cette série d'essais, la tolérance au GA101 s'est avérée très bonne avec aucune modification du poids observée chez les souris traitées.

- Les résultats de la seconde série d'essais ont confirmé les résultats de la première série avec une meilleure efficacité dans les groupes traités par GA101 comparativement au rituximab. L'inhibition de la croissance de la tumeur est ici significativement plus élevée dans le groupe GA101 – cyclophosphamide par rapport au groupe rituximab – cyclophosphamide mais aussi plus élevée qu'en cas d'utilisation du GA101 seul. Là encore, aucun problème de tolérance n'a été relevé dans les groupes traités par GA101.

Figure 30. Comparaison de l'efficacité du GA101 et du rituximab seul ou en association



Ces essais précliniques montrent la supériorité du GA101 en termes d'efficacité par rapport au rituximab dans un modèle in vivo murin intégrant des lymphomes non Hodgkiniens humains aussi bien seul qu'en association. De plus, la tolérance à un traitement par le GA101 s'est montrée très bonne.

³⁸(Dalle S., 2011)

S'appuyant sur ces résultats encourageants, le laboratoire Roche a mis en place plusieurs essais cliniques de phase I puis II dans le cadre du traitement des lymphomes non Hodgkiniens, dont une étude de phase II comparant l'efficacité du GA101 à celle du rituximab.

Les résultats de deux études, l'une de phase II comparant le GA101 au rituximab et l'autre de phase Ib cherchant à prouver l'efficacité du GA101 en association à une chimiothérapie, ont été présentés en décembre 2011.

L'étude comparative de type II, appelée GAUSS, incluait 175 patients souffrant de lymphomes non Hodgkiniens et recevant soit un traitement à base de GA101 ou à base de rituximab tous deux en monothérapie. L'objectif principal de cette étude était de démontrer une amélioration de la réponse objective dans le sous-groupe de 149 patients souffrant de lymphomes folliculaires.

Les résultats de cette étude montrent une amélioration de 12 points du taux de réponse objective pour le GA101 comparativement au rituximab (ORR = 45% pour le GA101 contre 33% pour le rituximab). D'autre part, la survie sans progression restait similaire quel que soit le traitement reçu. Enfin, en termes de tolérance, les profils sont similaires entre les deux traitements avec une légère augmentation de la proportion de patients avec des réactions à l'injection dans le groupe GA101, mais n'entraînant aucun arrêt de traitement.

L'étude de type Ib, appelée GAUDI, visait quant à elle à démontrer l'efficacité du GA101 en combinaison à une chimiothérapie dans le cadre d'un traitement des patients souffrant de

lymphome folliculaire réfractaire ou en rechute. Les résultats de cette étude ont montré que les taux de réponse s'élevaient respectivement à 93% et 96% chez les patients traités par GA101 en association avec une chimiothérapie de type FC (Fludarabine, Cyclophosphamide) et avec une chimiothérapie de type CHOP (Cyclophosphamide, Doxorubicine, Vincristine, Prednisone).

Grâce à ces nouveaux résultats prometteurs, le laboratoire Roche a mis en place deux grandes études de phase III comparant l'efficacité et la tolérance du GA101 en association avec une chimiothérapie avec le rituximab en association avec une chimiothérapie chez des patients souffrant de lymphomes non Hodgkiniens non traités au préalable (étude GALLIUM) et chez des patients souffrant de lymphomes diffus à cellules B (étude GOYA). Deux autres études de phase III doivent également être mises en place dans le cadre des traitements des leucémies lymphoïdes chroniques (étude CLL11) et des lymphomes non Hodgkiniens chez des patients ne répondant plus au rituximab (étude GADOLIN).

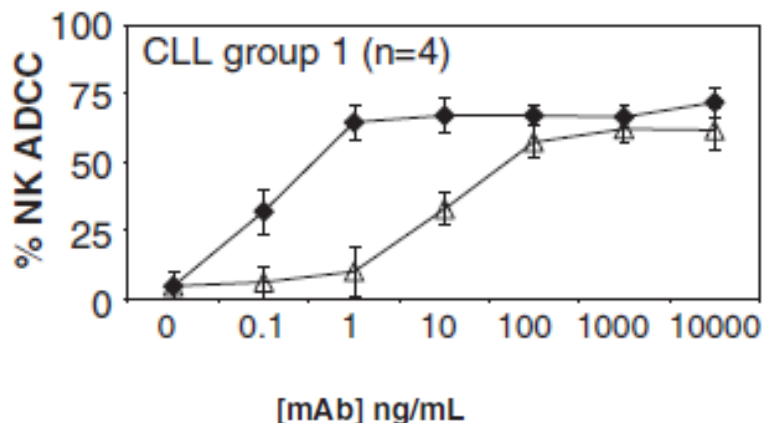
³⁹(Roche Investor update – 2011)

b. LFB-R603 (Ublituximab): un anticorps monoclonal anti-CD20 de troisième génération issu de la recherche française

Le LFB-R603 est un anticorps monoclonal anti-CD20, issus de la recherche du laboratoire de fractionnement biologique LFB et de la biotechnologie américaine GTC. Le LFB a acquis la totalité du LFB-R603 lors de l'acquisition de GTC en 2010. Cet anticorps est de type chimérique murin / humain avec un fragment Fc glycosylé, augmentant ainsi potentiellement sa liaison au récepteur des cellules NK de type FcγRIIIa.

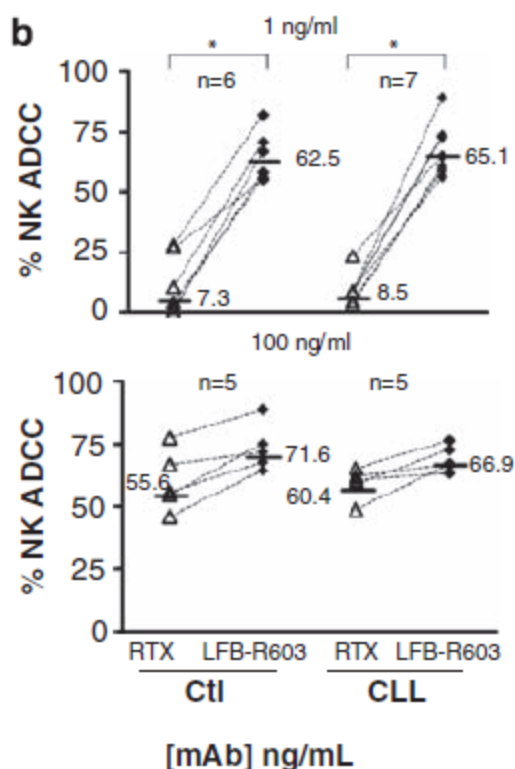
Des essais précliniques ont été menés afin de comparer l'efficacité du LFB-R603 par rapport au rituximab dans le cadre d'un potentiel traitement des leucémies lymphoïdes chroniques. En effet, des essais ont été effectués *in vitro* avec des cellules NK purifiées dirigées contre des cellules de type Raji, en présence de différentes concentrations de rituximab et de LFB-R603 afin de comparer la cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps de ces produits. Les résultats ont démontré que l'activité était dose-dépendante pour les deux produits, mais que la cytotoxicité maximale était atteinte dès 1ng/ml de LFB-R603 contre 100ng/ml de rituximab.

Figure 31. Comparaison de la cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps entre le LFB R603 et le rituximab en fonction de la concentration en produit



A cette concentration de 1ng/ml, la cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps médiane pour le LFB-R603 est de 65,1% pour les lignées cellulaires avec leucémie lymphoïde chronique. Cette cytotoxicité est significativement supérieure à celle obtenue avec le rituximab à cette même concentration de 1ng/ml (8,5%). Par comparaison, la cytotoxicité médiane est la même pour les deux produits à 100ng/ml.

Figure 32. Comparaison des cytotoxicités cellulaires dépendantes des anticorps médianes entre le LFB R603 et le rituximab à concentrations fixes (1ng/ml et 100ng/ml)



Ces résultats montrent la forte capacité, *in vitro*, du LFB-R603 à induire une cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps comparativement au rituximab. En s'appuyant sur ces résultats, le LFB a mis en place un essai de phase I/II afin d'évaluer l'efficacité et la tolérance du LFB-R603 dans le cadre du traitement des patients souffrant de leucémies lymphoïdes chroniques. Cet essai est actuellement en cours de recrutement des patients.

⁴⁰(Le Garff Tavernier M., 2011) ⁴¹(Site Clinicaltrial.gov, LFB R603 clinical studies)

Le LFB-R603 se présenterait, en cas de succès lors de ces futurs essais cliniques et comme le GA101, en tant qu'intéressante alternative thérapeutique au rituximab dans les pathologies dues à des troubles des lymphocytes B ou tout du moins, pourrait venir compléter la gamme de traitements en cas de résistance par exemple. Deux autres principaux anticorps anti-CD20 « glycoengineerés » ont été développées et ont démontré des résultats précliniques et cliniques de phase I / II satisfaisants comparativement au rituximab. Il s'agit du PRO131921 développé par Genentech en vue de potentiellement obtenir une première indication dans les traitements des lymphomes non Hodgkiniens ou des leucémies lymphoïdes chroniques et du AME-133v développé par Eli Lilly ciblant également les lymphomes non Hodgkiniens. Les projets de ces deux molécules semblent cependant aujourd'hui suspendus car aucun essai clinique n'est en cours ou en recrutement de patients pour ces deux anticorps.

En conclusion, les anticorps monoclonaux anti-CD20 de seconde et troisième générations ont montré, lors des essais cliniques effectués, des améliorations prometteuses du profil bénéfiques / risques, soit par diminution de l'immunogénicité, grâce à l'humanisation des anticorps, soit par amélioration de l'affinité pour le récepteur FcγRIIIa des cellules effectrices telles que les cellules NK, grâce aux techniques de « glycoengineering » du fragment Fc.

Les améliorations visent principalement à contourner les résistances au rituximab pouvant se produire à cause de polymorphismes au niveau des récepteur FcR ou en cas de faible concentration en CD20, ou encore à améliorer les conditions de traitement avec des injections par voie sous-cutanée plutôt qu'intraveineuse par exemple. Cependant, au-delà de cette grande efficacité dans les traitements des pathologies mettant en jeu les lymphomes B, les conditions de tolérance seront fortement suivies au cours des prochaines études de phase III, en particulier pour les anticorps « glycoengineerés ». En effet, une trop forte cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps pourrait entraîner une libération importante de cytokines et donc des effets indésirables importants.

Les enjeux restent particulièrement importants car en cas de succès et de réelles améliorations du rapport bénéfiques / risques vis-à-vis du rituximab, certains laboratoires pourraient jouer les premiers rôles dans le traitement des pathologies ciblées et Roche pourrait ainsi subir une concurrence accrue d'une part en provenance de potentiels biosimilaires du rituximab et d'autre part de concurrents offrant un traitement plus efficace en particulier en cas de résistances. Cependant, Roche espère tirer profit de son anticorps « glycoengineeré » prometteur GA101 et ainsi élargir sa gamme de traitement ciblant les lymphocytes B.

Tableau 5. Tableau récapitulatif des différents anticorps monoclonaux anti-CD20 de nouvelles générations

Mab	Laboratoire	Type d'anticorps	Activités	Indications ciblées	Développement
Rituximab Rituxan® / Mabthera®	Roche	Anti-CD20 chimérique	ADCC, CDC, Apoptose	NHL, LLC, PR	1ere indication reçue en 1997 aux USA
Ofatumumab Arzerra®	GSK	Anti-CD20 humain 2 ^{nde} gen	Haute CDC	LLC, NHL, PR, SC	LLC: indication reçue en 2009 aux USA NHL: Phase III PR, SC: Phase II
Veltuzumab	Immunomedics / Nycomed	Anti-CD20 humanisé 2 ^{nde} gen	Haute CDC	LLC, NHL PR	Phase II: résultats publiés Phase II
Ocrelizumab	Roche	Anti-CD20 humanisé 2 ^{nde} gen	Haute ADCC et Apoptose	PR, NHL, SC	PR, NHL: phase III arrêtée SC: phase II résultats publiés
GA101	Roche	Anti-CD20 humanisé "glycoengineeré" 3ème gen	Haute ADCC	NHL, LLC	Phase III
LFB – R603	LFB	Anti-CD20 chimérique "glycoengineeré" 3ème gen	Haute ADCC	LLC	Phase I / II
PRO 131921	Roche / Genentech	Anti-CD20 humanisé "glycoengineeré" 3ème gen	Haute ADCC	LLC - NHL	Non actif
AME – 133v	Eli Lilly	Anti-CD20 humanisé "glycoengineeré" 3ème gen	Haute ADCC	NHL	Non actif

ADCC: Cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps, CDC: Cytotoxicité dépendante du complément, NHL: lymphome non Hodgkinien, LLC: Leucémie lymphoïde chronique, SC: Sclérose en plaque, PR: Polyarthrite rhumatoïde

C. Les enjeux stratégiques liés aux anticorps anti-CD20 de nouvelles générations

Comme vu précédemment, de nombreux anticorps monoclonaux anti-CD20 de nouvelles générations sont actuellement en essais cliniques à des stades plus ou moins avancés, voire déjà disponibles comme l'ofatumumab (Arzerra®) du laboratoire GSK. Ces différents produits ont déjà montré des premiers résultats encourageants au niveau de leur efficacité vis-à-vis du rituximab. Les laboratoires concernés souhaitent donc tirer profit de l'expiration des principaux brevets du rituximab, à partir de 2015, pour faire entrer leurs biobetters.

Cette dernière partie étudie donc tout d'abord les différents enjeux pour Roche et les autres laboratoires développant des anticorps monoclonaux anti-CD20 de nouvelles générations d'un point de vue financier mais aussi marketing et complémentarité de portefeuille produits. Après avoir identifié et mesuré ces opportunités, les stratégies de protection et d'attaque, principalement basées sur les différents brevets, ainsi que les conflits pouvant naître entre partenaires seront expliqués, prouvant ainsi l'ampleur de la véritable « guerre » des CD20 en cours.

I. Les biobetters du rituximab représentent de grandes opportunités pour les laboratoires concernés

1. Le GA101: un remplaçant de choix pour le rituximab de Roche

a. Des principaux biosimilaires pourraient concurrencer le rituximab dès 2015

D'un point de vue général, les biosimilaires semblent se présenter comme la plus grande menace pour les laboratoires de biotechnologie dans les cinq années à venir. En effet, même s'ils seront sûrement moins nombreux que les génériques à réussir à pénétrer les marchés, les biosimilaires profiteront dès leurs arrivées, de l'augmentation de la pression établie par les gouvernements afin de diminuer les coûts de santé publique. Le New York Times établissait d'ailleurs déjà en 2009 que les top six biologics vendus aux Etats-Unis représentaient plus de 40% du budget médicaments de l'assurance santé publique des personnes âgées. En ces périodes de restrictions budgétaires, la place des biosimilaires se dessine facilement puisqu'ils proposeraient une alternative, prouvée par des études cliniques et à moindre coût, aux biologics.

Jusqu'à aujourd'hui, peu de biosimilaires sont disponibles; ils sont majoritairement présents dans le marché des érythropoïétines, des facteurs de croissances granulocytaires et des hormones de croissance. Cependant, dès 2015, de nombreux biologics, représentant un marché estimé en 2015 à 63 milliards de dollars, soit 40% du marché total des biologics, perdront leurs principaux brevets. D'ici 2020, ce chiffre devrait même atteindre 100 milliards de dollars soit approximativement la taille du marché des biologics en 2010.

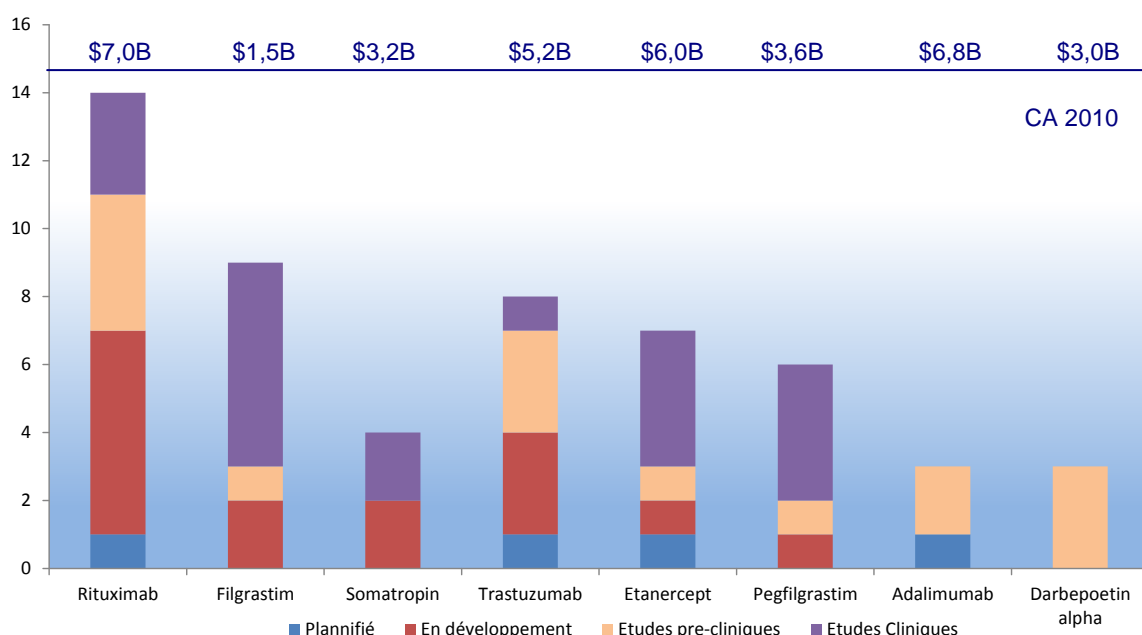
Le potentiel en termes de chiffre d'affaires est donc très important pour ces biosimilaires.

⁴²(Site Sandoz-biosimilars)

Le rituximab (Rituxan[®] et Mabthera[®]), avec un chiffre d'affaires de plus de 7 milliards de dollars en 2010 et pouvant s'élever à environ 8 milliards de dollars en 2015, date de l'expiration de ses principaux brevets aux Etats-Unis, représente bien sûr une des cibles les plus importantes. En effet, le rituximab, dont les principaux brevets expirent en 2014 en Europe et 2015 aux Etats-Unis, se présente comme l'un des premiers biologics blockbusters à voir ses brevets expirer, avec le trastuzumab (Herceptin[®]) et l'etanercept (Enbrel[®]). Ceci se confirme par l'analyse des portefeuilles-produits des différents laboratoires génériqueurs: 14 biosimilaires du rituximab sont actuellement en cours de développement ou d'essais cliniques, faisant de celui-ci le biologics le plus ciblé. Les biosimilaires les plus avancés au niveau clinique sont actuellement en phase II ou phase III. Le TL011 du laboratoire Teva, développé suite à un partenariat avec la biotechnologie Lonza, spécialisée entre autre dans le développement d'anticorps monoclonaux, est actuellement en phase II dans le traitement des polyarthrites rhumatoïdes. Sandoz, la division générique du groupe suisse Novartis s'est également positionnée avec le GP2013 actuellement en étude de phase III dans le traitement des lymphomes folliculaires non traités auparavant et en phase II dans le traitement des polyarthrites rhumatoïdes.

⁴³(Site Tevapharm: Biopharmaceuticals pipeline) ⁴⁴(Site Novartis.com: pipeline)

Figure 33. Principaux biosimilaires en fonction de leur statut (en développement ou en études cliniques) et chiffre d'affaires 2010 du biologics de référence



Ce nombre important de biosimilaires du rituximab en développement montre l'intérêt que porte les principaux laboratoires génériqueurs à se positionner sur ces marchés, en dépit de l'expertise, du temps et des investissements nécessaires au développement de ce type de produits.

En effet, le partenariat Teva – Lonza montre l'importance de l'acquisition rapide d'un certain savoir-faire et du matériel nécessaire au développement d'anticorps monoclonaux. De plus, on estime la durée de développement d'un biosimilaire à environ 8 - 10 ans contre environ 3 à 4 ans pour un générique. Enfin, les coûts nécessaires sont 10 à 20 fois supérieurs à ceux

d'un générique classique: \$100mio à \$200mio pour un biosimilaire contre \$5mio à \$10mio pour un générique.

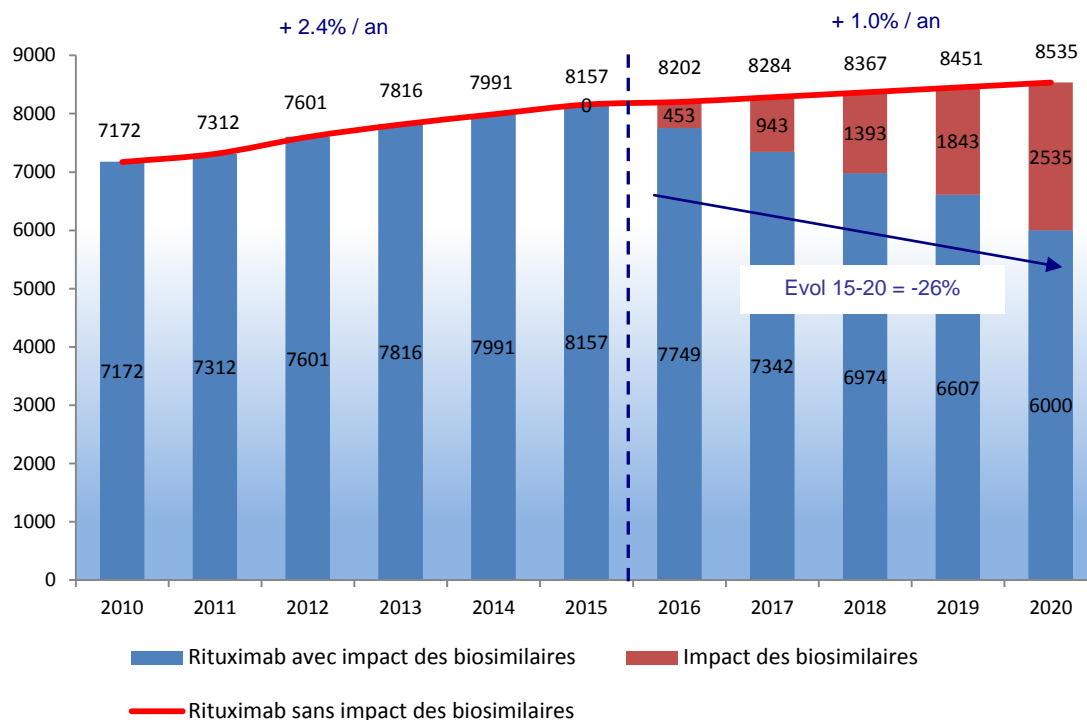
Ces contraintes et risques sont cependant compensés par les potentiels bénéfiques qu'apporterait la mise sur le marché d'un biosimilaire tant d'un point de vue stratégique que financier. En effet, les biosimilaires peuvent offrir aux génériqueurs un excellent relais de croissance à un marché des génériques classiques ultra-concurrentiels et où la différenciation entre deux génériques d'un même princeps est quasi nulle. D'autre part, les biosimilaires permettent d'entrer sur des marchés beaucoup plus importants en termes de chiffre d'affaires, offrant ainsi des potentielles ventes importantes. Enfin, les marges opérationnelles estimées seraient plus importantes pour les biosimilaires que pour les génériques: environ 21% du chiffre d'affaires pour un biosimilaire contre à peine 15% pour les génériques.

¹⁴(Datamonitor, 2011)

L'impact réel des biosimilaires est pour l'instant encore difficile à déterminer compte tenu du nombre encore faible de biosimilaires présents sur le marché du médicament. En se basant sur les premiers exemples des biosimilaires des hormones de croissance et des facteurs de croissances hématopoïétiques de type G-CSF, le prix d'un biosimilaire serait environ 20% inférieur à son biologics de référence et leurs impacts moyens en termes de chiffre d'affaires pourraient être évalués à environ -10% deux ans après leurs sorties. Ce pourcentage variant bien sûr d'un pays à l'autre, des évolutions de réglementation et de la gestion des coûts de santé publique.

Afin de visualiser l'impact potentiel d'un ou plusieurs biosimilaires sur les ventes du rituximab, une diminution des ventes de 10% deux ans après la probable date d'entrée du premier biosimilaire soit 2017 a été assumée par rapport à la dernière année sans biosimilaire (2015). Ces estimations sont, de plus, effectuées sans intégration des potentielles nouvelles indications du rituximab et sans intégration de l'entrée de potentiels biobetters. Le but étant de ne juger que l'impact des biosimilaires sur le rituximab.

Figure 34. Evolution du chiffre d'affaires estimé du rituximab suite à l'entrée de ses biosimilaires (\$mio)



En se basant sur ces premières hypothèses, les biosimilaires pourraient impacter les ventes du rituximab à un niveau d'environ 7 milliards de dollars en cumulé au bout de 5ans, signifiant une diminution de 26% des ventes annuelles en 2020 par rapport à 2015.

Les opportunités en termes de chiffre d'affaires et de bénéfices sont donc importantes pour les biosimilaires qui sauront surpasser les contraintes de développement, réglementaires et marketing afin d'entrer sur les marchés des anti-CD20.

b. Le GA101 pourrait limiter l'impact des biosimilaires

Comme analysé précédemment, les opportunités sont grandes pour les laboratoires génériques s'ils arrivent à faire entrer leurs biosimilaires sur le marché des anti-CD20. A l'opposé, les menaces sont tout aussi grandes pour Roche puisque cela provoquerait une diminution significative du chiffre d'affaires du rituximab, ce qui risquerait d'engendrer une diminution du profit de ce produit.

Deux stratégies possibles se sont alors présentées à Roche lorsque la menace des biosimilaires du rituximab s'est accentuée. Le laboratoire pouvait soit développer et commercialiser des biosimilaires (incluant potentiellement les biosimilaires de ses propres biologics) directement ou indirectement via un partenariat ou une fusion - acquisition, soit décider de répondre par l'amélioration du rituximab en créant son propre biobetter.

La première possibilité est la stratégie la plus fréquemment utilisée par les laboratoires sous menace des biosimilaires. Par exemple, Pfizer a entamé un partenariat avec Biocon pour développer des biosimilaires de ses insulines, Amgen collabore avec le génériqueur Watson afin de développer et commercialiser ses propres biosimilaires ou encore Merck a acquis GlycoFi et Abmaxis en 2006 afin de développer plusieurs biosimilaires.

En fait, seuls trois laboratoires parmi les 20 plus importants en termes de chiffre d'affaires n'utilisent pas cette stratégie. Il s'agit d'Astra Zeneca, Bayer et Roche. Astra Zeneca a décidé, suite à l'acquisition de MedImmune en 2007, de se focaliser sur l'amélioration des molécules existantes et donc de développer des biobetters. Il espère ainsi pallier la baisse de ces revenus annoncés suite à l'expiration des principaux brevets du palivizumab (Synagis®). Bayer, bien que prochainement sous la menace des biosimilaires du Betaferon, ne souhaite pas entrer sur le marché des biosimilaires car il possède un pipeline diversifié allant des produits de santé familiale aux biologics et il préfère rester focaliser sur le développement de molécules innovantes.

Roche, pour sa part, a décidé également de ne pas développer de biosimilaires et préfère donc créer et commercialiser des biobetters de ses propres biologics.

Cette seconde possibilité s'avère être plus risquée et plus coûteuse que le développement simple de biosimilaires mais elle peut permettre des bénéfices plus élevés, grâce entre autre à des marges plus importantes.

¹⁴(Datamonitor, 2011)

Cette stratégie de biobetters est celle qui a le plus de sens pour Roche dans le cadre du rituximab pour plusieurs raisons majeures :

- Tout d'abord, les développements de l'ocrelizumab dans un premier temps puis, et surtout, du GA101 sont en ligne avec la stratégie générale du laboratoire Roche basée sur deux piliers: la médecine spécialisée et la médecine personnalisée via Roche Diagnostics.

En effet, les biologics représentent environ 60% du chiffre d'affaires de Roche grâce en partie à ses trois anticorps monoclonaux: Avastin®, Herceptin® et Rituxan®, réalisant ensemble plus de 20 milliards de dollars en 2010. ¹¹(Roche annual report 2010)

La stratégie de Roche a toujours été d'investir dans le développement de molécules innovantes, surtout depuis la fusion avec Genentech en 2009. D'autre part, la médecine personnalisée mise en avant grâce aux nouveaux outils de diagnostic que développe Roche représentent une part de plus en plus importante pour le groupe. En effet, cette division représentait en 2010 22% du chiffre d'affaires du groupe (11 milliards de dollars) contre 20% un an plus tôt. Le développement des outils de diagnostic semble toujours d'actualité en 2012 puisque Roche a lancé une OPA hostile sur la société Illumina spécialisée dans la recherche génétique, opération pouvant s'élever à plus 5,7 milliards de dollars.

⁴⁵(Landrieu V., Roche OPA hostile)

L'analyse du portefeuille produit de Roche Diagnostics montre d'ailleurs un outil de diagnostic pour accompagner le rituximab sur le marché de la polyarthrite rhumatoïde.

Ce focus de Roche sur l'innovation et sur les diagnostics ne serait ainsi pas en ligne avec le développement d'un biosimilaire du rituximab.

- Ensuite, pour le développement du biobetter GA101, Roche a pu bénéficier de l'expertise acquise grâce au rituximab et de celle de GlycArt Biotechnology, augmentant les chances de succès et diminuant les coûts. En effet, Roche a obtenu le GA101 suite à l'acquisition de GlycArt Biotechnology pour un montant global de 257 millions de dollars en 2005.

⁴⁶(Jean-Mairet J., 2011)

Roche et GlycArt avait déjà signé un partenariat pour le développement du biobetter du rituximab quelques années auparavant. Cette acquisition est une stratégie particulièrement intéressante et prometteuse puisqu'elle permet à Roche d'associer ses connaissances dans le développement des anti-CD20 avec celle de GlycArt dans la glycosylation de ceux-ci et ainsi augmenter sensiblement les chances d'aboutissement du projet. En termes de coût de fabrication, le GA101 devrait, sans doute, pouvoir utiliser en partie les technologies du rituximab, permettant ainsi potentiellement de diminuer les « costs of good sold » grâce à un effet volume positif et donc d'augmenter les marges faites sur ce produit.

- Enfin, en termes de marketing pour le GA101, Roche aura quelques avantages non négligeables à faire valoir vis-à-vis de ces concurrents biosimilaires ou biobetters. D'une part et contrairement aux autres molécules, le GA101 est testé directement en études cliniques contre le rituximab. Il est possible ainsi de définir l'exacte amélioration en termes d'efficacité comparativement à la référence du marché des anti-CD20. Ces études seront bien sûr un avantage lors de l'évaluation des prix et des remboursements par exemple mais aussi lors de la présentation de cette molécule par les délégués hospitaliers aux médecins. D'autre part, Roche pourra utiliser la même force de ventes que celle utilisée pour le rituximab, valorisant ainsi la notoriété de ce produit et du laboratoire pour mettre en avant le GA101. De plus, cette mutualisation de la force de ventes permettra là encore de diminuer les coûts associés.

Le GA101 présente donc de nombreux avantages, comparativement à ces potentiels principaux concurrents, validant la stratégie de Roche de produire un biobetter du rituximab plutôt qu'un biosimilaire.

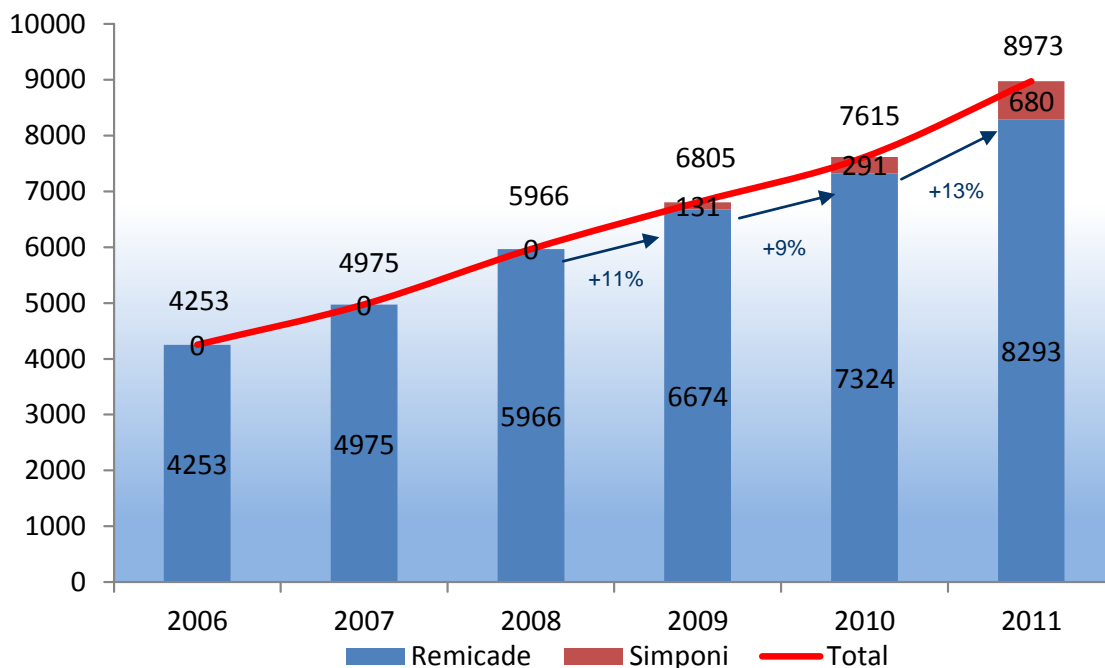
Le positionnement du GA101 par rapport au rituximab sera une étape clé en vue lors de la mise sur le marché de celui-ci. En effet, le GA101 devrait entrer sur ces marchés cibles en 2014, soit l'année de la possible entrée des biosimilaires du rituximab en Europe. Une des options possibles pour Roche serait certainement de pouvoir proposer aux patients à la fois le rituximab par voie sous-cutanée, si les résultats de l'étude de phase III en cours se révèlent positifs, et le GA101 en se basant sur l'étude GADOLIN, actuellement en début de phase III en vue de l'obtention d'une indication dans le traitement des lymphomes non Hodgkiniens réfractaires au rituximab. En s'appuyant sur les potentiels résultats positifs de ces études, Roche pourrait se servir du GA101 comme « produit compagnon » du rituximab et pourrait ainsi promouvoir, auprès des médecins, le traitement de tous les patients atteints de lymphomes non Hodgkiniens, soit grâce au rituximab soit grâce au GA101. Avec cette indication bien précise, Roche pourrait, non seulement potentiellement augmenter les ventes

du rituximab grâce à certaines ventes incrémentales mais aussi faire connaître le GA101 auprès des médecins en vue de son entrée sur de nouveaux marchés.

Cette stratégie est d'ailleurs quelque peu utilisée par les laboratoires Johnson&Johnson et Merck – Schering-Plough avec la commercialisation du golimumab (Simponi®) dans le traitement de la polyarthrite rhumatoïde en compagnie de l'infliximab (Remicade®). En effet, le golimumab, un anti-TNFα, a été lancé en 2009, soit cinq années avant l'expiration des brevets du Remicade, blockbuster réalisant plus de 7 milliards de dollars en 2010. Le golimumab possède l'avantage d'être disponible en sous-cutané, le patient pouvant ainsi s'auto-injecter ce produit une fois par mois, contrairement au Remicade®, uniquement disponible en intraveineux, une injection toutes les 6 semaines. Le risque de cannibalisation du Remicade® par Simponi® est ici très important puisque ces deux produits sont prescrits dans la même indication. Cependant, un bon positionnement de ces deux produits a fortement limité ce risque. En effet, Remicade® se positionne à présent plutôt pour les patients hospitalisés ou ayant des problèmes d'observance, alors que Simponi® se place pour les patients plutôt jeunes, pouvant s'auto-injecter ce produit.

Les résultats de 2011, estimés à partir des ventes réalisées sur les trois premiers trimestres, montrent le succès de ce positionnement, avec des ventes incrémentales réalisées sur Remicade® grâce au lancement du Simponi®.

Figure 35. Evolution du chiffre d'affaires de Remicade® et Simponi® de 2006 à 2011 (\$mio)



⁴⁷ (Merck Schering Plough annual reports)

Le lancement de Simponi® en 2009 a permis à Merck Schering-Plough tout d'abord d'augmenter le chiffre d'affaires de son activité rhumatologie avec une croissance égale à 18% entre 2010 et 2011, contre une croissance d'environ 12% par an entre 2006 et 2010. Ensuite, ce lancement a permis, grâce à un co-positionnement bien établi, d'augmenter les ventes de Remicade® d'environ 4% comparativement à la croissance normale du produit. Enfin, ce lancement, bien en amont de l'arrivée des biosimilaires du Remicade®, permet de faire connaître Simponi® aux médecins et de prouver son efficacité. Lors de l'expiration des

brevets du Remicade[®], Simponi[®] sera alors bien implanté sur le marché et pourra limiter les pertes globales en termes de chiffre d'affaires des activités rhumatologie.

Le co-positionnement du GA101 avec le rituximab sous-cutané serait le cas idéal pour Roche, assurant d'une part des ventes incrémentales pour le rituximab et d'autre part un accès au marché facilité pour le GA101.

En cas d'échec de l'étude du rituximab sous-cutané, les revenus seraient moins importants car le GA101 viendrait logiquement se placer sur les mêmes indications que le rituximab actuel, afin de limiter directement l'impact des biosimilaires, et donc risquerait de cannibaliser ses ventes.

En conclusion, la menace que représentent les biosimilaires sur le rituximab est importante, ce produit étant celui sur lequel le plus de biosimilaires sont actuellement en essais pré cliniques ou cliniques. Bien que leur impact soit encore difficile à définir, les principaux génériqueurs se sont positionnés pour mettre sur le marché leurs premiers biosimilaires dès 2014. Roche a cependant décidé de répondre à cette menace par une stratégie en ligne avec sa politique global de développement: l'innovation. Le GA101 est sûrement le biobetter le plus prometteur et Roche sait qu'il pourra s'appuyer sur l'expertise acquise grâce au rituximab, d'une part pour diminuer les coûts et d'autre part pour optimiser les ventes. Un co-positionnement bien établi avec le potentiel rituximab sous-cutané permettrait d'ailleurs d'optimiser au mieux les ventes des deux produits. En effet, placer le GA101 comme « produit compagnon » du rituximab permettrait de mettre en avant le traitement de tous les patients qu'ils soient réfractaires ou non au rituximab et de progressivement faire connaître le nouvel anticorps. Le niveau de ventes du GA101 devra, quoiqu'il en soit, être suffisamment élevé pour permettre à Roche de maintenir son leadership sur ces marchés mais aussi pour justifier l'investissement conséquent que représente le développement de ce nouveau produit, incluant l'acquisition de GlycArt, même si celle-ci permettra probablement le développement d'autres anticorps monoclonaux glycosylés.

Tableau 6. SWOT du GA101 pour le laboratoire Roche

Forces	Faiblesses
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Bénéficie de l'expérience acquise avec le rituximab ➤ En ligne avec la stratégie de Roche tournée vers l'innovation ➤ Profite d'une marge plus importante compte tenu de plus faible « COGS » et coûts marketing ➤ Profite de la notoriété forte de Roche dans ces indications ➤ Soutient les ventes du rituximab (produit compagnon – hypothétique) 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Impact financier important (acquisition de Glycart, échec de l'ocrelizumab) en cas d'échec
Opportunités	Menaces
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Limite l'impact des biosimilaires ➤ Limite l'impact des principaux concurrents 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Impact direct des biosimilaires et autres biobetters sur les ventes du GA101 et du rituximab

2. Les autres biobetter peuvent aussi bénéficier de l'expiration des brevets du rituximab

a. Pour le laboratoire GSK, l'Arzerra® doit permettre de pénétrer de nouveaux marchés

L'ofatumumab (Arzerra®) du laboratoire GSK est entré sur le marché des traitements des leucémies lymphoïdes chroniques réfractaires aux traitements à base de fludarabine et alemtuzumab en 2009 aux Etats-Unis et 2010 en Europe, représentant ainsi le 1^{er} anticorps monoclonal anti-CD20 entièrement humain sur ce marché. L'Arzerra® possède la principale particularité par rapport au rituximab de se lier à un site différent sur les CD20 permettant ainsi de contourner certaines résistances. L'Arzerra® a obtenu son autorisation de mise sur le marché suite à la publication de résultats de phase II mais il se trouve toujours en étude de phase III dans cette même indication afin de fournir l'ensemble des résultats nécessaires et pouvoir être administré en 1^{ère} ligne. Il se trouve également en essais cliniques de phase III dans les lymphomes folliculaires et dans les lymphomes B à grandes cellules ainsi qu'en phase II dans les polyarthrites rhumatoïdes et scléroses en plaques.

L'entrée de l'Arzerra® sur les marchés des leucémies lymphoïdes chroniques et des lymphomes permet à GSK de continuer la diversification de son portefeuille produit. En 2010, l'activité oncologie de GSK représentait 1,1 milliards de dollars (£688mio – taux de conversion £1 = 1,62 USD) soit moins de 3% du chiffre d'affaires du laboratoire (37,9 milliards de dollars). Ce chiffre d'affaires total est encore hautement dépendant de l'activité respiratoire, qui représente 31% des ventes totales avec comme médicament principal le Seretide® (8,3 milliards de dollars en 2010). Cependant, le laboratoire est sous la menace des génériques pour certains de ces produits dont le Seretide® qui a vu ses brevets arriver à expiration en 2011. L'importance pour GSK était donc certainement de trouver de nouveaux relais de croissance en particulier dans des secteurs en forte progression tels que l'oncologie. L'Arzerra® vient donc compléter un portefeuille produits en oncologie composé de quatre autres produits: le topotecan (Hycamtin®) utilisé dans les cancers ovariens et du poumon à petites cellules, l'eltrombopag (Promacta®) utilisé en cas de thrombocytopenie immune, le lapatinib (Tyverb®) indiqué dans le traitement du cancer du sein et le pazopanib (Votrient®) utilisé en cas de cancer du rein. GSK investit d'ailleurs massivement dans le domaine de l'oncologie avec 32 essais cliniques en cours dans ce secteur.

L'analyse du portefeuille produit montre également le souhait de GSK de mettre sur le marché de plus en plus de biologics. En effet, une dizaine de biologics sont actuellement sur le marché ou en essais cliniques; parmi ceux-ci se trouvent le denosumab (Prolia®), mis sur le marché en 2011 dans le traitement de la sclérose en plaque, le belimumab (Benlysta®), approuvé par l'EMA en 2011 dans le traitement des lupus érythémateux et bien sûr l'ofatumumab (Arzerra®).

⁴⁸(GSK Product development pipeline, 2011)

L'ofatumumab (Arzerra[®]) est un produit issu de la recherche et développement de la biotechnologie danoise Genmab, spécialisée dans les anticorps monoclonaux. Cette société utilise entre autre, une technologie appelée HuMAb – Mouse consistant à utiliser des souris transgéniques spécifiques afin de créer rapidement des anticorps monoclonaux entièrement humains. Genmab a mis en place plusieurs partenariats avec des sociétés telles que Amgen, Roche et GSK afin d'assurer des essais cliniques de grandes envergures puis de commercialiser ces produits.

C'est par ce principe de partenariat que GSK a obtenu un accord global pour co-développer puis commercialiser l'Arzerra[®] en décembre 2006. Genmab a ainsi reçu de GSK 102 millions de dollars en termes de milestones et GSK a également acheté plus de 4,4 millions de parts de la société Genmab pour un total de 357 millions de dollars. L'accord signale que Genmab a l'option de pouvoir co-promouvoir l'Arzerra[®] avec GSK aux Etats-Unis et dans les pays nordiques.

⁴⁹(Site Genmab.com)

Depuis 2009, année du lancement de l'Arzerra[®] aux Etats-Unis, les ventes globales de ce produit s'élèvent à 126 millions de dollars dont 71 millions de dollars (réalisés en 2011), soit 6 % de l'activité oncologie de GSK.

⁵⁰(GSK – Q4 results 2011 – Fev 2012)

Ce chiffre d'affaires reste globalement faible compte tenu de la seule indication obtenue par l'Arzerra[®] (traitement des leucémies lymphoïdes chroniques réfractaires aux traitements à base de fludarabine et alemtuzumab). En effet, le nombre de patients concernés par cette indication est très faible puisque, par exemple, il s'élève pour la HAS à environ 80 patients par an en France.

³²(Avis de la Commission de Transparence HAS, 2010)

Cette indication n'est qu'une étape dans la stratégie de GSK afin de placer efficacement son produit à l'avenir. En effet, pour GSK, l'intérêt principal d'avoir positionné l'Arzerra[®] dans cette indication est le fait d'être présent sur le marché des anti-CD20 de nouvelles générations bien avant les futurs concurrents. Dans ce cadre, même si l'indication est relativement restreinte, GSK a ainsi plus de temps pour présenter son produit au médecin et démontrer ses bénéfices par rapport aux concurrents. Dans un marché qui deviendra potentiellement bien plus concurrentiel, l'ordre d'entrée sur celui-ci prend de plus en plus d'importance stratégiquement. En effet, le médecin peut avoir l'opportunité de prescrire ce nouveau produit et de juger par lui-même son efficacité et sa tolérance. Une fois les études de phase III en cours terminées et les indications obtenues d'une part dans les leucémies lymphoïdes chroniques en première ligne cette fois, mais aussi dans les lymphomes folliculaires, les oncologues auront déjà la connaissance du produit et ils pourront alors le prescrire plus facilement. Le chiffre d'affaires de l'Arzerra[®] devrait alors rapidement augmenter et limiter l'impact des principaux concurrents.

Par la suite, si les essais actuels de phase II pour les traitements des polyarthrites rhumatoïdes et des scléroses en plaques, par exemple, démontrent des résultats positifs, l'Arzerra[®] se positionnera efficacement également sur ces marchés, offrant une alternative de choix au rituximab et aux nouveaux anti-TNF α tel que l'Humira[®]. La polyarthrite rhumatoïde semble d'ailleurs être un marché auquel GSK s'intéresse particulièrement puisque deux autres anticorps monoclonaux (otelixizumab – anticorps monoclonal anti-CD3

et 315234 – anticorps monoclonal oncostatin M) sont actuellement en cours d'essais cliniques de phase I ou II dans cette indication.

⁴⁶(GSK Product Development Pipeline, 2011)

En conclusion, le chiffre d'affaires de l'Arzerra® reste grandement dépendant des futures indications qu'il pourra obtenir. En effet, l'indication actuelle ne cible que très peu de patients mais permet de faire connaître le produit auprès des oncologues. En revanche, en cas de résultats positifs des essais cliniques de phase III pour les traitements de première ligne des leucémies lymphoïdes chroniques et des lymphomes folliculaires, l'Arzerra® pourrait tirer bénéfice de son entrée précoce sur ces marchés et augmenter significativement son chiffre d'affaires. D'une vision plus générale, l'Arzerra® se place bien en ligne avec la stratégie globale du laboratoire GSK qui souhaite de plus en plus se tourner vers les biotechnologies.

Tableau 7. SWOT de l'ofatumumab pour le laboratoire GSK

Forces	Faiblesses
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Fait partie d'une stratégie globale développée par GSK autour des anticorps monoclonaux ➤ Plusieurs études cliniques en cours dans d'autres indications 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ AMM attribuée à partir de données de phase II, les résultats de phase III doivent être positifs
Opportunités	Menaces
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Offre la possibilité à GSK de se diversifier grâce au biologics ➤ Entre en avance sur le marché par rapport à ses principaux concurrents 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Impact général sur la stratégie de diversification de GSK en cas d'échec ➤ Concurrence des biosimilaires et autres biobetter

b. Les opportunités diffèrent mais restent importantes pour les autres biobetter

Pour les deux autres principaux laboratoires développant des biobetter, Immunomedics avec le veltuzumab et le LFB avec le LFB R603, les enjeux diffèrent quelque peu de ceux de Roche ou GSK car ceux sont des biotechnologies de plus petite taille qui n'ont pas encore d'anticorps monoclonaux sur le marché.

Pour Immunomedics, les essais cliniques avancés du veltuzumab représentent une opportunité importante de commercialiser un anticorps monoclonal prometteur. Immunomedics était jusqu'ici spécialisée dans la recherche et le développement d'anticorps monoclonaux pour le dépistage et le traitement des cancers ou de maladies auto-immunes. L'ambition affichée par M. D. M. Goldenberg, chairman et fondateur de cette société lors de la présentation des résultats annuels 2011 est claire: Immunomedics doit à présent mettre sur le marché ses anticorps monoclonaux thérapeutiques (par lui-même ou plus probablement via des partenariats) afin d'augmenter ses revenus et sa valorisation.

⁵¹(Immunomedics Annual report, 2011)

Le portefeuille produit d'Immunomedics se compose principalement d'un anticorps monoclonal utilisé dans le diagnostic des ostéomyélites, d'un outil de détection des anticorps humains anti-murins déjà commercialisé, ainsi que de trois anticorps monoclonaux thérapeutiques en essais cliniques. Le produit le plus avancé est l'epratuzumab, un anticorps monoclonal anti-CD22 humanisé ciblant directement les cellules B et actuellement en essais de phase III dans le lupus érythémateux, assuré par le laboratoire UCB qui a acquis les droits pour ce produit dans toutes ses indications hors oncologie, et en phase II dans les lymphomes non Hodgkiniens. Immunomedics étudie également le Y90 clivatuzumab pour le traitement des cancers pancréatiques et enfin le veltuzumab.

Pour rappel, le veltuzumab est un anticorps monoclonal humanisé anti-CD20 dont le fragment Fab (responsable de la liaison à l'épitope) diffère du rituximab uniquement par un seul acide aminé lui permettant de rester lié plus longtemps à son épitope sur les anti-CD20. Cette particularité offre au veltuzumab la possibilité d'être administré en faible quantité et donc en sous-cutanée.

Immunomedics a signé un accord de licence avec la société Nycomed (appartenant à Takeda) en 2009, qui a acquis ainsi les droits pour le développement, la production et la commercialisation du veltuzumab dans toutes les indications hors oncologie. Immunomedics a ainsi reçu un paiement initial de 40 millions de dollars puis deux paiements de milestones en 2010 et 2011 de 10 millions de dollars en relation avec le développement clinique en phase II dans le traitement des polyarthrites rhumatoïdes et des purpuras thrombocytopéniques immunitaires. Immunomedics pourrait également recevoir des royalties supérieures à 10% des ventes du veltuzumab dans les indications détenues par son partenaire. Nycomed considère les anticorps monoclonaux anti-CD20 comme un des segments au plus fort potentiel dans le traitement des polyarthrites rhumatoïdes et espère potentiellement pénétrer d'autres secteurs dans les pathologies auto-immunes inflammatoires grâce au veltuzumab.

⁴⁸(*Immunomedics Annual report, 2011*)

La possibilité d'injecter par voie sous-cutanée ce produit est d'ailleurs un avantage dans le traitement des polyarthrites rhumatoïdes car cela permettrait aux patients de se l'auto-injecter, améliorant ainsi la vie générale des patients et diminuant les coûts globaux de traitement tels que le séjour en hôpital de jour ou le déplacement d'une infirmière par exemple. Dans le traitement de cette pathologie, seuls des anti-TNF α sont pour l'instant disponibles sous forme d'injections sous-cutanées.

Immunomedics développe également le veltuzumab dans le traitement des lymphomes non Hodgkiniens et espère pouvoir lever suffisamment de fond pour pouvoir initier un essai de phase III et potentiellement le mettre sur le marché.

Le succès du veltuzumab dans les essais cliniques, que ce soit ceux effectués directement par le laboratoire ou par Nycomed, représente un enjeu majeur pour Immunomedics tant cette société reste dépendante des résultats à court termes. En effet, le rapport annuel précise qu'un échec dans le développement clinique impacterait grandement les résultats financiers et la société en elle-même. L'ambition d'Immunomedics d'amener un de ses anticorps monoclonal vers la commercialisation est d'ailleurs intéressante et justifiée par les résultats des essais cliniques du veltuzumab par exemple, mais elle n'en reste pas moins

soumise à de nombreuses barrières, énoncées dans le rapport annuel en tant que risques relatifs aux opérations.

En effet, des risques financiers sont par exemple énoncés: Immunomedics doit obtenir d'avantage de fonds financiers pour pouvoir continuer les essais cliniques de ses deux principaux anticorps monoclonaux, essentiellement en phase III lorsque le nombre de patients à inclure sera bien plus important. En effet, la biotechnologie signale que sur la base de ses dépenses envisagées, il ne lui reste environ qu'un an de ressources afin de mener ses projets.

Des risques liés aux partenariats sont également présents. En effet, Immunomedics explique qu'il reste dépendant des actuels et futurs partenariats nécessaires à la commercialisation de ces produits. Si la société ne parvient pas à maintenir les partenariats existants et à en trouver de nouveaux, il deviendra difficile de poursuivre les programmes de développement et de commercialisation envisagés.

Immunomedics explique enfin la menace que représente la forte concurrence présente dans le marché des anticorps monoclonaux et le grand nombre de projets de développement en cours. En effet, cette concurrence, provenant souvent de grands groupes pharmaceutiques, peut induire que le veltuzumab, par exemple, ne soit plus compétitif voire obsolète lors de sa potentielle mise sur le marché.

⁴⁸ (*Immunomedics Annual report, 2011*)

Le veltuzumab est donc un projet très important pour une pure biotechnologie comme Immunomedics, avec un grand intérêt financier pouvant permettre de poursuivre et augmenter les activités de recherche et développement. En effet, cette société n'a pour l'instant que trois anticorps monoclonaux en phase d'essai clinique. L'échec de l'un d'entre eux mettrait immédiatement la société en danger suite à un désintéressement des investisseurs et donc une diminution nette de la capitalisation boursière de la société, qui se traduirait par des difficultés de plus en plus en grandes à réunir suffisamment de fonds pour poursuivre des activités de recherche et développement.

Le veltuzumab et Immunomedics restent également grandement dépendants du partenariat établi avec Nycomed, filiale de Takeda, pour le développement dans toutes les indications hors oncologie, aussi bien à court terme avec les royalties et milestones qui pourraient être attribués mais aussi à long terme afin d'attirer de nouveaux investisseurs pour de nouveaux projets.

Tableau 8. SWOT du veltuzumab pour le laboratoire Immunomedics

Forces	Faiblesses
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Traitement sous-cutané intéressant pour la polyarthrite rhumatoïde essentiellement ➤ Partenariat bien établi avec Nycomed ➤ Expérience dans la recherche et le développement d'anticorps monoclonaux 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Grande dépendance financière de la réussite des projets en cours ➤ Dépendance des nouveaux partenariats
Opportunités	Menaces
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Mise en avant de la R&D d'Immunomedics auprès des partenaires et investisseurs 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Petite biotechnologie dans un marché de plus en plus concurrentiel

Pour le laboratoire français LFB, l'anticorps monoclonal LFB R603 est un élément clé de la nouvelle orientation stratégique. En effet, ce laboratoire dont l'activité principale est le développement et la commercialisation de médicaments dérivés du plasma, a décidé de diversifier son portefeuille produit vers les médicaments issus de biotechnologies dont font bien sûr partie les anticorps monoclonaux.

Ce virage stratégique a été amorcé dès septembre 2007 par l'acquisition de 41% des parts de la biotechnologie Mabgene pour un montant de 7 millions de dollars. Cet accord a permis au LFB de profiter des 10 ans d'expérience de Mabgene dans la recherche et le développement d'anticorps monoclonaux et autres glycoprotéines produites à base de cellules animales.

⁵²(Site *Pharmalicensing.com*, *The LFB group and Mabgene sign a major agreement*)

Deux ans plus tard, le LFB a également acquis la société américaine GTC Biotherapeutics pour un montant de 18,3 millions de dollars, confirmant ainsi sa stratégie de diversification vers les biotechnologies. Cette acquisition a permis d'une part, d'acquérir une antithrombine recombinante (Atryn) développée par GTC et maintenant commercialisée aux Etats-Unis et en Europe par le LFB et d'autre part de consolider la plateforme de développement commune mise en place dès 2007 via un partenariat pour l'anticorps monoclonal anti-CD20 glycosylé LFB R603. En effet, avant son acquisition, GTC était déjà un partenaire de choix pour le LFB puisque cette société était spécialisée dans le développement d'animaux transgéniques et leader dans la production de protéines thérapeutiques à partir de lait alors que le LFB était l'un des principaux acteurs mondial de l'extraction et la purification des protéines à partir du sang ou de lait. Le partenariat entre ces deux sociétés a ainsi permis le développement du LFB R603 suite à l'extraction de cet anticorps à partir de lait de chèvres transgéniques.

⁵³(*GTC Biotherapeutics, Transgenic production, 2009*)

Le LFB est une société anonyme (S.A.) dont les capitaux sont majoritairement publics, l'Etat français détenant, en effet, 100% des parts du groupe. Le budget disponible pour la recherche et développement reste certes faible par rapport aux autres grands groupes français (87 millions d'euros en 2010) mais s'élève tout de même à 21% du chiffre d'affaires du groupe (412 millions d'euros en 2010). Parmi ces 87 millions d'euros investis, 38 millions sont utilisés pour la recherche et le développement des programmes biotechnologiques dont fait partie le LFB R603.

Le groupe a donc bien engagé son virage stratégique vers les médicaments issus des biotechnologies puisque près de 45% de son budget est alloué à cette activité. Afin d'assurer une production de son anticorps monoclonal en plus grande quantité, le LFB a d'ailleurs augmenté la taille de son usine de bioproduction et cherchait en 2011 à répondre aux normes FDA pour la production de biologics.

⁵⁴(*LFB Annual report, 2010*)

La signature d'un partenariat, en avril 2010, avec la société française Sanofi prouve encore plus l'intérêt grandissant du LFB pour les anticorps monoclonaux. En effet, ce Groupement d'Intérêt Economique (GIE), appelé LFB Biotechnologie – Sanofi Chimie doit permettre de conjuguer les expertises des deux laboratoires pour les projets de biotechnologies.

⁵⁵(*LFB Communiqué de presse, Avril 2010*)

Contrairement à Immunomedics, le groupe LFB n'est donc pas grandement dépendant financièrement de la réussite de son anticorps monoclonal dans les essais cliniques. En effet, d'une part par son statut de société appartenant à l'Etat, elle n'a pas à répondre financièrement à des investisseurs et actionnaires privés et d'autre part, elle bénéficie toujours de ses ventes de médicaments dérivés du sang qui assurent déjà un chiffre d'affaires et un résultat net positif à la fin de chaque année. Cependant, le LFB a fait des choix stratégiques intéressants qui ont entraîné des dépenses importantes suite aux acquisitions et aux améliorations des sites de production. Le LFB R603 pourrait certainement en cas de résultats positifs rentabiliser ses investissements, soit par la vente de ce produit à un autre groupe soit par sa directe commercialisation. De plus, cet anticorps monoclonal pourrait permettre de mettre en avant la réussite de la recherche française et ainsi entraîner de nouveaux projets internationaux.

Tableau 9. SWOT du LFB-R603 pour le laboratoire LFB

Forces	Faiblesses
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Expérience de GTC dans la recherche et le développement d'anticorps monoclonaux ➤ Non-dépendance des investisseurs privés ➤ Plateforme commune avec Sanofi 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Investissements importants (GTC, usine) ➤ Capacité financière limitée
Opportunités	Menaces
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Nouvelle orientation stratégique du LFB ➤ Mise en avant de la R&D française 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Concurrence importante compte tenu de la potentielle entrée tardive du LFB R603 sur le marché

En conclusion, les biobetters représentent d'importantes opportunités pour les laboratoires concernés. En effet, tous espèrent tirer profit de ces nouveaux produits selon différents points de vue. Roche espère bien sûr trouver en son GA101 un successeur innovant au blockbuster rituximab. Il possède ici non seulement toute l'expérience acquise grâce à celui-ci en termes de recherche et développement mais aussi la notoriété et la force commerciale pour pouvoir proposer son biobetter et ainsi limiter au maximum l'impact des biosimilaires. Pour GSK, le développement et la commercialisation de l'ofatumumab (Arzerra®) est en relation avec la nouvelle stratégie de groupe annoncée il y a plusieurs années, diversifiant ainsi son portefeuille produit vers les médicaments issus des biotechnologies. Pour Immunomedics, la réussite du veltuzumab est un enjeu important car la société est grandement dépendante financièrement de ce produit vis-à-vis de ses investisseurs, compte tenu du faible nombre de produits actuellement dans le pipeline. Enfin, pour le LFB, le LFB R603 est en lien, comme dans le cas du laboratoire GSK, avec un virage stratégique vers les biotechnologies. Bien que moins dépendant financièrement de ce projet qu'Immunomedics, le LFB espère tout de même mettre en avant ses capacités de recherche et rentabiliser ses nouveaux investissements.

II. Ces opportunités créent une véritable « guerre » des anticorps monoclonaux anti-CD20

1. Les brevets sont au cœur d'une « guerre » des anti-CD20

De nombreux brevets ont été déposés ces dernières années afin de protéger les anticorps monoclonaux anti-CD20 développés. Cependant, compte tenu des opportunités que représentent ces produits, les biotechnologies impliquées peuvent utiliser les brevets pour attaquer un concurrent et donc tenter de ralentir sa progression sur ces marchés. Les actions en justice menées par GSK et Genentech illustrent bien la tension existante autour du développement et de la commercialisation des anticorps anti-CD20.

En effet, depuis plus de 10 ans, les laboratoires GSK et Genentech (appartenant aujourd'hui à Roche) se livrent une véritable bataille juridique basée sur les brevets protégeant essentiellement les méthodes de fabrication des anticorps monoclonaux. Par exemple, dès 1999, le laboratoire Glaxo (qui deviendra GSK quelques années plus tard) attaquait en justice Genentech pour la violation de ses brevets américains 5,545,403 et 5,545,405 portant sur les méthodes de fabrication des anticorps monoclonaux recombinants glycosylés via les cellules CHO. Genentech était accusé, ici, de violer les brevets de GSK avec l'Herceptin® et le Rituxan®. La justice américaine a jugé quelques années plus tard que les brevets de GSK n'étaient en aucun cas violés. Cet exemple sera suivi par de nombreuses autres actions en justice entre ces deux protagonistes, montrant l'importance des brevets dans la protection des données et la possibilité d'attaquer un concurrent direct.

En 2009, GSK obtenait l'autorisation de mise sur le marché de son anticorps monoclonal Arzerra® développé en partenariat avec Genmab et Lonza pour le traitement des leucémies lymphoïdes chroniques, le plaçant ainsi en direct concurrence avec le Rituxan®, commercialisé par Roche / Genentech et Biogen. Il s'en est suivi, quelques mois après cette mise sur le marché, d'une attaque en justice engagée par GSK contre Genentech, mettant en avant un brevet appartenant à ce dernier.

Genentech et Biogen répondront d'ailleurs un an plus tard en attaquant à leur tour GSK en justice.

⁵⁶(Site *Holmansbiotechblog.blogspot.com*, 2010)

a. GSK attaque Genentech pour non-contrefaçon et nullité et non applicabilité d'un de ses brevets

En 2009, quelques mois après le début de la commercialisation de l'Arzerra®, GSK entreprenait une action en justice dans le district du sud de la Floride contre Genentech, mettant en avant que le brevet 6,331,415 de Genentech, communément appelé « Cabilly II » est non valide, non applicable et n'est pas violé par l'Arzerra®. Pour des raisons judiciaires propres aux Etats-Unis et afin d'optimiser ses chances de réussites, GSK décidait en 2010 de transférer cette action dans le district du nord de la Californie. Cette action est actuellement toujours en instance de jugement.

Le brevet « Cabilly II » appartient à Genentech suite à un accord trouvé avec la biotechnologie Celltech. En effet, ce brevet couvrant les méthodes de production des immunoglobulines, vecteurs et cellules souches modifiées, protège les anticorps monoclonaux de Genentech jusqu'en 2018 suite à une série d'actions en justice entre la biotechnologie Celltech et Genentech se concluant par un accord privé entre les deux parties. Ce brevet protège ainsi une méthode de production commune et bien connue d'anticorps monoclonaux grâce à des cellules souches. En 2002, Sean Johnston, alors Vice-président de la propriété intellectuelle chez Genentech déclarait d'ailleurs que ce brevet couvrait largement la co-expression des chaînes lourdes et légères des immunoglobulines dans une cellule souche et que cela ne se limitait pas à un type d'anticorps monoclonal (murin, humanisé ou humain). De plus, il considérait ce brevet comme étant « l'ossature de la production d'anticorps recombinants dans l'industrie de biotechnologie ».

⁵⁷(US District Court for the Northern District of California, 2010)

L'action menée par GSK a pour but de contrer la menace d'une attaque pour contrefaçon que pourrait mener Genentech à l'encontre de GSK pour violation de son brevet « Cabilly II ». Selon GSK, l'existence de ce brevet jugé comme étant non valable et non exécutable pourrait impacter non seulement le développement et les ventes de l'Arzerra[®] mais aussi ceux de potentiels futurs anticorps monoclonaux.

Cette stratégie de protection et d'attaque menée par GSK se base non seulement sur le fait que l'Arzerra[®] et le Rituxan[®] soient en directe concurrence mais aussi sur le fait que Genentech ait déjà attaqué les sociétés qu'il suspectait de violer son brevet car elles commercialisaient des anticorps développés par des méthodes équivalentes à celles utilisées. En effet, Genentech a déjà attaqué auparavant les sociétés MedImmune et Centocor, considérant que les productions des anticorps Synagis[®], ReoPro[®] et Remicade[®] violaient ce brevet Cabilly II.

La menace que représente une action de Genentech était donc jugée importante par GSK puisque par exemple, Arzerra[®] et Synagis[®] sont tous les deux produits à partir de cellules souches modifiées génétiquement (lignées cellulaires NSO issues d'un modèle murin), ce qui, selon Genentech, entre dans le cadre de son brevet Cabilly II.

GSK a donc décidé de prendre les devants par cette action en justice contre Genentech, sachant que ce dernier avait déjà déclaré que GSK devrait obtenir une licence afin de commercialiser l'Arzerra[®] et donc menaçait d'engager des poursuites dans le cas contraire.

GSK demande donc par cette action que:

- Le brevet Cabilly II soit déclaré invalide
- Le brevet Cabilly II soit déclaré non applicable
- La production, l'utilisation, la vente et l'importation de l'ofatumumab (Arzerra[®]) soient déclarées comme ne violant aucun point valide et applicable du brevet Cabilly II
- Le paiement des coûts et frais d'avocats
- Le paiement de tout autre dédommagement que la Cour de justice juge juste et nécessaire

⁵⁴(US District Court for the Northern District of California, 2010)

b. Genentech répond en mettant en avant la mauvaise foi de GSK

Quelques mois plus tard, en octobre 2010, Genentech transmet à la cour de justice du district du Nord de la Californie une réponse à l'action engagée par GSK. En effet, Genentech répond dans ce dossier point par point aux allégations faites par GSK et apporte son jugement quant à la violation ou non du brevet Cabilly II par l'Arzerra[®].

En particulier, Genentech admet les similitudes dans les méthodes de production entre l'Arzerra[®] et d'autres anticorps monoclonaux appartenant à des sociétés attaquées par celui-ci ainsi que certaines déclarations en relation avec la possible violation du brevet Cabilly II par l'Arzerra[®]. Cependant, Genentech dément qu'il avait l'intention d'immédiatement attaquer GSK lors de la commercialisation de l'Arzerra[®], comme le sous-entendait GSK dans son rapport initial.

De plus, Genentech réfute bien entendu la nullité et l'inapplicabilité de son brevet « Cabilly II » et par conséquent demande pour sa défense et sa contre-attaque:

- La déclaration par la justice de la violation directe de son brevet Cabilly II par GSK et son anticorps monoclonal et son incitation à la violation de ce brevet par d'autres sociétés
- La déclaration par la justice que GSK a délibérément violé le brevet Cabilly II
- L'ordre de remboursement par GSK à Genentech de tous les dommages causés par cette violation
- L'ordre du paiement de dommages supplémentaires appelés « treble damages » (jusqu'à trois fois les dommages initiaux) en relation avec l'intention de GSK de violer le brevet et sa mauvaise foi
- Le remboursement des frais d'avocats ainsi que de tous les coûts supplémentaires liés à cette action
- L'ordre d'une injonction permanente, interdisant à GSK de violer à nouveau ce brevet
- Le paiement de tout autre dédommagement que la Cour de justice juge juste et nécessaire

⁵⁸(US District Court for the Northern District of California, 2010)

La stratégie employée par GSK d'attaque de Genentech en non-contrefaçon, nullité et non applicabilité de son brevet Cabilly II peut paraître surprenante à première vue mais elle se place dans un contexte global particulier relatif à la législation américaine et aux brevets protégeant les processus de fabrication des anticorps monoclonaux de Genentech.

En effet, l'obtention du brevet Cabilly par Genentech est issue d'une longue série de conflits avec Celltech et d'un débat permanent sur la validité de ce brevet. GSK tente ainsi de s'appuyer sur ces ambiguïtés pour prouver la nullité de celui-ci et ainsi ne pas risquer le paiement d'une licence et coûts additionnels à Genentech. L'enjeu est important non seulement pour le développement et la commercialisation de l'Arzerra[®] mais aussi pour les autres anticorps monoclonaux du pipeline de GSK tels que le mepolizumab (actuellement en phase II) ou l'otelixizumab (phase I et II). Cette attaque en justice permet donc à GSK de relancer le débat sur le brevet Cabilly II à partir sans doute de nouvelles données qui ne figurent pas dans le brevet initial et donc de s'offrir la possibilité d'adapter sa stratégie globale en fonction de la réponse du tribunal. En effet, en cas de réussite, GSK pourrait

développer librement ses anticorps monoclonaux et affaiblirait considérablement un concurrent de poids. A l'inverse, il est possible d'envisager que GSK pourrait modifier ses plans d'investissements pour des futurs projets coûteux qui seraient potentiellement impactés par la validité du brevet Cabilly. Les dates de mise sur le marché de l'Arzerra® dans de nouvelles indications pourraient également être repoussées si le tribunal juge que celui-ci viole le brevet de Genentech.

Les risques de telles actions sont tout de même élevés pour GSK. En effet, comme le montre la réponse apportée par Genentech, ce dernier se défend en attaquant GSK en contrefaçon et juge que celui-ci a délibérément violé son brevet. Ce point est important puisque la justice américaine porte un intérêt particulier à la mauvaise foi qu'une société pourrait montrer. C'est d'ailleurs en se basant sur ce point que Genentech demande le paiement de dommages supplémentaires (« treble damages ») allant jusqu'à trois fois le montant initial.

De plus, cette attaque de GSK provoque le relancement d'une série de conflits entre ces deux laboratoires, comme le montre une autre action menée par Genentech se basant sur un autre brevet, le 7,682,612. En effet, en mars 2010, Genentech et son partenaire Biogen attaquaient GSK en contrefaçon, déclarant que l'Arzerra® violait ce brevet, appelé « 612 » qui couvre les méthodes de traitements des leucémies lymphoïdes chroniques par l'administration d'anticorps monoclonaux anti-CD20. La cour de justice américaine s'est cependant prononcée en faveur de GSK et son partenaire Genmab en novembre 2011, déclarant que l'Arzerra® ne violait pas ce brevet. Genentech et Biogen ont fait appel de cette décision, qui est donc toujours en instance d'un jugement final.

En conclusion, comme le démontrent les batailles juridiques entre GSK et Genentech, les brevets jouent un rôle clé dans la stratégie de protection des anticorps monoclonaux anti-CD20. En effet, ces brevets peuvent non seulement permettre de défendre les innovations mais également d'attaquer d'éventuels concurrents et ainsi les impacter financièrement afin de ralentir leur progression sur les marchés ciblés.

Les autres biotechnologies impliquées dans le développement d'anticorps monoclonaux anti-CD20 tels qu'Immunomedics et le LFB prennent soin également de protéger leurs anticorps. En effet, Immunomedics a déposé deux brevets à l'Office Américain des Brevets (USPTO) en 2011 afin de protéger son veltuzumab. Le LFB en a fait de même en déposant un brevet protégeant les anticorps monoclonaux ayant une cytotoxicité optimisée par les cellules du système immunitaire grâce à un profil de glycosylation particulier.

Les brevets déposés sont donc nombreux et il est possible d'envisager que les actions en justice telles que celles menées par GSK et Genentech se multiplieront au fur et à mesure de l'entrée de nouveaux anticorps monoclonaux anti-CD20. Immunomedics a d'ailleurs clairement identifié ce type d'action comme un risque important dans son rapport annuel, jugeant que ceci pourrait entraîner un impact financier important voire la vente du produit sans licence.

2. Cette guerre des anti-CD20 peut avoir des répercussions sur les partenariats

Comme cité auparavant, la plupart des anticorps monoclonaux ont été développés et / ou commercialisés par l'intermédiaire de partenariats. En effet, Immunomedics développe le veltuzumab en partenariat avec Nycomed, filiale de Takeda, celle-ci s'occupant du développement dans toutes les indications hors oncologie. De même, Genentech et Idec ont créé un partenariat en 1995 pour le rituximab, ainsi que pour les futurs anticorps monoclonaux anti-CD20. Ce partenariat est toujours d'actualité mais il a fait naître un conflit entre ses deux protagonistes, principalement dû aux grandes opportunités que représentent ces produits.

En 1995, lorsque Genentech et Idec fondent le partenariat sur les anticorps monoclonaux anti-CD20, Idec est une petite biotechnologie américaine créée neuf ans auparavant, focalisée principalement sur le développement de ce type de produits dont le rituximab. Comme de nombreuses biotechnologies, Idec n'aurait pas été capable de financer le développement intégral du rituximab, d'où le rapprochement organisé avec Genentech. Grâce à ce partenariat, Genentech et Idec assuraient la co-promotion du rituximab aux Etats-Unis et Canada et Genentech obtenait l'exclusivité de la vente de ce produit dans les autres pays en reversant des royalties à Idec. Le partenariat présentait également des conditions sur le développement de tous les futurs anticorps monoclonaux anti-CD20, les deux partenaires devant se mettre d'accord pour chaque nouvelle étape dans les divers futurs projets.

En 2003, soit huit ans après le début du partenariat, le rituximab représente déjà un produit majeur de l'industrie pharmaceutique, réalisant plus d'un milliard de chiffre d'affaires par an. Idec fusionne cette même année avec le laboratoire Biogen lors d'un deal s'élevant à 6,8 milliards de dollars, fondant ainsi Biogen Idec. Cette fusion représente la base d'un conflit naissant entre Genentech et Biogen Idec.

Quelques jours avant l'officialisation de la fusion, les dirigeants de Biogen, Idec et Genentech ont modifié le partenariat d'origine en relation avec les anticorps monoclonaux afin de s'assurer que Biogen Idec conserverait ses droits relatifs au rituximab et aux autres anticorps en développement. Cependant, quelques années plus tard, Genentech ne respectait plus certains points du partenariat essentiellement en relation avec le développement de nouveaux anticorps monoclonaux anti-CD20 humanisés. Ce manquement de la part de Genentech a entraîné un premier conflit avec Biogen.

En effet, le 17 juin 2006, Biogen demande un arbitrage à l'American Arbitration Association (AAA), déclarant que Genentech ne respecte plus ses droits relatifs au partenariat révisé en 2003 du fait que celui-ci n'inclut pas Biogen dans ses décisions stratégiques concernant le développement de certains anticorps monoclonaux anti-CD20. Biogen cite en particulier le développement d'un anticorps anti-CD20 de seconde génération afin de traiter les neuromyérites optiques (NMO), l'ocrelizumab pour le traitement des scléroses en plaques ainsi que celui du GA101. De plus, Biogen désapprouve entièrement le fait que Genentech

ait déclaré pour la première fois depuis le début du partenariat que la fusion entre Biogen et Idec ait modifié les droits de Biogen Idec.

En effet, Genentech disposait de 90 jours après la révision du partenariat suite à la fusion pour faire parvenir les changements qu'il souhaitait mettre en place. Ce délai étant bien sûr largement dépassé en 2006.

Par cette demande d'arbitrage, qui réunit trois personnes extérieures, Biogen espère trouver un terrain d'entente avec Genentech et ainsi garantir ses droits quant au développement et la commercialisation des futurs anticorps monoclonaux anti-CD20.

⁵⁹(*Biogen Annual report, 2006*)

En 2009, soit trois ans après la demande de Biogen, l'American Association of Arbitration rend sa décision et annonce que la fusion Biogen – Idec ne change pas le partenariat et que Biogen Idec conserve donc ses droits relatifs à la participation aux décisions concernant le développement du rituximab et de tous les autres anticorps monoclonaux anti-CD20. De plus, l'association demande à ce qu'une commission comprenant trois membres de chaque compagnie soit créée afin d'approuver un plan de développement pour chaque indication pouvant être concernée. Enfin, Genentech n'a alors plus le droit de poursuivre le développement des produits incriminés sans l'accord de Biogen. Ceci s'applique principalement pour le développement du GA101 puisque les essais concernant l'anticorps ciblant les neuromyérites optiques avaient été stoppés quelque temps avant ce jugement.

⁶⁰(*Biogen Press release, 2009*)

Cette arbitrage aura été bénéfique pour Biogen Idec puisqu'il aura ainsi réussi à faire valoir ses droits concernant le partenariat, celui-ci étant révisé en octobre 2010 afin d'aligner les deux parties.

Tout d'abord, Genentech et Biogen ont ainsi décidé que Genentech aurait la responsabilité de la poursuite du développement de l'ocrelizumab pour la sclérose en plaques. Genentech devra alors financer l'intégralité des coûts et sera responsable du développement et la potentielle commercialisation dans tous les pays. Biogen Idec pour sa part recevra des royalties échelonnées sur les ventes de ce produit aux Etats-Unis, correspondant à son intérêt (30%) dans ce produit.

Ensuite, grâce à ce partenariat, Biogen Idec augmentera sa part des pertes et bénéfices liés au développement et à la commercialisation du GA101 aux Etats-Unis de 30% à 35%, c'est-à-dire que celui-ci doit à présent financer 35% des coûts de développement de ce produit. De plus, Biogen devra régler 10 millions de dollars à titre de rattrapage des dépenses engagées jusqu'ici.

Enfin, si le GA101 vient à être commercialisé et qu'il dépasse un certain niveau de ventes, la part de Biogen Idec dans les bénéfices du Rituxan[®] diminuera de 40% à 35%.

⁶¹(*Roche Investors update, 2010*)

Biogen Idec se réjouissait de cet accord conclu avec Genentech puisqu'il lui permet de ne plus mobiliser de fond dans des essais de phase III pour l'ocrelizumab et la sclérose en plaque. Biogen se recentre ainsi intégralement autour du GA101, montrant par là tout l'intérêt qu'il porte à ce produit, et déterminant ainsi clairement le positionnement que ce laboratoire souhaite avoir. En effet, il est tout à fait envisageable que Biogen ait souhaité

revoir sa position et sa stratégie vis-à-vis de ce partenariat car les coûts de développement de l'ocrelizumab et du GA101 devenaient importants. Il semble donc que Biogen est décidé ici de recentrer son activité autour du produit qui semble avoir le plus de potentiel.

Ce conflit entre Biogen Idec et Genentech autour de leur partenariat sur le développement des anticorps monoclonaux démontrent les tensions qui peuvent exister entre deux partenaires tant les enjeux sont importants. En effet, il est possible d'envisager que Genentech ait volontairement tenté d'expulser Biogen Idec de ce partenariat ou tout du moins d'en diminuer sa position. Idec ayant fusionné avec Biogen, Genentech pouvait ainsi vouloir tenter de sécuriser le développement et la commercialisation de ces produits vis-à-vis d'un nouveau partenaire à la capacité financière bien plus importante qu'auparavant. Stratégie délicate mais qui aurait pu être bénéfique si par exemple un point de litige sur ce sujet avait existé dans le contrat. Du côté de Biogen Idec, il était absolument nécessaire de répondre rapidement à Genentech afin de conforter le statut de partenaire et de ne pas voir sa participation dans les futures décisions diminuées au fur et à mesure. L'arbitrage permettait certainement d'éviter le recours à la justice, nettement plus coûteux et fragilisant encore plus le partenariat existant.

De même, il est également possible, par exemple et bien que celui-ci soit de nature différente, de s'interroger sur la stabilité du partenariat entre Immunomedics et Takeda (via sa filiale Nycomed), si cette première biotechnologie venait à fusionner ou à être acquise par une autre société avec de plus grandes capacités financières.

D'un point de vue général, ces conflits naissant entre partenaires au fur et à mesure de l'avancée dans les essais cliniques des anticorps monoclonaux démontrent la prise de conscience des enjeux que représentent ces produits et l'importance de chaque point des contrats signés entre les deux parties.

En conclusion, devant la menace de plus en plus importante que représentent les biosimilaires, le développement d'anticorps monoclonaux de nouvelles générations en tant que biobetters semble être une stratégie de choix tournée vers l'innovation. Roche et son partenaire Biogen Idec jouent ici bien sûr un rôle primordial puisqu'ils seront les premiers impactés par les biosimilaires du rituximab. Le développement du GA101 illustre parfaitement cette stratégie qui permettra potentiellement de limiter l'impact sur le groupe Roche en général. Les autres biotechnologies telles qu'Immunomedics, GSK ou le LFB ont aussi placé de nombreux espoirs dans leurs anticorps de nouvelles générations soit pour assurer une poursuite d'activité de plus grande ampleur pour Immunomedics soit pour assurer une grande diversification de portefeuille produits et un virage stratégique pour GSK et le LFB. Cependant, ces enjeux tant financiers que stratégiques peuvent créer des conflits entre potentiels concurrents comme l'illustrent les attaques en justice successives de GSK à l'encontre de Roche / Genentech et vice versa. Ces recours en justice s'appuient dans de nombreux cas sur les différents brevets déposés pour protéger les innovations. Le but étant ici soit de démontrer la nullité ou la non applicabilité d'un brevet soit, à l'inverse de démontrer la contrefaçon d'une molécule concurrente. De plus, des tensions peuvent également apparaître entre deux partenaires comme l'illustre le cas Biogen Idec – Genentech, chacun essayant de renforcer sa position ou de diminuer celle du partenaire potentiellement devenu trop important.

Conclusion

Le marché des anticorps monoclonaux anti-CD20 s'apprête à entrer dans une nouvelle ère suite à l'expiration des principaux brevets du rituximab en 2014. En effet, ce produit, commercialisé par Roche et référence dans de nombreuses pathologies telles que le lymphome non Hodgkinien ou la leucémie lymphoïde chronique va, par l'expiration de ses brevets, ouvrir la porte aux biosimilaires et aux biobetter des anticorps monoclonaux anti-CD20 de nouvelles générations. Roche a bien sûr été l'un des premiers laboratoires à se placer sur ce segment avec l'ocrelizumab et le GA101 afin de trouver un remplaçant innovant à son rituximab. D'autres sociétés telles que GSK, Immunomedics ou le LFB souhaitent également pénétrer, directement ou via des partenariats, ce marché des anti-CD20 grâce à leurs biobetter.

Ces anticorps monoclonaux anti-CD20 de nouvelles générations se distinguent par leurs structures innovantes, les différenciant du rituximab et de ses potentiels biosimilaires.

Ils sont d'ailleurs classés selon deux catégories:

Les anticorps de seconde génération, tout d'abord, sont des anticorps humanisés ou entièrement humains sans modification par glycosylation de la partie effectrice Fc, tels que l'ocrelizumab, le veltuzumab ou l'ofatumumab. Selon les premières études cliniques, ces derniers apporteraient un bénéfice pour le patient en termes d'efficacité et de tolérance car ils diminuent les risques d'immunogénicité rencontrés parfois avec le rituximab.

Les anticorps de troisième génération, ensuite, sont des anticorps humanisés avec une modification par glycosylation de la partie effectrice Fc, tels que le GA101 et le LFB R603. Là encore, ces derniers devraient diminuer le risque d'immunogénicité mais aussi augmenter sensiblement l'efficacité, grâce à une cytotoxicité dépendante des anticorps améliorée. Le profil bénéfices / risques qu'apportent ces produits est, d'après les études cliniques disponibles, positif et permet d'envisager une future commercialisation de ceux-ci. Cependant, la tolérance sera grandement suivie lors des futurs essais, aussi bien pour les anticorps de seconde génération, suite entre autre à l'arrêt des tests sur l'ocrelizumab, que pour les anticorps « glycoengineerés » car une trop grande cytotoxicité dépendante des anticorps pourrait provoquer une importante libération de cytokines et donc des risques inflammatoires.

Ces anticorps monoclonaux de nouvelles générations représentent quoiqu'il en soit une opportunité très importante pour les laboratoires impliqués dans leur développement, aussi bien d'un point de vue financier que stratégique. Roche voit bien sûr en son GA101 un remplaçant de choix au rituximab permettant ainsi de limiter l'impact des biosimilaires. GSK, Immunomedics et le LFB voient quant à eux, une opportunité stratégique intéressante de se placer dans un nouveau marché et donc de démontrer leurs capacités de recherche et développement. Les conflits naissant de ces opportunités sont tout aussi importants, en témoigne la « guerre » actuelle que se livrent les différentes sociétés impliquées. En effet, les laboratoires se basent sur les brevets pour bien sûr protéger leurs innovations mais aussi pour ralentir la progression de concurrents par l'intermédiaire d'actions en justice telles que celles opposant GSK et Genentech.

Des conflits peuvent également naître en interne, entre deux partenaires, comme le démontre le cas Biogen Idec – Genentech et reposant sur des points précis des contrats signés auparavant.

Ces stratégies de défense et d'attaque démontrent, entre autre, que les enjeux stratégiques et financiers sont importants et que se placer rapidement et efficacement sur le marché des anti-CD20 est un objectif clé pour ces sociétés.

Bien que l'impact des biosimilaires reste difficile aujourd'hui à appréhender, les anticorps monoclonaux anti-CD20 de nouvelles générations se placent comme une alternative innovante de premier choix tant d'un point de vue rapport bénéfices / risques pour le patient que stratégique pour les laboratoires impliqués.

Bibliographie et webographie

- ¹ IMS Knowledge Link (Consulté le 3 novembre 2011). Rituximab: sales and forecasts
- ² Site de la Caisse centrale de réassurance (Brochure consulté le 4 novembre 2011). Lymphomes Non Hodgkiniens. Adresse URL: www.ccr.fr
- ³ Site de l'Institut National de Veille Sanitaire (Consulté le 4 novembre 2011). Incidence et mortalité des lymphomes non hodgkiniens en 2007. Adresse URL: www.invs.sante.fr
- ⁴ Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman J. Pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. IARC Press. Lyon 2001
- ⁵ Avis de la Commission de la Transparence Mabthera Lymphome non hodgkinien agressif diffus à grandes cellules , HAS, 2003. Adresse URL: www.has.fr
- ⁶ Avis de la Commission de la Transparence Mabthera Lymphome folliculaire de stade III et IV, HAS, 2005. Adresse URL: www.has.fr
- ⁷ Site Cofer Université Lille 2 (consulté le 12 novembre 2011). La polyarthrite rhumatoïde. Adresse URL: cofer.univ-lille2.fr/2eme_cycle/items/-item_121.htm
- ⁸ Avis de la Commission de la Transparence Mabthera PR active, sévère, chez les patients adultes qui ont présenté une réponse inadéquate ou une intolérance aux traitements de fond, dont au moins un anti-TNF, HAS, 2005. Adresse URL: www.has.fr
- ⁹ Site de l'Institut National de Veille Sanitaire (Consulté le 15 novembre 2011). Incidence et mortalité des leucémies lymphoïdes chroniques en 2005. Adresse URL: www.invs.sante.fr
- ¹⁰ Avis de la Commission de la Transparence Mabthera 1ere ligne de traitement des leucémies lymphoïdes chroniques, HAS, 2010. Adresse URL: www.has.fr
- ¹¹ Roche. Annual report 2010
- ¹² Datamonitor. Monoclonal antibodies: 2011, market size update, référence HC00072-004, 2011
- ¹³ Site Clinicaltrial.gov (Consulté le 18 novembre 2011), Rituximab clinical studies. Adresse URL: <http://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=rituximab>
- ¹⁴ Datamonitor, Biosimilars market entry strategies, référence HC00149-003, 2011
- ¹⁵ Mayer G. Immunology, Chapter four, Immunogloblins – Structure and functions, 2006
- ¹⁶ Site Masterbiologie.fr (Consulté le 29 mars 2012) Dysfonctionnements cellulaires à l'origine du processus tumoral. Adresse URL: http://www.masterbiologie.fr/M1_web/index2.php?id=5&p=8
- ¹⁷ Sibilia J, Sordet C. Le Rituximab: une biothérapie originale dans les maladies auto-immunes, 2004
- ¹⁸ Site Medicalook.com (Consulté le 21 novembre 2011), Adresse URL: http://www.medicalook.com/Joint_pain/Rheumatoid_arthritis.html
- ¹⁹ Site Mabthera.com (Consulté le 21 novembre 2011). www.mabthera.com
- ²⁰ Smith M.R. Rituximab (monoclonal anti CD20 antibody): mechanisms of action and resistances, Oncogene (2003) 22, 7359-7368
- ²¹ Friedberg J. W. Unique toxicities and resistance mechanisms associated with monoclonal antibody therapy, American Society of Hematology, 2005
- ²² Descotes J. Immunotoxicity of monoclonal antibodies, Landes Bioscience (2009) 104-111

-
- ²³ Immunogenicity of biologicals, New diagnostic tests, Site www.biologicals.sanguin.nl (consulté le 2 décembre 2011)
- ²⁴ Maini RN, Breedveld FC, Kalden JR, et al, Therapeutic efficacy of multiple intravenous infusions of anti-tumor necrosis factor alpha monoclonal antibody combined with low-dose weekly methotrexate in rheumatoid arthritis, *Arthritis Rheum* (1998) 41:1552-63.
- ²⁵ Assessment report for Mabthera, EMA, Procedure No.: EMEA/H/C/000165/II/0065,2010
- ²⁶ Saldanha J.W., Humanization of recombinant antibodies, Cambridge University Press (2008) 978-0-521-88732-8
- ²⁷ Bellet D., Dangles-Marie V., Anticorps humanisés en thérapeutiques (2005) *M/S : médecine sciences*, vol. 21, n° 12, p. 1054-1062
- ²⁸ Robak T., Robak E., New anti CD20 Mab for treatment of B cells Lymphoid malignancies, *Biodrugs* (2011) 25 (1): 13-25
- ²⁹ Negrea G., Elstrom R., Allen S., Rai K., Abbasi R., Farber C.M., Teoh N., Horne H., Wegener W.A., Goldenberg D.M., Subcutaneous injections of low-dose veltuzumab (humanized anti-CD20 antibody) are safe and active in patients with indolent non-Hodgkin's lymphoma (2011), 10.3324/haematol.2010.037390
- ³⁰ Genovese M. C., Kaine J., Lowenstein M.B., Del Giudice J., Baldassare A., Schechtman J., Fudman E., Kohen M., Gujrathi S., Trapp R.G., Sweiss N.D., Spaniolo G., Dummer W., for the ACTION Study Group, Ocrelizumab, a Humanized Anti-CD20 Monoclonal Antibody, in the Treatment of Patients With Rheumatoid Arthritis. A Phase I/II Randomized, Blinded, Placebo-Controlled, Dose-Ranging Study (2008), *Arthritis and rheumatism* Vol. 58, No. 9, September 2008, pp 2652–2661
- ³¹ Roche Media Release, Roche and Biogen Idec announce their decision to discontinue the ocrelizumab clinical development program in patients with rheumatoid arthritis, 2010
- ³² Roche Communiqué de presse, Une étude de phase II a montré que l'ocrelizumab a permis de conserver une activité pathologique significativement réduite pendant près de deux ans chez des patients atteints de sclérose en plaques, 2011
- ³³ Van Meerten T., Rozemuller H., Hol S., Moerer P., Zwart M., Hagenbeek A., Mackus W.J.M, Parren P.W.H.I., Van Winkel J.G.J, Ebeling S.B., Martens A.C., HuMab-7D8, a monoclonal antibody directed against the membrane-proximal small loop epitope of CD20 can effectively eliminate CD20low expressing tumor cells that resist rituximab- mediated lysis (2010) 10.3324/haematol.2010.025783
- ³⁴ Avis de la Commission de la Transparence, Arzerra Traitement de la leucémie lymphoïde chronique (LLC) chez les patients réfractaires à la fludarabine et à l'alemtuzumab, HAS, 2010. Adresse URL: www.has.fr
- ³⁵ Jefferies R., Glycosylation as a strategy to improve antibody-based therapeutics (2009), *Nat Rev Drug Discov.*;8(3):226-34
- ³⁶ Abes R., Teillaud J.L., Impact of Glycosylation on Effector Functions of Therapeutic IgG (2010), *Nat Rev Drug Discov.*;8(3):226-34.
- ³⁷ Umana P., Jean-Mairet J., Moudry R., Amstutz H., Bailey J.E., Engineered glycoforms of an antineuroblastoma IgG1 with optimized antibody-dependent cellular cytotoxic activity (1999), *Nat. Biotechnol.* 17, 176–180
- ³⁸ Dalle S., Reslan L., Besseyre de Horts T., et al., Preclinical studies on the mechanism of action and the anti-Lymphoma activity of the novel anti-CD20 antibody GA101 (2011), *Mol Cancer Ther* 2011;10:178-185
- ³⁹ Roche Investor Update, First head to head study shows higher response rates for GA101 vs. Mabthera / Rituxan without appreciable differences in safety in common type of blood cancer (Dec 2011)

-
- ⁴⁰ Le Garff-Tavernier M., Decocq J., De Romeuf J., Parizot C., Dutertre CA., Chapiro E., Davi F., Debre P., Prost JF., Teillaud JL., Merle-Beral H. and Vieillard V., Analysis of CD16+ CD56dim NK cells from CLL patients: evidence supporting a therapeutic strategy with optimized anti-CD20 monoclonal antibodies (2011), *Leukemia* (2011) 25, 101–109
- ⁴¹ Site Clinicaltrial.gov (Consulté le 2 janvier 2012), LFB R603 clinical studies, Adresse URL: <http://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=lfb+R603>
- ⁴² Site Sandoz-biosimilars (Consulté le 8 janvier 2012), Adresse URL: <http://www.sandoz-biosimilars.com/biosimilars/index.shtml>
- ⁴³ Site Tevapharm.com, biopharmaceuticals pipeline (consulté le 8 janvier 2012), Adresse URL: <http://www.tevapharm.com/Products/ProductsPipeine/Pages/default.aspx>
- ⁴⁴ Site Novartis.com, biosimilars pipeline (consulté le 8 janvier 2012), Adresse URL: <http://www.novartis.com/innovation/research-development/clinical-pipeline/index.shtml>
- ⁴⁵ Landrieu V, Lesechos.fr, Roche enclenche une OPA hostile à 5,7 milliards de dollars sur Illumina
Illumina est l'un des principaux fournisseurs de systèmes intégrés pour le séquençage de l'ADN (2012)
- ⁴⁶ Jean-Mairet J, Glycart Biotechnology, From inception to trade sales and what happened after, 2011
- ⁴⁷ Merck Schering-Plough Annual reports 2011, 2010, 2009 and 2008
- ⁴⁸ GlaxoSmithKline pipeline (Feb 2011)
- ⁴⁹ Site Genmab.com, Partnership (Consulté le 25 janvier 2012), Adresse URL: <http://www.genmab.com/en/About%20Genmab/Partnerships.aspx>
- ⁵⁰ GSK Q4 results 2011, February 2012
- ⁵¹ Immunomedics annual report 2011
- ⁵² Site Pharmalicensing.com, The LFB Group and Mabgene sign a major agreement (Consulté le 3 février 2012), Adresse URL: http://pharmalicensing.com/public/press/view/1193135440_471dcd5057dda/the-lfb-group-and-mabgene-sign-a-major-agreement
- ⁵³ GTC Biotherapeutics, Transgenic production: A validated, low-cost, highly scaleable solution for the production of difficult-to-express and high volume therapeutic proteins (2009)
- ⁵⁴ LFB Annual report, 2010
- ⁵⁵ LFB Communiqué de presse, Sanofi-Aventis et le LFB concrétisent leur projet de coopération industrielle dans le domaine de la bio-production en France, 2010
- ⁵⁶ Site Holmansbiotechblog.blogspot.com, Glaxo fires latest shot in patent battle with Genentech over therapeutic molecule antibodies, 2010
- ⁵⁷ United States District court for the Northern District of California San Francisco Division, Complaint for declaratory judgment of invalidity, unenforceability, and noninfringement, Feb 2010
- ⁵⁸ United States District court for the Northern District of California San Francisco Division, Answer and Counterclaim to the complaint for declaratory judgment of invalidity, unenforceability, and noninfringement, Mar 2010
- ⁵⁹ Biogen Annual report, 2006
- ⁶⁰ Biogen Press release, Biogen Idec announces conclusion of arbitration with Genentech, 2009
- ⁶¹ Roche Investors update, Biogen Idec and Genentech announce restructuring of anti-CD20 collaboration agreement, 2010

Université de Lille 2
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES DE LILLE
DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
Année Universitaire 2011/2012

Nom : ALSAC
Prénom : Eric

Titre de la thèse : Les anticorps monoclonaux anti-CD20 de nouvelles générations:
Entre améliorations du profil bénéfiques / risques et enjeux stratégiques

Mots-clés : Anticorps monoclonaux anti-CD20 – Rituximab – Veltuzumab – Ofatumumab –
LFB-R603 - GA101 – Humanisation – Glycoengineering – Stratégie produits

Résumé :

Le rituximab (Rituxan[®], Mabthera[®] - Roche) demeure, depuis son lancement, la référence des anticorps monoclonaux anti-CD20. Cependant, l'expiration de ses principaux brevets à partir de 2014 offre la possibilité, non seulement aux biosimilaires, mais également aux biobetter de venir se placer sur des marchés en forte croissance.

D'un point de vue clinique et d'après les premiers essais de phase II ou III, les biobetter, également appelés dans ce cas, anticorps monoclonaux anti-CD20 de nouvelles générations, permettent d'améliorer la tolérance et / ou l'efficacité du rituximab. D'une part, en diminuant l'immunogénicité par technique d'humanisation, les anticorps monoclonaux anti-CD20 de seconde génération tels que le veltuzumab (Immunomedics) ou l'ofatumumab (GSK), améliorent l'efficacité et la tolérance des traitements. D'autre part, grâce à leur oligosaccharide déterminé, les anticorps monoclonaux anti-CD20 de troisième génération tels que le GA101 (Roche) ou le LFB-R603 (LFB), améliorent également l'efficacité des traitements et permettent de contourner certaines résistances.

D'un point de vue stratégique, les enjeux représentés par le développement de ces biobetter sont importants et divers. D'une part, Roche souhaiterait bien sur limiter l'impact des biosimilaires sur le rituximab et sur son groupe en général grâce au lancement du GA101. D'autre part, GSK, Immunomedics et le LFB espèrent profiter de l'expiration des principaux brevets du rituximab pour se placer sur de nouveaux marchés et donc diversifier leurs portefeuille-produits et / ou mettre en avant leurs capacités de recherche et développement auprès d'investisseurs. L'émergence de conflits, soit entre concurrents à partir des brevets, soit entre partenaires à partir des contrats, révèlent un peu plus l'importance des opportunités offertes pour les laboratoires concernés.

Bien que l'impact des biosimilaires reste difficile aujourd'hui à appréhender, les anticorps monoclonaux anti-CD20 de nouvelles générations se placent donc comme une alternative innovante de premier choix tant d'un point de vue rapport bénéfiques / risques pour le patient que stratégique pour les laboratoires impliqués.

Membres du jury :

Président: Madame GRAS, Hélène, Professeur de l'université de Sciences
Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

Assesseur: Monsieur BERTIN, Benjamin, Maître de conférences de l'université de Sciences
Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

Assesseur: Monsieur SERGHERAERT, Eric, Maître de conférences de l'université de
Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

Membre extérieur: Monsieur COUVREUR, Stéphane, Pharmacien responsable, Bayer
Healthcare