

**THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

Soutenue publiquement le 21 juin 2016

Par M. OLIVIER Jérôme

**A PARTIR D'UN CAS D'ESPECE, LE GLYBERA®, QUELS OBSTACLES
TECHNIQUES OU REGLEMENTAIRES FAUDRA-T-IL SURMONTER POUR QUE
LA THERAPIE GENIQUE IN VIVO ENTRE REELLEMENT DANS L'ARSENAL
THERAPEUTIQUE ?**

Membres du jury :

Président : Gras, Hélène, Professeur de chimie thérapeutique, Université Droit et Santé Lille 2

Assesseur(s) : Sergheraert, Eric, Professeur en droit et économie pharmaceutique, Université Droit et Santé Lille 2

Membre(s) extérieur(s) : Migliarese-Caputi, Victoire, Docteur en pharmacie



Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE

Université Lille 2 – Droit et Santé

Président :	Professeur Xavier VANDENDRIESSCHE
Vice- présidents :	Professeur Alain DUROCHER
	Professeur Régis BORDET
	Professeur Eric KERCKHOVE
	Professeur Eric BOULANGER
	Professeur Frédéric LOBEZ
	Professeur Damien CUNY
	Professeur Benoit DEPRez
	Professeur Murielle GARCIN
	Monsieur Pierre RAVAUX
	Monsieur Larbi AIT-HENNANI
	Monsieur Antoine HENRY
Directeur Général des Services :	Monsieur Pierre-Marie ROBERT

Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Doyen :	Professeur Damien CUNY
Vice-Doyen, 1 ^{er} assesseur :	Professeur Bertrand DECAUDIN
Assesseur en charge de la pédagogie	Dr. Annie Standaert
Assesseur en charge de la recherche	Pr. Patricia Melnyk
Assesseur délégué à la scolarité	Dr. Christophe Bochu
Assesseur délégué en charge des relations internationales	Pr. Philippe Chavatte
Assesseur délégué en charge de la vie étudiante	M. Thomas Morgenroth
Chef des services administratifs :	Monsieur Cyrille PORTA

Liste des Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie
Mme	CAPRON	Monique	Immunologie
M.	DECAUDIN	Bertrand	Pharmacie Galénique

M.	DINE	Thierry	Pharmacie Clinique
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie
M.	DUTHILLEUL	Patrick	Hématologie
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie
M.	LUYCKX	Michel	Pharmacie Clinique
M.	ODOU	Pascal	Pharmacie Galénique
M.	DEPREUX	Patrick	Chimie Organique (ICPAL)

Liste des Professeurs des Universités

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Physique
M.	BERTHELOT	Pascal	Chimie Thérapeutique 1
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie – Pharmacie Clinique
M.	CHAVATTE	Philippe	Chimie Thérapeutique 2
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences Végétales et Fongiques
M.	CUNY	Damien	Sciences Végétales et Fongiques
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Physique
M.	DEPREZ	Benoît	Chimie Générale
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie Générale
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences Végétales et Fongiques
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie
Mme	GAYOT	Anne	Pharmacotechnie Industrielle
M.	GOOSSENS	Jean François	Chimie Analytique
Mme	GRAS	Hélène	Chimie Thérapeutique 3
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie Cellulaire
M.	LUC	Gerald	Physiologie
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie Thérapeutique 2
Mme	MUHR – TAILLEUX	Anne	Biochimie
Mme	PAUMELLE- LESTRELIN	Réjane	Biologie Cellulaire
Mme	PERROY MAILLOLS	Anne Catherine	Droit et économie Pharmaceutique
Mme	ROMOND	Marie Bénédicte	Bactériologie
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie
M.	SERGHÉRAERT	Eric	Droit et économie Pharmaceutique
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie Industrielle
M.	STAELS	Bart	Biologie Cellulaire
M	TARTAR	André	Chimie Organique
M.	VACCHER	Claude	Chimie Analytique
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie Organique
M.	MILLET	Régis	Chimie Thérapeutique (ICPAL)

Liste des Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	BALDUYCK	Malika	Biochimie
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie
M.	LANNOY	Damien	Pharmacie Galénique
Mme	ODOU	Marie Françoise	Bactériologie
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacie Galénique

Liste des Maitres de Conférences

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	AGOURIDAS	Laurence	Chimie Thérapeutique 2
Mme	ALIOUAT	Cécile Marie	Parasitologie (90%)
M.	ANTHERIEU	Sébastien	Toxicologie
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie
Mme	BANTUBUNGI	Kadiombo	Biologie Cellulaire
Mme	BARTHELEMY	Christine	Pharmacie Galénique
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie
M	BELARBI	Karim	Pharmacologie
M.	BERTHET	Jérôme	Physique
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie Industrielle
M.	BOCHU	Christophe	Physique
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie
Mme	CACHERA	Claude	Biochimie
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie
Mme	CARON	Sandrine	Biologie Cellulaire (80%)
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie (80%)
Mme	CHARTON	Julie	Chimie Organique (80%)
M	CHEVALIER	Dany	Toxicologie
M.	COCHELARD	Dominique	Biomathématiques
Mme	DANEL	Cécile	Chimie Analytique
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie (80%)
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques
Mme	DUMONT	Julie	Biologie Cellulaire
M.	FARCE	Amaury	Chimie Thérapeutique 2
Mme	FLIPO	Marion	Chimie Organique
Mme	FOULON	Catherine	Chimie Analytique
M.	GELEZ	Philippe	Biomathématiques
Mme	GENAY	Stéphanie	Pharmacologie Galénique
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie
Mme	HAMOUDI	Chérifa Mounira	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie

M.	KAMBIA	Kpakpaga Nicolas	Pharmacologie
M.	KARROUT	Youness	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie Thérapeutique 1
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie Analytique
Mme	LEHMANN	Hélène	Droit et Economie Pharmaceutique
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie Analytique
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie
M.	MOREAU	Pierre Arthur	Sciences végétales et fongiques
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	NEUT	Christel	Bactériologie
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques
M.	PIVA	Frank	Biochimie
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques
Mme	RIVIERE	Céline	Pharmacognosie
Mme	ROGER	Nadine	Immunologie
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie
M.	WILLEMAGNE	Baptiste	Chimie Organique
M.	WELTI	Stéphane	Sciences Végétales et Fongiques
M.	YOUS	Saïd	Chimie Thérapeutique 1
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques
M.	FURMAN	Christophe	Pharmacobiochimie (ICPAL)
Mme	GOOSSENS	Laurence	Chimie Organique (ICPAL)
Mme	LELEU-CHAVAIN	Natascha	ICPAL

Professeurs Agrégés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	MAYES	Martine	Anglais
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et Economie Pharmaceutique

Professeurs Certifiés

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

Professeur Associé - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	DHANANI	Alban	Droit et Economie Pharmaceutique

Maîtres de Conférences ASSOCIES - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	BERTOUX	Elisabeth	Pharmacie Clinique - Biomathématiques
M.	BRICOTEAU	Didier	Biomathématiques
M.	CUCCHI	Malgorzata	Information Médicale
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacie Clinique
M.	GILLOT	François	Droit et économie Pharmaceutique
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacie Clinique
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques

AHU

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	DEKYNDT	Bérengère	Pharmacie Galénique
M.	PEREZ	Maxime	Pharmacie Galénique

Remerciements

A ma présidente et directrice de thèse, Madame Hélène Gras, Professeur de chimie thérapeutique à la faculté de pharmacie de Lille

Pour l'honneur que vous me faites de présider cette thèse, veuillez trouver ici l'expression de ma sincère reconnaissance.

Pour tous vos conseils lors de la 5^{ème} année industrie, pour m'avoir proposé ce sujet, pour avoir accepté de diriger ce travail et pour le temps que vous m'avez accordé malgré votre planning chargé, pour votre patience (4 ans pour finaliser une thèse c'est long !!!) veuillez trouver ici mes sincères remerciements.

A mon co-directeur de thèse, Monsieur Eric Sergheraert, Professeur de droit et économie pharmaceutique

Pour avoir accepté de faire partie de ce jury, pour le très bon master que vous dirigez et qui m'a permis d'être armé pour l'industrie pharmaceutique veuillez trouver ici mes sincères remerciements.

Au membre extérieur à la faculté, Mademoiselle Victoire Migliarese-Caputi, Pharmacien d'officine à Boulogne Billancourt

Pour l'honneur que tu me fais de siéger parmi les membres du jury, je te prie de trouver ici l'expression de ma sincère reconnaissance. Merci pour les relectures de dernières minutes.

Je dédie cette thèse :

A mes parents, mes grands-parents et mon frère, qui m'ont soutenu aussi bien financièrement que moralement tout au long de ces études. Qui m'ont accompagné dans mes choix et m'ont permis d'être l'homme que je suis aujourd'hui.

Merci

A mes ami(e)s,

Ceux rencontrés en première année : Val, Chloé, Q, Jean-mich, Alex, Bibi, Bébé

Ceux rencontrés plus tard : Fanny, Ester, Constance, Pauline, Laure-Elie, Aude

Pour ces années passées à vos côtés que ce soit sur les bancs des amphis, à la BU, à la cafèt', en soirées ou en vacances. La suite reste à écrire...

Petit clin d'œil à mon ex coloc ! Tu sais maintenant il est trop tard pour écrire ton nom en bas !

Une mention spéciale à ma fiancée « chouchou » qui m'accompagne et rend ma vie plus belle au quotidien. Merci pour ton soutien et le grain de folie que tu amènes dans ma vie.

**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.f>

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

Table des matières

I.	Introduction	13
II.	La thérapie génique	14
A.	Science et thérapie génique	14
1.	Qu'est-ce que la thérapie génique ?	14
2.	Les modalités techniques de la thérapie génique	14
B.	Les échecs et les succès de la thérapie génique	21
1.	1970 : Premiers pas de la thérapie génique	21
2.	1980 : Essai clinique et ADN recombinant	22
3.	1990 : 1 ^{er} mort dans un essai de thérapie génique	22
4.	2000 : 1 ^{er} succès de la thérapie génique (utilisation de vecteur rétroviral)	23
5.	2003 : Utilisation de vecteurs dérivés du VIH	24
6.	2008 : 1 ^{ère} demande d'AMM	24
7.	2010 : 2 ^{ème} succès de la thérapie génique	24
8.	2012 : Première AMM pour un médicament de thérapie génique en Europe	25
C.	La réglementation encadrant la thérapie génique	26
1.	Définition réglementaire de la thérapie génique	26
2.	L'autorisation de recherche en thérapie génique	27
3.	Essai clinique de thérapie génique	31
4.	L'autorisation de mise sur le marché d'un médicament de thérapie génique	35
5.	Les mesures incitatives au développement de la thérapie génique	38
III.	Cas concret : exemple du Glybera®	43
A.	Qu'est-ce que Glybera® ?	43
B.	Qu'est-ce que la déficience en lipoprotéine lipase (LPLD) ?	43
C.	Composition et mécanisme d'action du Glybera®	44
1.	Composition et production du vecteur	44
2.	Structure	45
3.	Mécanisme d'action du Glybera®	45
D.	De la preuve de concept aux développements précliniques de la thérapie génique dans la LPLD ?	46
1.	Preuve de principe de la thérapie génique dans la LPLD	46
2.	Test chez le félin homozygote	46
3.	Développement préclinique	47
E.	Le développement clinique de Glybera®	48
1.	Phase I / II (CT- AMT- 010-01)	48

2.	Phase II / III (CT-AMT-011-01).....	50
3.	Phase II / III (CT-AMT-011-02).....	51
4.	CT-AMT-011-03	53
5.	La demande d'AMM	54
6.	Données à fournir pour la réévaluation annuelle du rapport bénéfice / risque	57
7.	Prix du Glybera®.....	57
8.	Le Glybera® constitue-t-il une avancée ?	59
IV.	Conclusion.....	62

Glossaire

AAV	Adenoviral Associated Virus
ADA	Adénosine désaminase
AEC	Autorisation d'Essai Clinique
AMM	Autorisation de Mise sur le Marché
ANSM	Agence National de Sécurité des Médicaments
ATU	Autorisation Temporaire d'Utilisation
CAT	Committee for Advanced Therapy
CFTR	Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator
CHMP	Committee for Medicinal Products for Human Use
CMH	Complexe Majeur d'Histocompatibilité
CPP	Comité de Protection des Personnes
EMA	European Medicinal Agency
HCB	Haut Conseil des Biotechnologies
LPL	Lipoproteine Lipase
MGM	Micro-organisme Génétiquement modifié
NIH	National Institut of Health
OGM	Organisme Génétiquement Modifié
PME	Petites et Moyennes Entreprises
SAWP	Scientific Advice Working Party
WPRE	Woodchuck Hepatitis Virus Post transcriptional Regulatory Element

I. Introduction

Malgré les progrès constants que fait la chimie de synthèse pour mettre au point de nouvelles molécules à usage thérapeutique, certaines pathologies se trouvent néanmoins dépourvues de traitements efficaces. L'avènement du génie génétique et le développement des organismes génétiquement modifiés (OGM) a permis de révéler la thérapie génique comme nouvelle technique médicale prometteuse qui permettrait de réussir là où les thérapeutiques usuelles ont échoué.

La thérapie génique se caractérise par l'introduction délibérée de matériel génétique dans des cellules humaines dans le but de remplacer un gène déficient ou de pallier au manque d'une protéine d'intérêt en apportant le gène responsable de sa synthèse. Bien que l'expression génique ne dépende pas uniquement du gène, il est apparu au cours des 40 dernières années que manipuler les gènes pouvait modifier favorablement le fonctionnement de la cellule pour une utilisation en thérapeutique en agissant directement à la source du processus pathologique¹. La thérapie génique utilise pour se faire des OGM qui sont des vecteurs extrêmement décriés de par la méconnaissance de leurs effets sur la santé humaine et leurs potentielles dangers. Malgré de grandes avancées ces dernières années pour parvenir à un transfert de gène efficace, durable et sûr, ce n'est qu'en 2012 que le Glybera® premier médicament de thérapie génique *in vivo* a été autorisé sur le marché européen après plus de 3 ans de démarche réglementaire et 3 refus de mise sur le marché consécutifs².

Nous verrons au cours de ce travail la route empruntée et les obstacles rencontrés par le Glybera® depuis ses essais cliniques jusqu'à son AMM pour enfin en déduire les obstacles (scientifiques, économiques, réglementaires) que devront franchir les industriels de la santé qui s'aventurent sur le chemin escarpé de la thérapie génique pour enfin arriver à mettre sur le marché ces médicaments.

II. La thérapie génique

A. Science et thérapie génique

1. Qu'est-ce que la thérapie génique ?

Une pathologie peut avoir différentes origines, bactérienne, virale, parasitaire, elle est alors causée par un agent extérieur au corps humain. Une pathologie peut être due à une déficience génétique et dans ce cas elle est incluse dans le génome de la personne par la présence d'un gène anormal provoquant l'absence de production d'une protéine fonctionnelle. La mucoviscidose est un exemple bien connu de pathologie génétique où les patients présentent une mutation sur le gène CFTR qui code pour la protéine du même nom impliquée dans le transport membranaire du chlore dans les cellules pulmonaires. Le dysfonctionnement de la protéine CFTR provoque une augmentation de la viscosité du mucus et son accumulation dans les voies respiratoires du patient pouvant aller jusqu'à une insuffisance respiratoire chronique. Aucune thérapie médicamenteuse ne permet actuellement de guérir de la mucoviscidose. Les traitements existants sont symptomatiques (anti-inflammatoires, fluidifiants bronchiques, bronchodilatateurs, antibiotiques...) et permettent de maintenir une fonction respiratoire la plus performante possible en attendant une greffe de poumon, qui est actuellement la seule solution pour « guérir » cette pathologie.

Pour lutter contre ce désert thérapeutique des méthodes de traitement sont en cours de développement pour tenter de guérir ces pathologies génétiques et la thérapie génique en fait partie.

La thérapie génique consiste à apporter par l'intermédiaire d'un vecteur, des gènes dans les cellules humaines afin de guérir des pathologies qui sont provoquées par la présence de gènes défectueux ou l'absence de gènes dans les cellules.

2. Les modalités techniques de la thérapie génique

La thérapie génique utilise pour libérer le gène médicament, des stratégies et des modalités multiples qui varient selon le but recherché (complémentation ou réparation), le type de nucléotide transféré (ADN complémentaire, ADN génomique,

oligonucléotide synthétique ou chimère d'ADN et d'ARN), le vecteur d'administration utilisé (viral ou non viral) et enfin le protocole clinique retenu (administration du transgène *in vivo* ou *ex vivo* dans des cellules préalablement prélevées et purifiées). Au final, il n'existe pas une thérapie génique applicable dans toutes les situations mais au contraire une multitude de thérapie génique où chaque indication nécessite de bâtir une stratégie comportant un gène particulier, un vecteur particulier et une technique de transfert adaptée tout en maintenant une innocuité pour l'individu et l'environnement^{3,6}.

a) Méthode d'administration des vecteurs

Les protocoles de thérapie génique varient en fonction des indications et des objectifs thérapeutiques à atteindre. Cependant, ils consistent toujours à modifier génétiquement les cellules du patients, *ex vivo* ou *in vivo*, de façon pérenne ou transitoire.

Ainsi, dans le cas d'une maladie monogénique qui affecte par exemple les cellules sanguines, des cellules souches hématopoïétiques sont prélevées chez le patient. Celles-ci sont ensuite modifiées *ex vivo* par l'intermédiaire d'un vecteur qui amène un transgène thérapeutique, puis elles sont placées en culture pendant quelques jours. Lorsque les cellules commencent à exprimer le gène thérapeutique, elles sont finalement réinjectées au patient. Les cellules modifiées vont alors proliférer dans l'organisme du patient et contribuer à le soigner. L'avantage de cette approche est de modifier une population de cellules bien précise, sans risque de voir le vecteur pénétrer dans des organes non ciblés³.

Malgré tout, il n'est pas toujours possible de prélever les cellules à corriger, comme les cellules cardiaques ou neuronales. D'autres protocoles de thérapie génique prévoient alors d'injecter directement le vecteur contenant le transgène directement dans les organes cibles *in situ* ou dans la circulation sanguine *in vivo*. Avec ces stratégies, le risque est une dissémination du transgène moins maîtrisée et des doses plus importantes à injecter pour compenser cette dissémination^{3,4,5}.

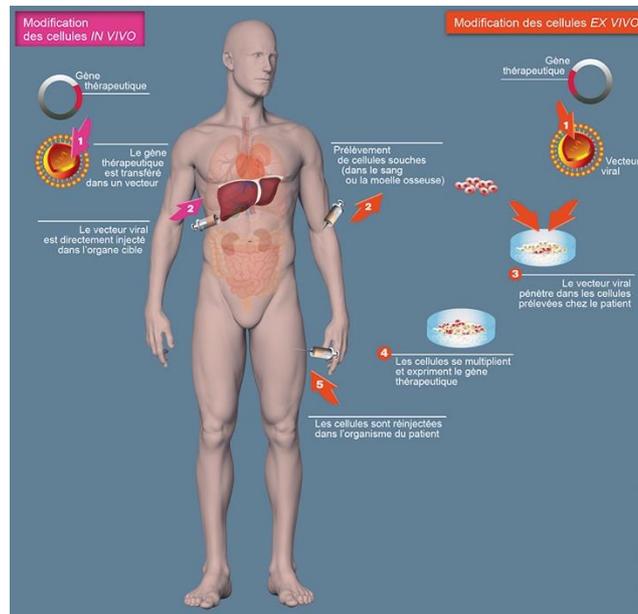


Figure 1 : Schéma explicatif de la thérapie génique *in vivo* et *ex vivo*³

Qu'elle soit *in vivo*, *in situ* ou *ex vivo* la thérapie génique a pour objectif de compléter en protéines ou réparer les gènes défectueux.

- **La complémentation** consiste à apporter la version du gène sain dans les cellules sans corriger *in situ* le gène défectueux. Le gène sain apporté s'intègre dans un site quelconque du génome et assure la production de protéines tout en maintenant le gène défectueux. L'objectif étant d'apporter des copies « saines » du gène défectueux pour supplémer la cellule en protéines fonctionnelles⁶.

- **La réparation** consiste à réparer le gène défectueux *in situ*. La méthode de la «chiméroplastie» consiste à transférer un oligonucléotide chimérique fait d'ADN et d'ARN qui s'hybride à la région à corriger et déclenche le processus physiologique de réparation³.

Il existe aussi la méthode du saut d'exon qui est une technique de «chirurgie du gène » utilisant des nucléases qui éliminent un ou plusieurs exons du gènes porteurs de l'anomalie afin de produire une protéine plus courte mais fonctionnelle³.

Quelle que soit la technique choisie, le vecteur joue un rôle primordial pour apporter les gènes thérapeutiques dans les cellules cibles.

b) Les différents types de vecteurs

Le développement de la thérapie génique repose sur des éléments distincts mais étroitement liés tels que la connaissance des pathologies, la connaissance des gènes responsables de ces dernières mais aussi la capacité des chercheurs à introduire efficacement et sans effets secondaires une information génétique dans des cellules pathologiques, tout en assurant une expression qui soit suffisamment stable et élevée pour être efficace. Pour cela les scientifiques cherchent à développer des vecteurs de transfert sûrs, efficaces et dont la production industrielle soit fiable et d'un coût abordable⁸.

Les vecteurs de transfert peuvent être viraux ou non viraux. Les vecteurs viraux sont utilisés dans les 2/3 des essais cliniques de thérapie génique⁷. Ils ont comme principal avantage leur grande capacité de transfection et une durée d'action longue lorsque le gène s'intègre dans le génome de la cellule. Cependant ils présentent de nombreux inconvénients comme la taille limitée de l'ADN transféré, les infections dues à la dissémination et la réplication du virus, la possibilité de recombinaison du virus administré avec un virus sauvage, l'immunogénicité vis-à-vis des protéines de l'enveloppe virale et la transformation maligne des cellules transduites³.

A contrario, les méthodes d'administration non virales éliminant tous les risques liés à l'injection d'un virus, permettent le transfert de segments d'ADN de plus grandes tailles et facilitent la production industrielle du médicament en supprimant toutes les étapes complexes relatives à la préparation et à la transformation du virus en un outil sans danger. En revanche, ces techniques non virales ont une faible efficacité de transfert et n'assurent pas une expression du transgène de longue durée⁶.

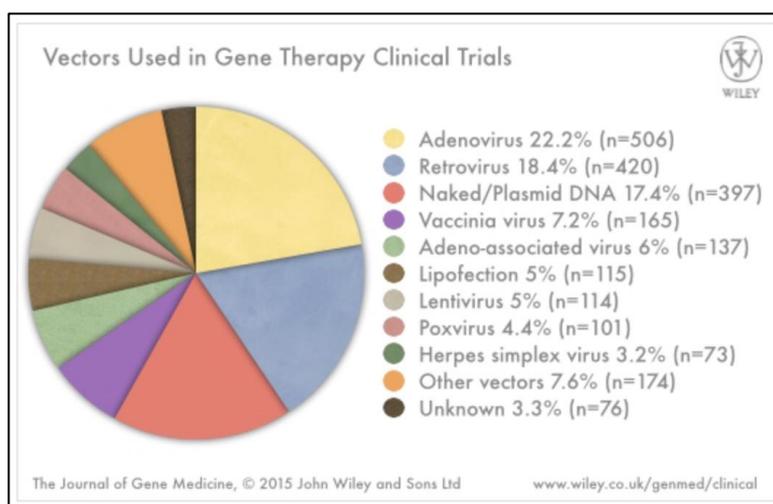


Figure 2 : Vecteurs utilisés dans les essais de thérapie génique en 2015⁷

❖ Les vecteurs viraux

Tout au long de l'évolution les virus ont élaboré et perfectionné des mécanismes performants de réplication du génome viral dans les tissus de leurs hôtes ainsi que la capacité de migrer et pénétrer dans les cellules de certains organes pour introduire leur ADN dans le noyau de ces cellules⁸. Pour cela les virus se fixent sur la membrane cytoplasmique de la cellule hôte par l'intermédiaire de la capsid pour les virus nus et par les glycoprotéines pour les virus enveloppés. Cette différence de récepteurs cellulaires explique qu'un virus donné ne peut infecter que certains types cellulaires, c'est ce que l'on appelle le « tropisme cellulaire ».

Il est important de comprendre que pour utiliser un virus en thérapeutique, les gènes codant pour les protéines virales doivent être remplacés par le gène d'intérêt. Ainsi, le patient ne sera pas infecté par le virus mais la réplication du gène d'intérêt sera maintenue. Cette étape clé est la plus délicate du processus de production des vecteurs viraux³.

➤ Vecteurs rétroviraux

Les rétrovirus, utilisés dans 18,4%⁷ des essais cliniques de thérapie génique en 2015 sont des virus enveloppés possédant un génome à ARN monocaténaire diploïde. La qualité principale de ce type de virus est de pouvoir intégrer du matériel génétique de grande taille (8kBases)⁹ de manière permanente dans le génome des cellules hôtes sans être nocif. Pour réaliser cette intégration le vecteur utilise une rétrotranscriptase qui permet à l'ARN viral d'être transcrit en ADN monobrin, puis après hydrolyse du brin d'ARN, une copie du brin d'ADN est réalisée pour obtenir un ADN double brin. L'ADN ainsi transcrit migre dans le noyau grâce à l'intégrase virale qui l'insère dans le génome de la cellule infectée¹⁰. Le gène sera par la suite retranscrit dans toutes les cellules filles de manière mendélienne.

Malgré leurs nombreux avantages ces virus présentent un problème de spécificité. En effet, ils possèdent une forte affinité pour des récepteurs amphotropiques présents sur de nombreuses cellules. C'est pourquoi de fortes doses seront importantes pour atteindre la dose efficace. En plus de ce problème de spécificité, il est nécessaire que la cellule réceptrice soit en division active pour intégrer le gène thérapeutique. Cela peut être un avantage dans certaines pathologies comme dans

les cancers où la prolifération des cellules est très importante mais ne l'est pas dans les pathologies à réplication lente telle que la mucoviscidose¹¹.

Pour pallier à ce problème, il existe au sein des rétrovirus une sous famille capable d'infecter les cellules qui ne sont pas en voie de division : les lentivirus. Cette sous-famille fait partie des rétrovirus nocifs dont le VIH est une des espèces. Par sa capacité à infecter les cellules en voie de division non active le virus du VIH pourrait être utilisé comme vecteur et pourrait être une très bonne alternative aux autres rétrovirus. Toutefois même si l'on retire les gènes délétères il est toujours possible que ces virus redeviennent virulents par recombinaison avec d'autres virus. Ainsi, pour utiliser les capacités d'infection des cellules non actives, assurer une sécurité du vecteur et éviter la recombinaison avec d'autres virus, les scientifiques expérimentent la mise au point de vecteurs hybrides, composés principalement de rétrovirus et contenant de minuscules parties inoffensives du VIH¹².

➤ **Vecteurs adénoviraux**

Les adénovirus sont des virus non enveloppés à ADN bicaténaire dont leur grande taille (37 kbases) leur permet de contenir des gènes thérapeutiques d'une taille allant jusque 7,5 kbases.

Ils ont une affinité pour les yeux, les voies respiratoires et digestives provoquant à l'état sauvage chez l'homme des pharyngites, conjonctivites et des gastro-entérites ce qui peut impliquer la préexistence d'anticorps inhibant partiellement ou totalement l'activité du traitement utilisant ce type de vecteur. Cette réaction immunitaire liée à la préexistence d'anticorps avant l'injection de la thérapie génique peut provoquer des inflammations sévères au site d'injection allant jusqu'à la défaillance d'organe. En plus d'une diminution de l'efficacité du traitement, cette réaction rend difficile une administration répétée du médicament¹¹.

Pour lutter contre cela l'utilisation de traitement immunosuppresseur a été envisagée permettant ainsi une administration répétée¹¹.

➤ **Vecteurs adéno-associés (AAV)**

Le virus adéno-associé (ou AAV pour Adenoviral Associated Virus) est un membre de la famille des *parvovirus* (ADN simple brin et capsidie icosaédrique) du genre

dependovirus. Les termes *dependovirus* et « adénoviral associé » viennent du fait que l'AAV ne peut se répliquer ni former sa capsid dans la cellule infectée sans l'aide d'un autre virus auxiliaire co-infectant la cellule comme par exemple l'adénovirus, ou encore le virus de l'herpès ou de la vaccine. On parle dans ce cas de fonction « helper ».

Les vecteurs dérivés de virus adéno-associés ont un génome de 4,5 kbases permettant le transfert de petites séquences génétiques (4kbases).

Les AAV ont la capacité d'infecter les cellules en voie de division ou non, sont peu inflammatoires et ont une durée d'expression longue des transgènes ce qui les rend très intéressant en thérapie génique. Ce type de vecteur est d'ailleurs utilisé par le Glybera®, unique médicament de thérapie génique autorisé en Europe³.

	Adenovirus	AAV	Retrovirus/lentivirus
Family	Adenoviridae	Parvoviridae	Retroviridae
Genome	dsDNA	ssDNA	ssRNA ⁺
Infection/tropism	Dividing and nondividing cells	Dividing and nondividing cells	Dividing cells
Host genome interaction	Nonintegrating	Nonintegrating	Integrating
Transgene expression	Transient	Potential long lasting	Long lasting
Packaging capacity	7.5 kb	4.5 kb	8 kb
dsDNA, double-stranded DNA; ssDNA, single-stranded DNA. Source: Gene Therapy Net < http://www.genetherapynet.com/viral-vectors.html >			

Figure 3 : Caractéristiques des principaux vecteurs viraux⁹

❖ Vecteurs non viraux

Les vecteurs viraux présentent une bonne efficacité mais une immunogénicité importante, des vecteurs non viraux ont donc été développés pour répondre à deux problématiques : une meilleure sécurité des vecteurs et le transport de grandes quantités d'ADN^{3,11}.

Ainsi des systèmes purement chimiques ont été développés : transfert par des liposomes ; condensation de l'ADN sur des lipides cationiques, des polymères ou des peptides ; injection directe de l'ADN nu dans l'organe ciblé.

Les systèmes non viraux actuels sont mal adaptés à l'injection par voie systémique car ils nécessitent l'injection de quantité importante de vecteurs pour obtenir une dose efficace. En revanche, ils restent très attrayants pour les traitements par voie locale : traitement des artères, aérosol pour traitement pulmonaire, injection intratumorale¹³. Actuellement 20% des essais cliniques⁷ de thérapie génique font

appel à des vecteurs non viraux de gènes, mais nombreux sont les problèmes encore non résolus, en particulier concernant la biodisponibilité, l'efficacité de transfection et la durée d'expression des transgènes¹³.

Conclusions

Les pathologies visées par la thérapie génique sont nombreuses et ont chacune des spécificités propres qui nécessitent comme nous l'avons vu précédemment des vecteurs avec des caractéristiques spécifiques pour amener le gène thérapeutique. Certains vecteurs comme les AAV ont prouvés leurs efficacités mais nous sommes encore bien loin de maîtriser cette technique de transfert. Il est illusoire de croire qu'un type de vecteur unique pourra être utilisé pour toutes les pathologies. C'est pourquoi les différents types de vecteurs viraux ou non viraux doivent continuer à être étudiés afin que cette technique de transfert soit totalement maîtrisée et qu'on puisse bénéficier dans le futur d'un panel large de vecteurs selon la pathologie et le type de cellules visées.

B. Les échecs et les succès de la thérapie génique

1. 1970 : Premiers pas de la thérapie génique

Les débuts de la thérapie génique ont commencé en 1970 avant même l'apparition des outils d'ADN recombinant. Stanfield Rogers et ses collègues du laboratoire national d'Oak Ridge dans le Tennessee aux Etats Unis ont entrepris une tentative de thérapie génique en administrant une source sauvage de Shope Papillomavirus à deux jeunes sœurs sévèrement handicapées par un désordre du métabolisme de l'urée appelé hyperargininémie. Ce trouble génétique provoque une carence en arginase qui a pour conséquence l'accumulation de l'urée dans le sang, provoquant des accidents vasculaires cérébraux et des affaiblissements mentaux.

Cette expérience n'a pas été couronnée de succès car l'hypothèse de départ été erronée. En effet l'équipe de Stanfield Rogers pensaient qu'en injectant le virus sauvage dans le corps humain celui-ci allait produire de l'enzyme arginase et ainsi corriger le trouble génétique des deux filles¹⁴.

2. 1980 : Essai clinique et ADN recombinant

Martin Cline de l'université de Californie à Los Angeles (UCLA) a conduit le 1^{er} essai clinique de thérapie génique impliquant de l'ADN recombinant. Les cellules de la moelle osseuse de deux patients qui souffraient de Beta-Thalassémie ont été isolées et transformées avec le gène de la Beta Globuline humaine. Pour cela, le gène viral de la thymidine kinase permettant de booster la capacité de réplication des cellules transformées a été inclus dans le vecteur viral. Toutefois, il est apparu au moment de l'étude que le comité de révision de l'essai n'avait pas été informé que le protocole impliquait la délivrance d'ADN recombinant. Suite à cela Cline a été sanctionné par le NIH pour infraction de la réglementation fédérale sur l'expérimentation humaine et des guidelines sur la recherche concernant l'ADN recombinant⁹.

Peu après, les docteurs Michael Blaese, French Anderson et leurs collègues du NIH ont réalisé le 1^{er} vrai essai de thérapie génique approuvé chez des patients en transférant le gène encodant pour l'ADA dans les Lymphocyte T de deux enfants souffrant du Déficit Immunitaire Combiné Sévère par l'intermédiaire d'un vecteur rétroviral. Dans cette pathologie, le système immunitaire est inexistant, obligeant les patients à rester dans des bulles stériles pour éviter d'être contaminés par des microbes. Le traitement a prouvé sa sécurité mais pas l'efficacité. En effet, un des deux patients, Ashanti DeSilva a répondu temporairement au traitement tout en prenant en parallèle des enzymes de substitution ce qui rend difficile l'évaluation de l'efficacité de cette expérience. D'autre part l'efficacité a été trop limitée pour le deuxième patient⁹.

3. 1990 : 1^{er} mort dans un essai de thérapie génique

L'expérience réalisée par Michael Blaese, French Anderson et leurs équipes avait donné beaucoup d'espoir sur les possibilités de la thérapie génique cependant en 1999 la thérapie génique fut confrontée à un revers.

Jesse Gelsinger, un jeune patient âgé de 18 ans souffrant d'une Déficience en Ornithine Carbamyl Transferase (OTCD), pathologie génétique provoquant des troubles du cycle de l'urée par manque ou inexistence de l'enzyme ornithine carbamylase est impliqué en 1999 dans un essai clinique de thérapie génique dans lequel un vecteur adénoviral est utilisé pour introduire le gène encodant l'ornithine transcarbamylase aux cellules déficientes. Le traitement provoque alors une réponse

inflammatoire chez Jesse suivi d'une déficience pulmonaire, d'une défaillance de multiple organes et sa mort 4 jours après le début du traitement. Jesse est le premier patient à mourir dans un essai de thérapie génique de par la toxicité du vecteur.

A la suite de l'essai, une enquête a mis en évidence des violations de protocoles et des défaillances à reporter les effets indésirables par les équipes responsables de l'essai. Le rapport d'enquête indique que l'état du foie de Jesse Gelsinger avant de recevoir le vecteur présentait des signes critiques qui auraient dû écarter le jeune garçon de l'étude.

James Wilson, directeur du IHGT (Institut for Human Gene Therapy) qui dirigeait les investigateurs de cet essai, a été suspendu de la recherche clinique pour 5 ans, l'université de Pennsylvanie et the Children's National Medical Center à Washington DC qui étaient partenaire de l'essai clinique ont dû payer une amende de plus de 500 000 \$ chacun⁹.

4. 2000 : 1^{er} succès de la thérapie génique (utilisation de vecteur rétroviraux)

Dix ans après la mort de Jesse Gelsinger, la thérapie génique connaît son 1^{er} vrai succès. Ainsi en 2000, l'équipe du Professeur Alain Fischer et Marina Cavazzana-Calvo de l'hôpital Necker de Paris ont amélioré l'état de santé d'enfants atteints d'un Déficit Immunitaire Combiné Sévère lié à l'X (DICS-X)¹⁵, maladie génétique caractérisée par une déficience en Lymphocyte T et Lymphocytes tueurs dont les enfants souffrant de cette pathologie ne peuvent pas se défendre contre les agents infectieux et décèdent généralement dans la première année de vie. Ces enfants sont appelés bébés bulles car ils doivent être maintenus dans des caissons stériles afin de limiter leur contact avec les agents infectieux extérieurs.

L'essai réalisé par le Professeur Fischer et Cavazzana-Calvo à impliqué 20 enfants (10 en France et 10 en Grande Bretagne) pour qui les cellules de la moelle osseuse ont été modifiées par transfert du gène encodant la chaîne γ du récepteur à l'interleukine 2 par l'intermédiaire d'un vecteur rétroviral murin.

Malgré les bons résultats observés ce traitement ne s'est pas avéré miraculeux puisque parmi les 20 enfants qui ont participé à cet essai, 5 ont à la suite du traitement développé une leucémie dont 4 ont guéris et un est décédé. L'essai a alors été arrêté pour identifier les origines de ces effets. L'enquête a indiqué que les leucémies sont apparues après l'activation de proto-oncogènes (mutagénèse

insertionnelle) favorisant la prolifération des lymphocytes T à cause d'une séquence encodée par le vecteur viral. Les essais ont pu reprendre mais en utilisant des nouveaux vecteurs modifiés¹⁵.

Lors d'une interview réalisé le 26 avril 2011 par David Bême et Florence Lemaire pour Doctissimo le docteur Alain Fischer annonçait « *Cela fait maintenant 12 ans que les premiers enfants ont été traités, ce sont de jeunes adolescents qui vont bien, leur système immunitaire fonctionne normalement ce qui leur permet d'avoir une vie normale comme les jeunes de leurs âges.* »¹⁶

5. 2003 : Utilisation de vecteurs dérivés du VIH

Carl June, Boro Dropulic et leurs collègues de l'université de Pennsylvanie ont réalisés quant à eux le 1^{er} essai clinique de thérapie génique impliquant des lentivirus.

La phase 1 de l'étude chez des patients séropositifs au VIH et dont le traitement antiviral a échoué, évaluait la sécurité d'un vecteur dérivé du VIH exprimant une séquence contre le gène de l'enveloppe du VIH⁹.

6. 2008 : 1^{ère} demande d'AMM

Ark Therapeutics a demandé l'AMM pour Cerepro® (stimugene ceradenovec) dans le gliome malin, mais reçu un an plus tard un avis négatif de la part du Comité des médicaments à usage humains, citant un rapport bénéfices/risques négatif en raison d'une efficacité insuffisante, des risques d'hémi-parésie (légère paralysie d'un côté) et de convulsions. Cerepro® est composé de l'HSV thymidine kinase (TK) codée par un vecteur adénoviral déficient pour la réplication (suppression des régions E1 et E3). Il doit être injecté dans le cerveau immédiatement après l'ablation chirurgicale de la tumeur. Après l'injection de Cerepro® qui amène un gène suicide on injecte la prodrogue du ganciclovir qui aboutit à la production d'un métabolite toxique qui empêche la réplication d'ADN dans les cellules en division et évite la prolifération des cellules pathogènes¹⁷.

Malgré son refus d'AMM l'ANSM a autorisé une ATU nominative au Cerepro® en février 2009.

7. 2010 : 2^{ème} succès de la thérapie génique

En 2010 un jeune homme de 18 ans atteint de la β -thalassémie β^E/β^0 avec un gène permettant la synthèse d'une β -globine instable β^E et un gène non fonctionnel β^0 a été impliqué dans une étude du professeur Marina Cavazzana-Calvo¹⁸. L'étude visait à prélever des cellules souches de la moelle osseuse du patient et à les mettre en culture en présence d'un vecteur de type lentivirus contenant la version saine du gène de la β -globine. L'infection par le lentivirus entraîne l'insertion du génome viral dans le génome de la cellule et avec lui le gène sain. Les cellules possédant le gène médicament ont été par la suite réintroduites dans la moelle osseuse du patient et un an après la transplantation l'augmentation constante du taux de β -globine a permis d'arrêter les transfusions pour ce patient et malgré une légère anémie résiduelle, la vie du jeune homme, s'est réellement améliorée.

Malgré ce franc succès, il faut nuancer les résultats de cette expérience : la protéine HMGA2 liée au développement de certains cancers a été surexprimée chez ce patient dans certaines cellules transplantées, probablement à cause du site d'insertion du gène médicament. Pour des chercheurs qui n'ont pas participé aux travaux, cet événement pourrait à la fois être à l'origine de la guérison en favorisant la survie des cellules, mais également devenir un danger pour le patient. Selon eux, il s'agirait d'une guérison survenue suite à des circonstances heureuses et non contrôlées.

Si la thérapie génique est loin d'être sans risque pour l'instant, une étape importante a néanmoins été franchie. L'augmentation significative du taux de β -globine est une victoire en soi et devrait permettre la mise en place d'étude sur un plus grand nombre de patients¹⁸.

8. 2012 : Première AMM pour un médicament de thérapie génique en Europe

En novembre 2012, Glybera® (alipogene tiparvovec), un traitement pour les patients atteints d'un déficit en lipoprotéine lipase (LPL) a obtenu la première autorisation de mise sur le marché pour un médicament de thérapie génique en Europe après avoir reçu plusieurs refus par le CHMP entre 2010 et 2012.

Une déficience en lipoprotéine lipase rend difficile la métabolisation des particules grasses dans le sang provoquant des pancréatites qui peuvent être mortelles. Jusqu'à présent, la seule possibilité pour limiter cette pathologie était un régime pauvre en graisse inférieur à 20 grammes par jour.

Mis au point par le laboratoire néerlandais UniQure, le Glybera® utilise un vecteur adénoviral associé pour apporter le gène LPL dans les cellules musculaires du malade pour qu'elles produisent la lipoprotéine lipase, l'enzyme responsable de l'hydrolyse des triglycérides présents dans les lipoprotéines plasmatiques. Le virus a été modifié pour qu'il ne puisse pas s'auto-multiplier, il ne peut donc pas créer d'infection chez l'homme².

Conclusion :

Après 40 ans de recherche, d'échecs, d'abus et de petits succès, la thérapie génique a enfin prouvé son efficacité grâce à l'obtention de la première AMM. Le Glybera® est l'exemple concret que la thérapie génique fonctionne et qu'elle n'est pas qu'un rêve de scientifiques. Cependant le chemin jusqu'à la maîtrise parfaite de cette technique est encore long.

Nous avons pu le voir, les rêves mènent parfois à quelques abus, c'est pourquoi il est important qu'une réglementation vienne cadrer les activités autour de la thérapie génique afin d'assurer la sécurité pour les patients et l'environnement mais autant que possible sans freiner l'innovation et la recherche.

C. La réglementation encadrant la thérapie génique

1. Définition réglementaire de la thérapie génique

La thérapie génique nécessite pour fonctionner un médicament de thérapie génique c'est à dire un vecteur permettant l'apport du gène médicament dans les cellules pathologiques.

La définition précise est établie réglementairement au niveau Européen dans la directive 2001/83/CE¹⁹ (annexe I partie IV) comme suit :

« Par médicament de thérapie génique, on entend un médicament biologique qui a les caractéristiques suivantes :

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

b) et son effet thérapeutique, prophylactique ou diagnostique dépend directement de la séquence d'acide nucléique recombinant qu'il contient ou du produit de l'expression génétique de cette séquence. »

Ainsi, la thérapie génique vise à modifier le patrimoine génétique d'une personne afin de la guérir. Cependant, il s'agit d'une activité encore peu connue et pouvant être dangereuse c'est pourquoi afin d'éviter tout débordement et assurer la sécurité de la santé publique elle doit être réalisée dans un cadre juridique très précis.

Ainsi, le règlement n°1394/2007 du parlement européen et du conseil du 13 novembre 2007 concernant les médicaments de thérapie innovante vient modifier la définition de la directive 2001/83/CE ci-dessus ainsi que le règlement n°726/2004. Il précise qu'un médicament de thérapie génique constitue également un médicament de thérapie innovante et de ce fait répond à sa réglementation. Dans un paragraphe destiné aux thérapies géniques, il est spécifié que les médicaments de thérapie génique utilisent des Organismes Génétiquement Modifiés, ils présentent de ce fait plus de danger pour l'environnement et la santé publique que les autres médicaments et que des mesures de protections supplémentaires leur seront donc demandées²⁰.

2. L'autorisation de recherche en thérapie génique

Lorsqu'un laboratoire pharmaceutique désire mettre en vente un produit de santé quel qu'il soit, il doit présenter un dossier de demande d'autorisation de mise sur le marché auprès de l'autorité compétente concernée. Cette dernière peut être nationale comme l'ANSM pour la France, on parle alors de procédure nationale ou de procédure par reconnaissance mutuelle, ou l'autorité peut être européenne l'EMA on parle alors de procédure centralisée.

L'AMM sera délivrée au laboratoire pour son traitement si ce dernier répond au trois critères d'un médicament :

- Qualité
- Sécurité
- Efficacité

La **qualité** du produit fabriqué est prouvée par la description des origines et natures des matières premières, des procédés de synthèse et de fabrication, des impuretés, la stérilité, la stabilité du produit fini, la sécurité virale des produits biologiques, etc.

L'**efficacité** quant à elle est prouvée grâce aux essais cliniques de phases II qui sont réalisés sur des sujets malades et dont l'objectif est d'étudier l'efficacité du produit et sa tolérance. C'est au cours de ces essais que sont déterminés les rapports bénéfiques/risques et les posologies optimales des traitements.

La preuve de la **sécurité** du produit sera apportée par la présentation des données recueillies lors des essais précliniques (génotoxicité, carcinogénicité, reprotoxicité, etc.) et des essais cliniques (effets indésirables).

Si un produit répond aux 3 critères et présente un rapport **bénéfices/risques** favorable au vu de la pathologie traitée, il obtiendra de la part des autorités de santé une autorisation de mise sur le marché.

Les autorités s'assurent grâce à cette autorisation que tous les produits qui sont commercialisés ont un intérêt thérapeutique pour le patient et qu'ils ne vont pas détériorer la santé de ce dernier.

Les thérapies innovantes comme la thérapie génique obéissent aux mêmes règles d'autorisation néanmoins l'utilisation des OGM nécessite d'autres autorisations au cours des différentes étapes du développement permettant d'attester que toutes les mesures ont été prises pour assurer le maintien de la santé publique et la protection de l'environnement²¹.

a) Utilisation des OGM

L'ensemble des manipulations encadrant un OGM en thérapeutique, de sa production jusqu'à son injection au patient nécessite des précautions particulières ayant pour vocation d'éviter sa dissémination, de protéger l'environnement et la santé publique : ces précautions sont dénommées « **utilisations confinées** ».

Celles-ci sont définies dans la directive 2009/41/CE²¹ comme :

« Toute opération dans laquelle des micro-organismes sont génétiquement modifiés ou dans laquelle des micro-organismes génétiquement modifiés sont cultivés, stockés, transportés, détruits, éliminés ou utilisés de toute autre manière et pour laquelle des mesures de confinement spécifiques sont prises pour limiter le contact de ces micro-organismes avec l'ensemble de la population et l'environnement ainsi que pour assurer à ces derniers un niveau élevé de sécurité ».

Les mesures associées à cette utilisation confinée sont étroitement liées à la dangerosité de l'OGM. Ainsi le HCB (Haut Conseil des Biotechnologies) classe les OGM selon 4 catégories²¹. Qui vont être associées chacune à des mesures d'utilisations confinées adaptées à la dangerosité du produit pour la santé publique et l'environnement.

b) Classement des OGM

Avant toute activité avec un OGM, l'utilisateur doit préalablement réaliser un dossier d'évaluation du risque pour la santé publique et l'environnement²¹ qu'il transmet à l'autorité compétente responsable de l'évaluation des OGM pour l'état membre. Le Haut Conseil des Biotechnologies réalise cette évaluation pour la France.

Grâce à ce dossier, l'autorité compétente classe l'OGM dans un des 4 groupes selon le risque qu'il représente pour la santé publique et l'environnement²². Ainsi, selon le groupe de l'OGM la classe de confinement qui lui est associée. Elle correspond aux exigences de protection et de pratique qu'il faut mettre en place dans le site où sera manipulé l'OGM pour protéger les manipulateurs, la santé publique et l'environnement.

Il existe autant de classe de confinement que de classe d'OGM²²:

La classe de confinement 1 est constituée des opérations mettant en œuvre des organismes génétiquement modifiés du groupe I et dont le risque pour la santé humaine et pour l'environnement est nul ou négligeable ;

La classe de confinement 2 est constituée des opérations mettant en œuvre des organismes génétiquement modifiés du groupe II et dont le risque pour la santé humaine et pour l'environnement est faible ;

La classe de confinement 3 est constituée des opérations mettant en œuvre des organismes génétiquement modifiés du groupe III et dont le risque pour la santé humaine et pour l'environnement est modéré ;

La classe de confinement 4 est constituée des opérations mettant en œuvre des organismes génétiquement modifiés du groupe IV et dont le risque pour la santé humaine ou pour l'environnement est élevé.

Parfois la manipulation envisagée ne correspond pas exactement aux exigences de la classe de confinement, dans ce cas le HCB peut demander que la manipulation soit réalisée dans un niveau de confinement différent qui sera généralement supérieur pour assurer le meilleur niveau de sécurité qu'il soit.

c) Déclaration d'utilisation d'OGM et demande d'agrément²²

La recherche médicale en thérapie génique implique l'utilisation d'OGM, de ce fait elle ne répond pas uniquement au code de la santé publique mais également au

code de l'environnement. La loi 2008-595²³ demande à l'utilisateur avant de commencer son activité avec l'OGM de réaliser une « déclaration d'utilisation » ou obtenir « un agrément d'utilisation » selon la classe de l'OGM. Cet agrément ou déclaration atteste du respect des mesures de confinement correspondant au classement de l'OGM et aux risques identifiés pour la santé publique et l'environnement dans l'hypothèse où l'OGM se retrouverait dispersé.

Ainsi, les installations utilisant des OGM de classe de confinement de 2 à 4 nécessitent avant toute activité un agrément délivré par le ministre de la recherche et une déclaration de commencement. Les OGM de classe de confinement 1 présentent un faible risque et n'ont besoin que d'une simple déclaration pour commencer leur activité.

d) La procédure d'agrément d'un site d'utilisation confinée d'OGM en France²²

Le HCB et le ministre de la recherche ont pour responsabilité de s'assurer que tous les moyens sont mis en œuvre par le demandeur de l'agrément pour protéger la santé publique et l'environnement et que les manipulations se dérouleront en toute sécurité.

Le dossier de demande d'agrément est envoyé par l'utilisateur au ministre de la recherche qui délivre un accusé de réception après avoir vérifié que le dossier de demande d'agrément est bien complet (J0). (Dans le cas contraire, ce dernier informe le demandeur des pièces manquantes ainsi que le délai pour les fournir. Si le demandeur ne complète pas son dossier dans le délai imparti, sa demande est jugée abandonnée.)

Le dossier complet est envoyé par le ministre de la recherche au haut conseil des biotechnologies pour avis. Le ministre de la recherche peut demander suite à une demande du HCB des informations complémentaires nécessaires pour la réalisation de l'avis. Une visite des installations du demandeur peut également être réalisée par le HCB. Le HCB communique son avis au ministre de la recherche dans un délai de 35 jours (J35). Il peut être de 60 jours (J60) pour les premières demandes d'agrément d'OGM posant de plus grands risques et dont les classes de confinement sont plus élevées (classe de confinement 3 ou 4).

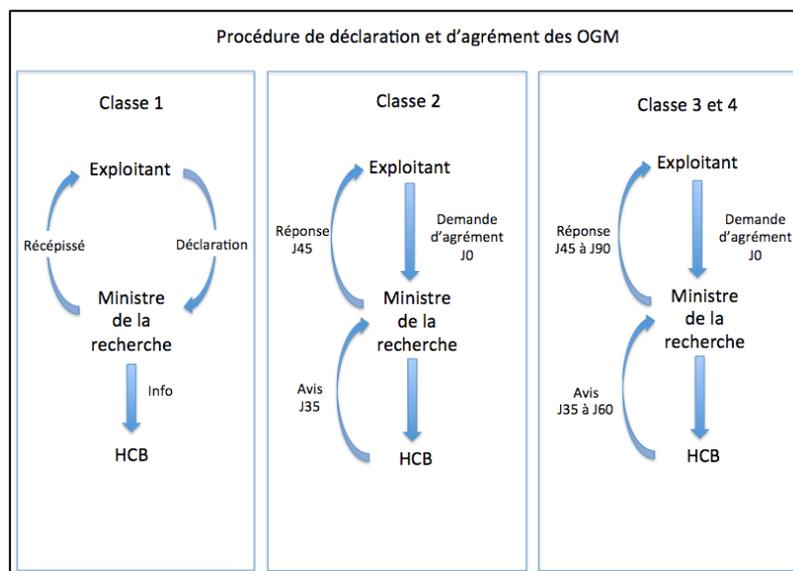


Figure 4 : Procédure de déclaration et d'agrément des OGM

3. Essai clinique de thérapie génique

Comme tout médicament, les médicaments de thérapie génique doivent obtenir de l'ANSM et du comité de protection des personnes une autorisation pour réaliser des essais cliniques chez l'homme. Lors des essais cliniques de thérapie génique le patient qui recevra le vecteur porteur du gène thérapeutique va au fil du temps libérer dans la nature des OGM par le biais de ses urines, selles... Cette libération d'OGM même si elle se déroule dans le cadre d'un essai clinique, constitue au sens de la directive 2001/18/CE une dissémination volontaire²⁴ :

« La dissémination volontaire renvoie à toute introduction intentionnelle dans l'environnement, à des fins de recherches ou de développement ou à toute autre fin que la mise sur le marché, d'un organisme génétiquement modifié ou d'une combinaison d'organismes génétiquement modifiés ».

Cette dissémination ne rentre plus dans le cadre de l'utilisation confinée c'est pourquoi le promoteur doit avant de commencer sa recherche clinique obtenir une « autorisation de dissémination volontaire » par le directeur général de l'ANSM. Cette demande est faite en même temps que la demande d'autorisation d'essai clinique.

- a) Procédure différenciée de demande d'autorisation de dissémination volontaire

Certains écosystèmes ont permis d'acquérir une expérience suffisante sur certains OGM, il existe pour ceux-là une procédure différenciée de demande d'autorisation de dissémination volontaire.

Pour utiliser cette procédure l'ANSM doit après avoir recueilli l'avis du HCB, réaliser une proposition motivée à la Commission Européenne²⁵ :

- elle transmet le dossier aux autorités compétentes qui peuvent présenter leurs observations dans un délai de 60 jours,
- et en même temps rend la proposition accessible au public, qui peut également formuler des observations dans un délai de 60 jours,
- et consulte le/les comités scientifiques compétents, qui peuvent émettre un avis dans un délai de 60 jours.

Le dossier pour demande de procédure différenciée comporte au minimum :

- Des informations sur le/les OGM.
- Des informations sur les conditions de dissémination et sur l'environnement récepteur potentiel.
- Des informations sur les interactions entre le/les OGM et l'environnement.
- L'évaluation des risques pour l'environnement.
- La commission doit rendre son avis dans les 90 jours qui suivent la réception du dossier de demande d'autorisation.

Malgré une bonne connaissance de la dissémination de l'OGM dans certains écosystèmes, le demandeur ne peut pas commencer sa recherche sans un accord écrit de l'ANSM.

b) Procédure standard de demande d'autorisation d'essai clinique d'un médicament de thérapie génique

Les dossiers de demande d'autorisation d'essai clinique et d'autorisation de dissémination volontaire sont adressés par le promoteur de la recherche à l'ANSM qui vérifie si le dossier est complet et se prononce sur sa recevabilité. Si ce n'est pas le cas, l'ANSM demandera les pièces manquantes au promoteur qu'il devra fournir dans un délai imparti sous peine de voir sa demande jugée abandonnée.

Quand le dossier est recevable l'ANSM notifie au promoteur la date de réception du dossier ce qui correspond au début de la procédure d'évaluation. (J0)

Dans un délai de 30 jours à compter de la date d'enregistrement, l'ANSM transmet le résumé du dossier technique à la Commission des Communautés Européennes.

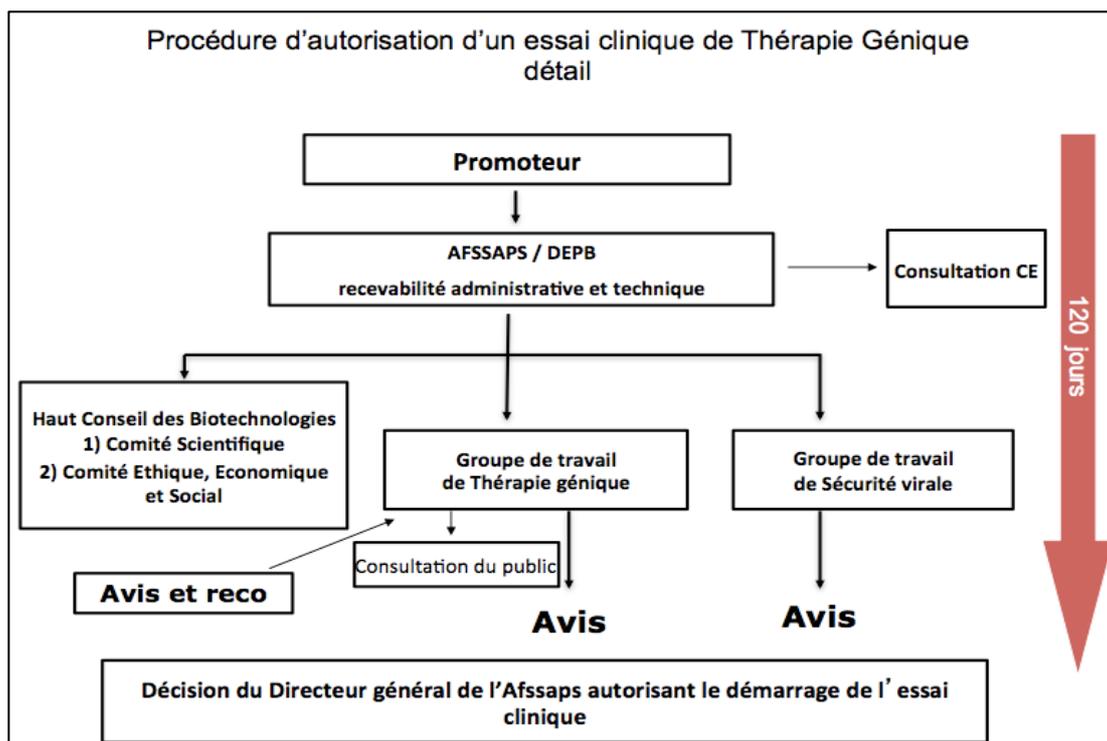


Figure 5 : Procédure d'autorisation d'un essai clinique de thérapie génique

Une copie du dossier de demande d'autorisation de dissémination volontaire est immédiatement transmise au HCB qui a 40 jours à partir de la date d'enregistrement pour donner son avis à l'ANSM et au ministre de l'environnement (J40). Pour constituer cet avis, le comité scientifique du HCB évalue les impacts de l'OGM sur la santé publique et l'environnement en collaboration avec le 2^{ème} groupe du HCB, le comité économique éthique et social. Si le dossier l'exige le HCB peut également faire appel à un comité d'expert extérieur pour constituer son avis.

Dans les 15 jours suivant l'avis du HCB (J65 au max), l'ANSM publie sur son site internet la fiche d'information destinée au public. Les commentaires du public doivent être adressés à l'ANSM dans les 30 jours qui suivent sa publication (J70-J95). L'autorisation de dissémination volontaire est jugée accordée si dans les 14 jours qui suivent cette publication le ministre de l'environnement ne s'est pas manifesté.

En parallèle l'ANSM publie sous format électronique un avis mentionnant l'autorisation de dissémination volontaire avec la date de la décision, le nom du titulaire de l'autorisation et la description synthétique de l'OGM et rappelle la mise à disposition de la fiche destinée au public.

Après avoir recueilli l'avis du HCB et l'accord du ministre de l'environnement, l'ANSM notifie sa décision au demandeur avant J120. En l'absence de réponse dans ce délai, la demande d'autorisation est réputée rejetée et l'ANSM dans ce cas est tenue de fournir d'office au demandeur les motifs de ce rejet.

L'ANSM se prononce après avoir examiné toutes les observations faites par d'autres états membres :

- Soit en indiquant que l'expérimentation ne remplit pas les conditions relatives à la dissémination volontaire d'OGM dans l'environnement et qu'en conséquence la demande est rejetée.
- Soit en indiquant qu'elle s'est assurée de la conformité de la demande avec les dispositions relatives à la dissémination volontaire d'OGM dans l'environnement et que la recherche biomédicale peut avoir lieu²⁶.

Ces dossiers de demandes d'agrément/d'autorisations ainsi que ces procédures impliquant de nombreuses autorités et experts permettent de maintenir un niveau de sécurité important pour ces médicaments dont on ne connaît pas exactement l'impact sur la santé et l'environnement. Mais il faut noter que cet enchaînement de procédures et ces lourdeurs administratives peuvent échauder certains petits laboratoires qui ne sont pas structurés/prêts à supporter cela.

c) Bilan mondial des essais cliniques de thérapie génique

Les données présentées par l'ANSM lors de la 5^{ème} Rencontre avec les PME innovantes dans le domaine de la santé indiquent qu'un total de 11 dossiers de demande d'autorisation de recherche biomédicale de thérapie génique entre janvier 2010 et novembre 2011 ont été déposés pour évaluation.

Ces 11 dossiers ont des objectifs thérapeutiques très variés puisque 3 ont pour objectif le traitement des cancers solides, 3 les cancers liquides, 3 les maladies génétiques et 2 les maladies infectieuses.

Dans le monde, les Etats Unis sont en tête des essais cliniques dans la thérapie génique avec 1386 essais, suivis par la Grande Bretagne 209 essais, et la France se situe en 5^{ème} position avec 52 essais en cours⁷.

En 1989 le premier essai clinique de thérapie génique a été initié chez l'homme, en 1999 116 essais cliniques ont été autorisés, en 2008 120 et en 2014 130²⁷.

On constate par ces chiffres que la thérapie génique est une thérapeutique d'espoir en cours d'expansion⁷. Mais la route est encore longue avant que la thérapie génique devienne un traitement « courant » car depuis 1989 et les nombreux essais cliniques autorisés qui ont suivi, un seul médicament a été autorisé en Europe.

4. L'autorisation de mise sur le marché d'un médicament de thérapie génique

Quelle que soit l'aire thérapeutique ou la gravité de la pathologie qu'il traite, pour qu'un candidat médicament devienne « médicament », ce dernier doit obtenir une autorisation de mise sur le marché (nommée AMM par la suite). Cette AMM est octroyée par les autorités de santé nationales (ANSM pour la France) ou européenne (European Medicine Agency) selon le type de médicament et/ou les marchés visés par la société demandeuse.

La directive 2001/83/CE instituant un code communautaire relatif aux médicaments à usage humain ne présente pas de procédure d'évaluation claire pour les produits de thérapie génique. Cependant en raison de la nouveauté, de l'avancée, de la complexité et des spécificités techniques de la thérapie génique, il était nécessaire de disposer de règles adaptées et harmonisées pour assurer la libre circulation de ces produits au sein de la communauté européenne. Ainsi avec le règlement européen sur les thérapies innovantes n°1394/2007 du 13 novembre 2007, les produits de thérapie génique vont bénéficier d'une AMM centralisée. Dans ce règlement les produits de thérapie génique sont classés parmi les médicaments innovants avec l'objectif de les différencier des médicaments dits « classiques » du fait de leur haute spécificité et dangerosité.

L'un des intérêts majeurs de ce règlement européen est d'établir une procédure centralisée européenne, ce qui signifie qu'une seule autorisation est délivrée pour l'enregistrement dans l'ensemble des pays européens. Cela permet de pallier à la pénurie d'expertise dans la communauté, d'assurer un niveau élevé d'évaluation scientifique de ces médicaments dans la communauté, de préserver la confiance des

patients et des professions médicales dans l'évaluation et de faciliter l'accès de ces technologies novatrices au marché communautaire²⁸.

Chaque dossier candidat sera évalué par le Comité des Thérapies Innovantes (CTI/CAT) qui donnera son avis au comité des spécialités pharmaceutiques (CHMP).

a) Déroulement d'une procédure d'AMM centralisée

La directive n°726/2004²⁹, établissant des procédures communautaires pour l'autorisation et la surveillance en ce qui concerne les médicaments à usage humain et à usage vétérinaires, et instituant une Agence Européenne des médicaments, décrit les différentes étapes d'une procédure centralisée.

La procédure centralisée se déroule en 300 jours et en 3 grandes étapes :

De J0 à J120 : 1^{ère} évaluation : Soumission et évaluation

La première évaluation donne lieu à une liste de questions pour l'industriel, qui a entre 3 et 6 mois pour répondre à cette liste et durant ce temps l'horloge s'arrête (clock-stop) et la procédure reste à J120. Quand l'industriel a répondu et envoyé ses réponses à l'EMA l'horloge reprend et on rentre dans la deuxième phase.

J121 à J210 : 2^{ème} évaluation : Evaluation et avis du CHMP

Les rapporteurs et co-rapporteurs évaluent les réponses et proposent au CHMP un avis sur le médicament. Le CHMP donne un avis à la commission européenne.

J211 à j300 : Décision de la commission Européenne

La commission européenne prend la décision finale sur l'autorisation de mise sur le marché du médicament. L'évaluation d'un médicament de thérapie génique, ne varie pas d'un médicament dit « classique » toutefois une instance intervient en plus, le CAT qui donne également un avis au CHMP.

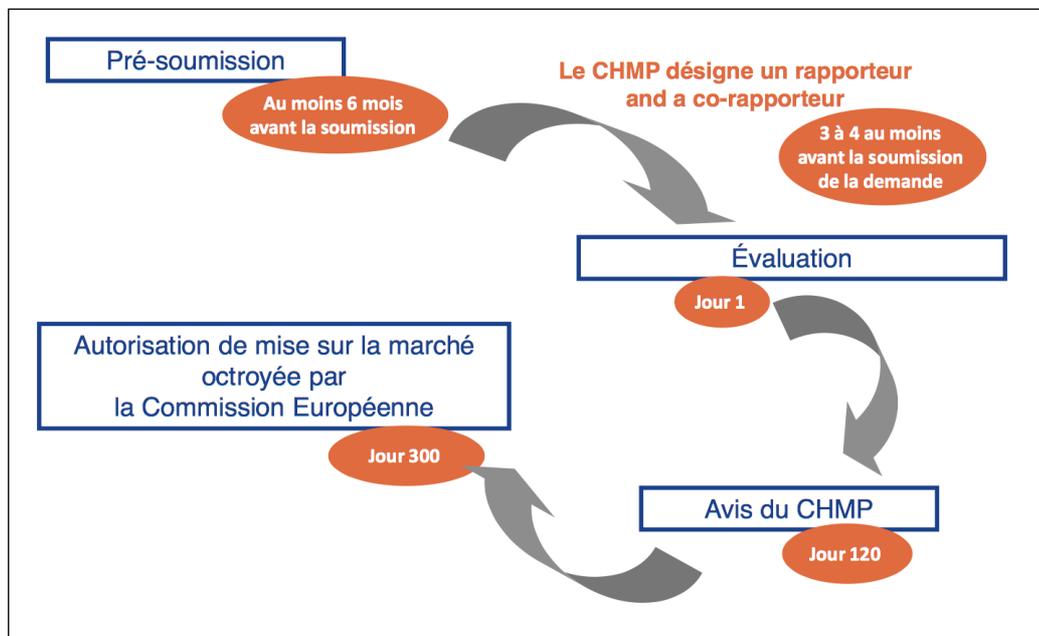


Figure 6 : Procédure centralisée³⁰

b) Le suivi de l'efficacité et des effets indésirables

Les effets indésirables des produits de thérapies innovantes doivent après leur mise sur le marché être tracés comme tout autre médicament. Toutefois, lorsqu'il existe un motif de préoccupation particulier à la mise sur le marché de ces médicaments de thérapie génique, la commission européenne sur avis de l'agence nationale exige du laboratoire pour obtention de l'AMM que ce dernier met en place un plan de gestion des risques. Il permet de déceler, caractériser, prévenir ou réduire au maximum les risques liés aux médicaments. Il peut également être demandé au titulaire de l'AMM de faire une évaluation de l'efficacité du produit ou des études spécifiques qui devront être soumises à l'agence pour évaluation.

Encore une fois avec la mise en place d'un process de pharmacovigilance, la réglementation encadrant la thérapie génique met tout en place pour assurer la sécurité de la santé publique sans être trop restrictive pour faciliter la mise sur le marché de médicament de thérapie génique²⁸.

c) La traçabilité post AMM des médicaments de thérapie génique

Le titulaire de l'AMM d'un médicament de thérapie génique doit mettre en place et tenir à jour un système de traçabilité du médicament et de toutes ses matières

premières depuis leurs origines jusqu'au lieu d'administration/utilisation (hôpital, institution, cabinet de consultation, lieu de fabrication, lieu de stockage, lieu de conditionnement, ...). Un système de traçabilité des produits et des patients est également mis en place et tenu à jour par les lieux d'utilisation des produits (hôpitaux, cabinet de consultation, ...). Ces données de traçabilité seront conservées par le laboratoire durant au moins 30 ans ou par l'agence en cas de faillite/liquidation du titulaire de l'AMM²⁸.

Cette traçabilité permet de faire le lien entre le produit et le patient en cas de problème.

Conclusion

Comme nous avons pu le voir, les démarches réglementaires, de classement de l'OGM, d'agrémentation et d'AMM pour les médicaments de thérapie génique sont nombreuses, très longues, complexes faisant intervenir un grand nombre de personnes et de plus nécessitent pour se faire beaucoup d'argent. Ainsi tous ces facteurs peuvent démotiver certaines sociétés à s'engager dans la recherche en thérapie génique.

C'est pourquoi, pour contrebalancer cette complexité des « incentives » ont été mises en place par les autorités dans la réglementation pour réduire les coûts et les délais administratifs.

5. Les mesures incitatives au développement de la thérapie génique

La thérapie génique en 50 ans de recherche n'a connue qu'un seul succès réel avec la guérison des « bébés bulles » par l'équipe du professeur Fischer et Cavazzana-Calvo en 2000. Le peu de succès et les coûts élevés ont provoqués la perte d'attractivité de la thérapie génique pour les laboratoires de recherche de petites tailles ainsi que les géants mondiaux de l'industrie pharmaceutique.

Afin de maintenir une certaine attractivité de la R&D dans ce domaine, des mesures incitatives ont été mise en place par les autorités dans le règlement n°1394/2007 du parlement européen et du conseil du 13 novembre 2007.

Les médicaments de thérapies innovantes comme la thérapie génique relèvent du cadre réglementaire général applicable aux médicaments, ce qui implique que toutes les mesures d'incitation et les dispositions relatives à la compétitivité de ce cadre s'appliquent directement à ces produits.

Les mesures incitatives en questions sont :

- L'accès direct et harmonisé au marché communautaire par une autorisation de mise sur le marché européenne sans préjudice des interdictions nationales mentionnées.
- Une période de protection des données harmonisées (la règle dite «8+2+1») ²⁹.
- La possibilité d'être qualifié de médicament orphelin ³¹ ce qui pourra allonger la période de protection.
- La possibilité d'une procédure d'évaluation accélérée ²⁹.
- La possibilité d'obtenir des autorisations de mise sur le marché conditionnelles ou de mise sur le marché dans des circonstances exceptionnelles ²⁹.
- Des mesures d'incitation financière spécifiques et une aide administrative en faveur des petites et moyennes entreprises (PME) ²⁹.

Ils existent aussi des « incentives » spécifiques aux médicaments de thérapie génique :

- Certification de la qualité et des données non cliniques
- Les avis scientifiques
- Réduction de la redevance relative à l'autorisation de mise sur le marché
- Procédure de pré-soumission

a) Certification de la qualité et des données non cliniques ²⁸

Par cette mesure, les petites et moyennes entreprises qui développent des médicaments de thérapie génique ont la possibilité de déposer auprès de l'agence européenne, des données sur la qualité ainsi que des données non cliniques requises dans les modules 3 et 4 du dossier d'AMM en vue d'une évaluation scientifique et d'une certification.

La certification des données se fait à un stade précoce du développement, elle ne remplace pas les données devant être soumises pour une demande d'essai clinique ou d'AMM, n'est pas liante pour l'EMA et n'est en aucun cas le gage d'un rapport bénéfiques/risques favorable car ce rapport n'est pas évalué durant cette procédure.

Cette certification est faite pour les PME qui privilégient le développement initial d'une thérapeutique mais qui ne souhaitent pas réaliser d'essais cliniques pour des raisons de moyens financiers ou de capacité techniques. L'agence va donc vérifier que les données et la méthodologie des essais réalisés par le demandeur respectent les exigences scientifiques et techniques requises, l'état de l'art scientifique et les guidelines. Cette certification apporte à ces PME des arguments concernant la qualité de leur travail et aide à la vente de leurs projets^{28, 29}.

b) Les avis scientifiques

Les sociétés développant des médicaments de thérapie innovante peuvent comme pour les autres médicaments en cours de développement demander un avis scientifique aux autorités compétentes à n'importe quel moment du développement du médicament. Cependant une réduction de 90 % pour les petites et moyennes entreprises et de 65 % pour les autres demandeurs s'applique à la redevance due à l'Agence pour tout avis scientifique donné dans le cas des médicaments de thérapie innovante^{28,29}.

L'avis scientifique se fait par l'intermédiaire du SAWP (Scientific Advice Working Party) de l'EMA. Mais pour les médicaments de thérapie innovante le CAT nomme un coordinateur pour contribuer à la réponse préparée par le SAWP. La discussion et le rapport final est réalisé par le CAT et transmis au SAWP et au CHMP.

Les titulaires d'AMM peuvent également solliciter une demande d'avis scientifique pour la pharmacovigilance et la mise en place d'un plan de gestion des risques.

c) Réduction de la redevance relative à l'autorisation de mise sur le marché

Si le médicament de thérapie innovante est développé par un hôpital ou une petite/moyenne entreprise et si ce dernier présente un intérêt particulier pour la santé publique au sein de la communauté, la redevance relative à l'autorisation de mise sur le marché est réduite de 50%.

Cette réduction est également applicable aux redevances relatives aux activités menées par l'agence au cours de la première année suivant l'octroi de l'AMM²⁸.

d) Procédure de pré-soumission

La procédure de pré-soumission est un dispositif permettant aux promoteurs de solliciter l'avis de l'ANSM lors de la préparation de leur projet d'essai clinique, en amont du dépôt officiel de la demande d'autorisation d'essai clinique (AEC). Elle n'est pas assujettie au paiement d'une taxe et repose sur une base volontaire de la part des promoteurs²⁸.

Le bénéfice de cette procédure est de permettre aux promoteurs :

- De soumettre *in fine* des dossiers de demande d'AEC répondant au mieux aux attentes de l'ANSM dans la mesure où ceux-ci intégreront dans le dossier officiel les réponses aux demandes éventuellement formulées par l'Agence dans le cadre de cette pré-soumission.
- De limiter le risque de refus d'AEC ou de retrait de dossier du fait de l'impossibilité pour le promoteur de répondre, dans les délais réglementaires, aux questions posées par l'Agence lors de l'évaluation de la demande d'autorisation.
- D'obtenir, le cas échéant, une autorisation d'essai dans des délais inférieurs à ceux fixés réglementairement.

Conclusion

Ces mesures incitatives permettent aux laboratoires développant des produits de thérapie génique de réduire les redevances, les délais des procédures et de renforcer la communication entre eux et les autorités. Cette collaboration permet de consolider les données scientifiques, la qualité des dossiers d'essais cliniques et d'AMM pour augmenter les chances de succès et maintenir ainsi une attractivité des scientifiques dans ce domaine qui reste encore à maîtriser et où le nombre de succès est encore faible.

Conclusion générale sur la partie II

Les techniques de thérapie génique sont nombreuses mais sont encore au stade expérimental et nécessitent encore d'être approfondies afin qu'elles puissent s'adapter à toutes les pathologies.

La réglementation qui encadre les activités de la thérapie génique de la recherche à l'AMM reste très lourde et nécessite beaucoup d'investissements. Cependant, celle-ci est nécessaire pour assurer un niveau de sécurité important pour tous. Les autorités ont pris conscience de ces difficultés et ont essayé de réduire les contraintes financières et réglementaires d'accès au marché des médicaments de thérapie génique afin de maintenir un niveau d'attractivité élevé pour cette technique qui doit encore faire toutes ses preuves.

Nous avons développé les différents éléments de théories de la thérapie génique et les freins associés. Maintenant nous allons nous pencher sur le cas concret du Glybera® et mettre en avant les difficultés qu'il a rencontrées pour arriver sur le marché.

III. Cas concret : exemple du Glybera®

Lors de la première partie, nous avons pu aborder les contraintes scientifiques et réglementaires qui incombent à un médicament de thérapie génique pour l'obtention de son AMM. Au cours de cette seconde partie, nous allons nous pencher sur le cas concret du Glybera® en exposant les difficultés rencontrées par UniQure (Société de biotechnologie spécialisée dans la thérapie génique ayant développé le Glybera®) pour aboutir à l'AMM du Glybera® en Europe en 2012.

L'objectif de cette partie est de retracer le chemin emprunté par le premier médicament de thérapie génique en Europe de sa preuve de concept jusqu'à son autorisation de mise sur le marché. Ainsi, nous pourrions en déduire les facteurs qui impactent réellement de façon positive ou négative l'arrivée sur le marché des médicaments de thérapie génique et répondre à la question posée en début de thèse « quels obstacles techniques ou réglementaires faudra-t-il surmonter (ou aménager) pour que la thérapie génique entre réellement dans l'arsenal thérapeutique ? ».

A. Qu'est-ce que Glybera® ?

Glybera® (DCI : Alipogene tiparvovec) est un médicament de thérapie génique indiqué « chez les patients adultes présentant un diagnostic de déficit familial en lipoprotéine lipase (LPL) et souffrant de crises de pancréatite sévères ou multiples malgré un régime pauvre en lipides. Le diagnostic de déficit en LPL doit être confirmé au moyen de tests génétiques ».

Glybera® utilise un virus adéno-associé (AAV) dont la capacité de réplication a été supprimée mais permettant la libération et l'expression du variant du gène de la lipoprotéine lipase humaine LPL^{S447X} chez les patients déficients².

B. Qu'est-ce que la déficience en lipoprotéine lipase (LPLD) ?

Localisée sur la surface luminale des vaisseaux capillaires, la lipoprotéine lipase (LPL) est une enzyme qui catalyse la clairance des chylomicrons circulants et des lipoprotéines de très basse densité (VLDL) présents dans le plasma. La LPL est principalement exprimée dans les cellules cardiaques, adipeuses, musculaires et

cérébrales et joue un rôle important dans l'absorption et le stockage des lipides et la production d'énergie. De nombreux polymorphismes naturels ont été identifiés dans le gène codant pour la LPL mais très peu d'entre eux conduisent à une enzyme partiellement ou totalement inactive aboutissant à une LPLD (Déficiência en Lipoprotéine Lipase). Ainsi, la LPLD est une maladie autosomale récessive rare qui affecte environ une personne sur un million.

Les patients déficients en LPL présentent une hypertriglycémie prononcée avec un taux de triglycérides (TG) plasmatiques élevé menant à des hépatosplénomégalies, des xanthomes et des lipémies rétiniennes, mais les plus grandes complications pour ces patients sont les pancréatites qui se manifestent souvent tôt lors de l'enfance et de façon plus récurrentes à l'âge adulte.

Les traitements anti-lipidiques tels que les statines et les fibrates sont inefficaces sur les patients LPLD et le seul « traitement » possible pour cette population est un régime très restreint en graisse (maximum 15 % de l'apport calorique quotidien) afin de maintenir un taux de TG en dessous du seuil critique de déclenchement des pancréatites évalué à 10 mmol/L. Cependant, même avec un parfait respect de ce régime il est extrêmement difficile de rester en dessous de ce seuil et les taux peuvent atteindre jusqu'à 20 mmol/L malgré le régime.

L'AMM du Glybera® n'a pas été obtenue sans mal et le voyage du laboratoire au patient a été long avec de nombreux défis et obstacles financiers, scientifiques et administratifs à surmonter. Approuvé en 2012 et déployé en 2014, Glybera® a testé les limites du processus d'approbation réglementaire européen et a mis en exergue les difficultés auxquelles devront se préparer les futurs candidats médicaments de thérapie génique dans une pathologie orpheline.

C. Composition et mécanisme d'action du Glybera®

1. Composition et production du vecteur

Glybera® est produit grâce à un système d'expression de vecteurs employant des Baculovirus. Des cellules d'insectes sont transduites avec 3 vecteurs à Baculovirus recombinants différents, chacun apportant une partie du génome du vecteur :

- BV 1 : LPL cassette
- BV 2 : Gene Rep du virus adéno-associé (permettant l'intégration dans le génome)

- BV 3 : Gene Cap du virus adéno-associé (gène activateur de transcription)

Les vecteurs AAV formés sont libérés des cellules d'insectes par incubation dans une solution tampon de lyse, puis purifiés, concentrés et filtrés².

2. Structure

Alipogene tiparvovec est une particule virale recombinante adéno-associée avec une symétrie icosaédrale et un diamètre de 25 micromètres. Sa masse moléculaire est approximativement de 5×10^3 kDa et est considérée comme un « vecteur hybride » puisque la séquence ITR, les gènes Rep et Cap proviennent du sérotype 2 de AAV et que le gène Cap ORF provient du sérotype 1 de AAV.

Le génome du vecteur AAV contient la cassette d'expression du transgène intégrant :

- le cytomégalovirus et juste à côté le promoteur,
- la séquence d'ADN complémentaire du variant S447X de la lipoprotéine lipase humaine (LPL^{S447X}),
- le site de polyadénylation de l'hormone de croissance bovine,
- l'élément de régulation post transcriptionnelle du virus de l'hépatite de marmotte (séquence WPRE) qui est nécessaire pour améliorer l'expression du gène de la lipoprotéine lipase².

3. Mécanisme d'action du Glybera®

Le principe actif de Glybera®, l'alipogene tiparvovec, est issu d'un virus ayant été modifié de façon à pouvoir transporter le gène de la LPL jusque dans les cellules de l'organisme. Le rationnel du traitement repose sur la théorie que si l'on ajoute des copies du gène de la LPL dans les cellules musculaires manquant de LPL actives, on peut corriger le déficit en LPL en permettant aux cellules musculaires d'en produire et ainsi permettre la dégradation des graisses dans le sang, la réduction du nombre de crises de pancréatite et la sévérité de la maladie.

Le matériel viral modifié utilisé dans Glybera® ne provoque pas d'infection et ne peut produire des copies de lui-même².

D. De la preuve de concept aux développements précliniques de la thérapie génique dans la LPLD ?

1. Preuve de principe de la thérapie génique dans la LPLD

En 1997, Excoffon & al ont montré que l'hypertriglycéridémie et la tolérance aux graisses étaient affaiblis chez les souris LPLD hétérozygotes mais pouvaient être corrigées par le transfert du gène de la LPL humaine (hLPL) par l'intermédiaire de virus adéno-associés (AAV) ciblés vers les cellules hépatiques. Dans leur expérience, ils ont constaté que 7 jours après l'injection des AAV porteurs du gène, les TG plasmatiques étaient réduits de manière significative par rapport aux souris témoins et les souris LPLD présentaient une tolérance améliorée aux graisses absorbées par voie orale et par voie intraveineuse. De plus, l'analyse des lipoprotéines plasmatiques chez les souris ayant subi le transfert de gène a montré une réduction significative des TG dérivés des VLDL. Cette efficacité s'est révélée temporaire et les TG plasmatiques sont revenus au niveau de base 42 jours après l'injection.

Il faut noter que ce modèle de correction de gènes n'a pas pu être testé chez des souris homozygotes puisque les souris totalement déficientes en LPL ne survivent pas après la naissance. Mais cette étude reste une preuve de concept et permet d'avancer que les AAV peuvent être utilisés comme vecteurs de gènes efficaces pour corriger des déficiences génétiques telles que la LPLD même s'ils nécessitent une amélioration pour obtenir une efficacité prolongée³².

2. Test chez le félin homozygote

Peu de temps après, en 2000, Liu & al ont testé cette approche de libération du gène de la LPL grâce à des AAV ciblés vers le foie chez un modèle animal félin ayant un phénotype de LPLD naturel homozygote (LPL - / -) qui imite de plus près la maladie humaine.

Contrairement aux souris, les chats atteints de ce trouble survivent jusqu'à l'âge adulte et présentent une pancréatite chronique, ressemblant plus étroitement à l'état observé chez l'homme.

L'approche a été un succès puisqu'il a été observé une réduction de 10 fois des TG plasmatiques et de la clairance des graisses introduites par voie intraveineuse. Néanmoins, comme précédemment chez les souris hétérozygotes, la réduction des TG plasmatiques a été finalement temporaire avec une réduction des effets en deux semaines.

Malgré son effet temporaire, cette étude a permis d'identifier plusieurs problèmes essentiels pour le développement ultérieur des thérapies géniques utilisant des AAV. En effet, respectivement 7 et 14 jours après l'injection, des anticorps neutralisant les AAV et des anticorps contre la hLPL ont été détectés ce qui pourraient être une explication plausible à l'effet temporaire constaté lors des études³².

3. Développement préclinique

La preuve de concept a été réalisée grâce aux 2 études précédentes présentées ci-dessus. Toutefois, les souris hétérozygotes ne développaient pas de crises de pancréatites qui sont les complications les plus importantes chez l'homme.

Pour répondre à la nécessité d'un modèle animal qui ressemble plus étroitement aux conditions rencontrées chez les humains souffrant de LPLD, Ross & al ont sauvé à la naissance des souris LPL (- / -) grâce au transfert de gène somatique de la LPL via des adénovirus portant la variante des gènes LPL^{S447X}. La mutation S447X tronque la LPL en un résidu par le remplacement du codon serine terminale par un codon stop. Cette mutation portée par 20 % de la population humaine s'est montrée être une mutation à gain de fonction qui confère plusieurs avantages, une baisse des TG plasmatiques, une augmentation du HDL-C et une réduction des maladies coronariennes. Bien qu'elles aient survécu jusqu'à l'âge adulte, les souris sauvées à la naissance avec l'adénovirus porteur du gène LPL^{S447X} ont finalement développé une déficience en LPL, entraînant un taux de TG nettement augmenté (> 200 fois) et un faible taux de HDL-C.

Il est important de retenir de cette étude que l'adénovirus a été injecté juste après la naissance et que de ce fait ces animaux ne présentaient pas de réponse immunitaire au vecteur viral ou à la LPL transgénique contrairement aux souris des études

antérieures. Il a donc été conclu que ce type de souris pouvait être un bon modèle pour tester des approches de thérapie génique dans le traitement de la LPLD.

En utilisant ces souris, l'équipe de Ross & al a montré qu'une correction à long terme de la LPLD pourrait être obtenue par la technique de transfert de gène via le vecteur AAV1. Le vecteur de libération du transgène utilisé non intégrant et non répliquant était composé de protéines de capsid d'AAV de type 1 et de terminaisons répétées inversées d'AAV de type 2.

Des études supplémentaires ont montré qu'une injection intramusculaire d'ADN plasmidique nu contenant le gène de la LPL sur un promoteur spécifique des muscles pourrait conduire à une diminution significative des TG plasmatiques. C'est pourquoi contrairement aux études antérieures, à la place du foie (organe de production et d'action de la LPL) il a été choisi d'utiliser les muscles comme organe de délivrance des gènes.

L'administration intramusculaire de AAV-LPL^{S447X} a abouti chez ces animaux à une activité de la LPL détectable au test à l'héparine (allant jusqu'à 33 % du niveau normal), avec un taux de TG plasmatiques abaissé de façon spectaculaire à un niveau proche de la normale et des HDL considérablement augmentés.

Il est important de noter que l'effet sur les TG plasmatiques et la clairance des lipides étaient de longue durée puisqu'elle était proche de la normale même 8 mois après l'injection et les taux de TG plasmatiques étaient proches de la normale encore un an après. Ces résultats contrastent avec les expériences antérieures dans lesquelles les AAV libéraient les gènes dans les cellules hépatiques et induisaient un effet pendant seulement 42 jours. De plus, aucun anticorps contre les hLPL ont été observés chez les souris traitées (probablement en raison de la tolérance induite peu après la naissance), bien que des anticorps anti-AAV aient été observés.

Il faut également souligner que l'expression de la LPL a lentement diminuée durant les 12 semaines suivant l'injection et la réduction des TG plasmatiques a persisté pendant plus d'un an, ce qui indique que le remplacement même partiel de l'activité (10 % de la normale) peut avoir des effets hypolipémiants importants³².

E. Le développement clinique de Glybera®

1. Phase I / II (CT- AMT- 010-01)

Les premiers essais cliniques chez l'homme avec Glybera® ont été entrepris en 2005 par Amsterdam Molecular Therapeutics en utilisant le vecteur AAV1-LPL^{S447X} dans l'étude ouverte CT-AMT-010-01.

Celle-ci consistait à évaluer la réponse dose/efficacité du produit AMT-010 ainsi que la toxicité et la biodistribution du vecteur AAV1-LPL^{S447X}.

8 patients souffrant de LPLD ont été sélectionnés ayant pour caractéristiques²:

- Une ou plusieurs mutations confirmées du gène de la LPL,
- une activité de la LPL réduite de manière significative (0,20 % de la normale),
- une masse de LPL détectable dans le plasma circulant après test à l'héparine (≥ 5 % de la normale),
- et un taux de TG plasmatique à jeun de 0,10 mmol/L.

Sur les 8 patients, 4 ont reçu AMT-010 à la dose de 1×10^{11} cg/kg, tandis que les 4 autres ont reçu une dose plus élevée de 3×10^{11} cg/kg. Pour les deux groupes, le vecteur a été administré en plusieurs injections simultanées dans les quadriceps.

Pour répondre au critère principal de l'étude les patients devaient présenter :

- Une réduction des TG plasmatiques à jeun ≤ 10 mmol/L,
- ou une réduction des TG plasmatiques à jeun ≥ 40 % par rapport à leur taux de base.

Résultats de l'étude

12 semaines après l'injection, 1 sujet (1/4) inclus dans la cohorte à faible dose et 2 sujets (2/4) de la cohorte à dose élevée ont montré une réduction significative des TG plasmatiques à jeun qui était supérieure aux critères d'évaluation définis. Toutefois, la réduction des TG plasmatiques s'est avérée transitoire et absente sur le suivi à long terme bien que des lipoprotéines lipase actives aient été trouvées dans des biopsies musculaires réalisées autour des sites d'injections entre 26 et 36 semaines après l'injection.

Des anticorps contre les protéines de l'enveloppe de l'AAV1 ont également été détectés chez certains patients mais pas contre les LPL^{S447X}. Suite à la découverte de ces anticorps, une hypothèse sur une potentielle causalité entre l'effet transitoire et la présence d'une réponse immunitaire a été de nouveau émise.

D'autre part, au cours de cette étude, aucun événement indésirable grave n'a été observé chez les sujets surveillés².

2. Phase II / III (CT-AMT-011-01)

Suite au premier essai ayant prouvé une efficacité de AMT-010 sur le taux de TG chez l'homme, AMT a réalisé un deuxième essai à doses croissantes (CT-AMT-011-01). Dans celui-ci les participants ont été choisis selon les mêmes caractéristiques que le premier essai mais devaient présenter en plus un historique de pancréatites. L'analyse de ce nouveau critère permettait d'évaluer l'impact clinique du traitement en comparant la clinique des patients avant et après le traitement. De plus, une cohorte supplémentaire a reçu une dose élevée du traitement pour déterminer si l'efficacité était dose-dépendante sur les paramètres biologiques (TG, chylomicrons, ...) et sur l'incidence des pancréatites².

Pour cette étude 14 participants ont été divisés en deux cohortes :

Le premier groupe (6 sujets) a reçu une dose de 3×10^{11} cg / kg (correspondant à la dose plus élevée de l'étude CT-AMT-010), tandis que le second groupe a reçu une dose de 1×10^{12} cg / kg.

Afin de vérifier l'hypothèse sur le développement de l'immunogénicité émise lors de l'étude CT-AMT-010, 4 des 6 sujets de la cohorte à faible dose et les 8 sujets du groupe à dose élevée ont bénéficiés d'une co-administration d'immunosuppresseurs (combinaison de 3 mg/kg de cyclosporine et de 2 g/j de mycophénolate mofétil) afin de minimiser l'immunogénicité «potentielle» des protéines des capsides virales et des LPL transgéniques.

Comme pour la première étude, les taux de TG à jeun des sujets ont été examinés pendant les 12 semaines post injection².

Résultats biologiques de l'étude CT-AMT-011-01

Sur les 14 patients de l'étude, 7 ont atteint un seuil de TG plasmatiques ≤ 10 mmol/L ou une réduction de 40% de la moyenne des TG à jeun entre les semaines 3 et 12 suivant l'injection. Comme pour CT-AMT-010, cet effet n'a été que passager et le taux de TG plasmatiques à jeun est revenu au niveau de base après 26 semaines même si aucun anticorps contre les LPL^{S447X} n'a été détecté. Cette absence d'anticorps a permis de réfuter l'hypothèse émise précédemment et d'avancer que les immunosuppresseurs n'avaient possiblement aucun effet sur le prolongement de

la réduction des TG tout en présentant potentiellement plus de risques que de bénéfices.

Bien que les taux de TG soient revenus à la normale après 26 semaines, une analyse sur les types de lipoprotéines à jeun a révélé une réduction globale des TG des chylomicrons à jeun avec une augmentation concomitante des VLDL jusqu'à 52 semaines. Cela suggère que, bien que les taux de TG sériques totaux augmentent en post-injection pour *in fine* revenir à la normale la composition des lipoprotéines est elle altérée².

Résultats cliniques de CT-AMT-010-01 et CT-AMT-011-01

Si l'on se penche sur les résultats cliniques il faut noter que le suivi au long terme des deux premières études cliniques CT-AMT-010-01 et CT-AMT-011-01 indique une incidence réduite des pancréatites chez les participants ayant reçus Glybera® bien que le nombre de patients étudiés soit trop petit pour atteindre une preuve statistiquement significative. Néanmoins, ces résultats positifs permettent de continuer les essais pour obtenir plus de données sur l'efficacité du Glybera®².

3. Phase II / III (CT-AMT-011-02)

Après examen des données générées par les études cliniques initiales de Glybera®, une recherche a été lancée pour savoir si la réduction du taux de TG total à jeun était un critère d'évaluation approprié pour évaluer l'efficacité d'un médicament dans la LPLD comme décrit dans la littérature.

En effet, jusqu'alors dans toutes les études réalisées, le taux de TG avait fini par retourner au taux de base chez tous les sujets traités indépendamment de la posologie administrée ou la présence d'un traitement immunosuppresseurs concomitant. Pourtant malgré ce retour à la normale, l'alipogène tiparvovec semblait avoir un effet au long terme sur la composition des lipoprotéines plasmatiques puisque le suivi des sujets traités dans les études avait montré que 52 semaines après l'injection les taux des TG contenus dans les chylomicrons avaient considérablement réduit et les taux de VLDL eux avaient augmentés.

De plus, il a été découvert que les chylomicrons de grandes tailles « TG-riches » pourraient être les déclencheurs principaux des pancréatites. En effet, de par leurs

grandes tailles ils se retrouvent piégés et soumis à l'action de la lipase dans les microcapillaires pancréatiques provoquant la libération d'acides gras libres et le déclenchement d'une réponse inflammatoire dans les cellules acineuses pancréatiques à l'origine des pancréatites.

Cette découverte a permis à AMT de s'apercevoir que le suivi du taux de TG comme élément d'évaluation de l'efficacité du produit n'était pas forcément le bon critère. Ainsi, AMT a demandé à l'EMA de modifier les critères d'évaluations de l'efficacité des traitements afin de pouvoir utiliser le métabolisme des chylomicrons comme critère d'évaluation principal pour étudier l'efficacité du Glybera® dans les études suivantes ainsi que la réduction des TG totaux à jeun comme seconde mesure d'efficacité. Cette demande a été acceptée par l'EMA².

Suite à ce changement de critères d'évaluation un 3ème essai a été réalisé (CT-AMT-011-02) pour évaluer la durée d'efficacité de Glybera® sur le métabolisme des chylomicrons postprandiaux.

Pour mesurer cela, 5 participants qui répondaient aux critères d'admissibilité des études précédentes et qui avaient des antécédents de pancréatites chroniques ont été suivis pendant un an après avoir reçu une dose de 1×10^{12} cg / kg de AMT-011 avec une administration concomitante d'immunosuppresseurs (cyclosporine, mycophénolate mofétil et un bolus préalable de méthylprednisolone)².

Résultats de 2 semaines avant à 14 semaines après l'injection

Afin d'assurer une évaluation standardisée de l'efficacité du traitement et assurer que cette dernière n'était pas liée à un autre critère, les 5 sujets de l'étude ont pris 2 semaines avant et 14 semaines après l'injection, un repas pauvre en matières grasses contenant un traceur palmitate 3H. Des prélèvements de sang ont été réalisés par la suite toutes les heures afin de doser les traceurs et la fraction en TG dans les lipoprotéines.

En plus, 6 patients contrôles ont été suivis dans les mêmes conditions².

Résultats après 14 semaines

14 semaines après l'injection, les 5 patients qui ont reçu Glybera® présentaient une clairance des chylomicrons normale et des taux de TG dans les chylomicrons

comparables aux sujets contrôles. Bien que les TG plasmatiques totaux soient retournés à la baseline 14 semaines après le traitement, le métabolisme postprandial des chylomicrons présentait une amélioration significative comparé à avant l'injection².

Résultats 52 semaines après l'injection

52 semaines après l'injection, 3 des 5 patients ont répété l'expérience de traçage avec des repas pauvres en graisses et les prélèvements sanguins toutes les heures. Une clairance des chylomicrons améliorée a été de nouveau observée bien qu'elle ait été réduite par rapport aux 14 premières semaines.

Les données de l'étude CT-AMT-011-02 indiquent donc que les patients qui ont reçu l'alipogène tiparvovec bénéficient d'une amélioration du métabolisme des chylomicrons au long terme même si les taux de TG sériques totaux reviennent à la baseline. Ce critère d'évaluation ne correspond pas au critère usuel d'évaluation de la LPLD comme décrit dans la littérature ce qui va poser problème à AMT lors de son évaluation puisqu'il ne sera considéré comme recevable par les autorités que très tard dans la procédure d'autorisation du Glybera®².

4. CT-AMT-011-03

Les précédents essais cliniques CT-AMT-010, CT-AMT-011-01 et CT-AMT-011-02 ont permis de prouver que l'alipogène tiparvovec augmentait la clairance des chylomicrons à long terme mais ils n'ont pas évalué si cette amélioration de la clairance permettait de réduire l'incidence des pancréatites.

C'est dans cet objectif que l'étude de phase III CT-AMT-011-03 a été conçue spécifiquement. Elle consiste en une rétroanalyse réalisée sur 17 des 22 patients inscrits dans les trois premières études².

Résultat de l'étude CT-AMT-011-03

Dans cette étude l'incidence des pancréatites a été mesurée sur une période de 3 ans avant et après le traitement. Durant cette période 41 pancréatites ont été dénombrées avant l'injection dont 11 d'entre elles étaient concentrées sur 3 patients.

La majorité des pancréatites post traitement étaient également concentrées sur 3 patients.

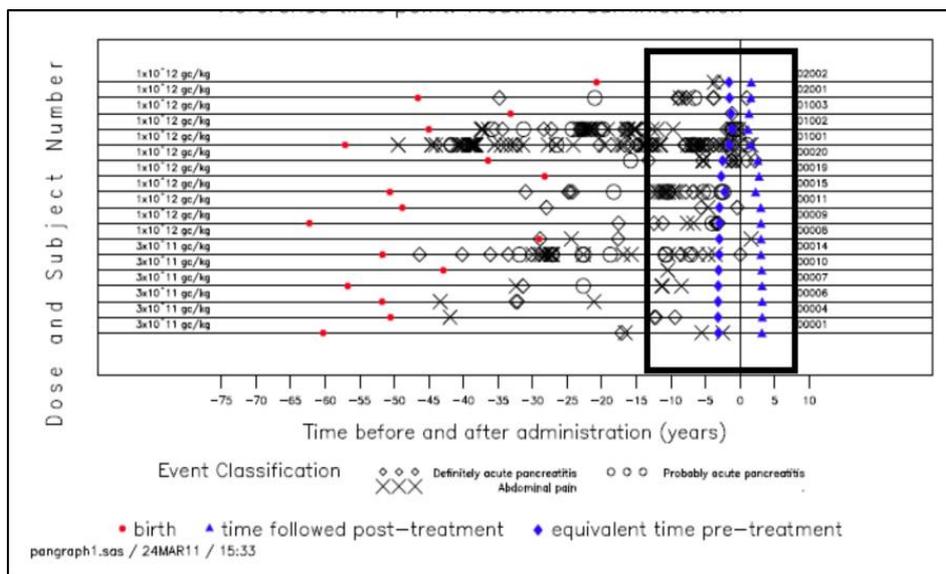


Figure 7 : Répartition des événements par patients de CT-AMT-011-03²

Il faut noter que parmi les 17 patients étudiés, 8 n'ont pas eu de crises de pancréatites post traitement mais on ne peut pas affirmer avec un aussi petit nombre de patients traités et une période d'évaluation si courte avant et après le traitement que ces bons résultats soient liés au Glybera®.

Trial	Study size	Dose (gc/kg)	Study duration	Follow-up duration	Immunosuppressants	Primary endpoint	Secondary endpoint	Number of subjects meeting endpoint	References
CT-AMT010-01	8	1 × 10 ¹¹ (n=4) 3 × 10 ¹¹ (n=4)	12 weeks	5 years	No	TG reduction ≤10 mmol/L or TG reduction ≥40%	None	3 (38%)	9-13
CT-AMT011-01	14	3 × 10 ¹¹ (n=6) 1 × 10 ¹² (n=8)	12 weeks	5 years	Yes (n=12) No (n=2)	TG reduction ≤10 mmol/L or TG reduction ≥40%	None	7 (50%)	9,11-13
CT-AMT011-02	5	1 × 10 ¹²	14 weeks	1 year	Yes (n=5)	TG reduction ≤10 mmol/L or TG reduction ≥40%	Reduction in ppCM TG	5 (100%)	12,13,23
CT-AMT011-03	17 (from previous trials)	N/A	N/A	N/A	N/A	Reduction in pancreatitis occurrence	None	8 (47%)	13,25

Figure 8 : Résumé des caractéristiques des 4 essais cliniques réalisés avec alipogene tiparvec⁹

5. La demande d'AMM

Suite à la réalisation des 4 essais cliniques présentés précédemment, AMT a déposé une demande d'autorisation de mise sur le marché pour le Glybera® à l'EMA en janvier 2010. Ce dossier a été revu durant 3 ans, trois années durant lesquelles

Glybera® a rencontré de nombreux obstacles qui ont bien failli lui valoir un refus d'autorisation de mise sur le marché définitif. Ces obstacles ne sont pas spécifiques au Glybera® et sont ceux que devront franchir tous les futurs traitements de thérapie génique ainsi que les médicaments orphelins en général.

Comme Glybera® était le premier traitement de thérapie génique approuvé en Europe, les limites et les frontières du process réglementaire européen d'approbation ont été testé jusqu'à des niveaux sans précédent².

- **Du refus à la faillite**

Lors de l'évaluation du dossier comme pour tous les nouveaux agents biologiques, la préoccupation initiale des autorités a été placée sur la sécurité et la fabrication du médicament. Dans ce cadre, la toxicologie préclinique et les données provenant des essais cliniques ont montré que le Glybera® ne présentait pas de toxicité ou de problèmes aigus de biodistribution. Le CAT et le CHMP ne se sont donc pas attardés sur ces points.

Malgré cela les deux instances de l'EMA (CAT et CHMP) ont dans un premier temps rejeté la demande d'AMM pour manque de preuve d'efficacité du produit. AMT a alors fait appel et demandé un réexamen du dossier d'évaluation par l'EMA. Ainsi le CAT après un examen supplémentaire a pu renverser son avis négatif pour recommandé au CHMP l'approbation du Glybera®.

À la surprise de beaucoup, malgré la recommandation du CAT, le CHMP a de nouveau rejeté l'approbation en octobre 2011 en indiquant que l'alipogène tiparvovec n'avait pas démontré de façon suffisante son efficacité sur la baisse des TG et qu'il y avait trop peu de patients chez qui les données au long terme pouvaient être exploitées.

Notons que la LPLD est une maladie rare affectant seulement une personne sur 1 million, et que l'ensemble des essais cliniques fournis aux dossiers de demande d'AMM incluait au total seulement 27 participants. Ce dilemme entre efficacité et preuves scientifiques se retrouve pour chaque médicament orphelin puisque de très petites populations existent pour ces pathologies et donc pour tester les potentiels médicaments.

Dans les traitements de ces pathologies rares, la pratique communément acceptée consiste à apporter une quantité de données permettant de montrer une efficacité claire lors des essais cliniques pour atteindre les critères d'efficacité établis chez l'homme et de fournir plus d'informations après l'AMM avec des données de vie réelle.

L'alipogène tiparvovec, a montré une efficacité mais n'a pas démontré à long terme un abaissement des TG malgré une amélioration au long terme du métabolisme des chylomicrons. L'utilisation du métabolisme postprandial des chylomicrons comme critère d'efficacité dans la LPLD n'était pas un critère d'évaluation « validé » et aucune preuve permettant de prouver que ce critère pouvait être utilisé comme marqueur d'efficacité.

Le peu de patients combiné à un critère d'évaluation « non validé » a provoqué les refus successifs du CHMP pour manque de preuve².

Après deux refus d'AMM, AMT a été confronté à des difficultés financières qui l'ont obligé à vendre ses actifs à une société privée nouvellement formée dénommée UniQure.

- **Du rachat à l'AMM**

A la suite du rachat, de façon tout à fait exceptionnelle, la Commission européenne, entité qui généralement ratifie la recommandation précédemment faite par le CHMP a demandé en janvier 2012 au CHMP de réexaminer le dossier de l'alipogène tiparvovec encore une fois en se concentrant cette fois-ci sur l'examen d'un sous ensemble de patients souffrant d'une LPLD sévère c'est à dire qui avaient connu des pancréatites chroniques et récurrentes.

Le CHMP a donc analysé les données disponibles de l'étude CT-AMT-011-03 qui montraient une réduction cliniquement significative de l'incidence des pancréatites chez 17 patients suivis durant trois ans après le traitement ainsi que les données de l'étude CT-AMT-011-02 montrant que l'alipogène tiparvovec pouvait modifier les caractéristiques des lipoprotéines à long terme en réduisant la teneur en TG des chylomicrons de grandes tailles.

Comme le métabolisme postprandial des chylomicrons n'était pas un critère précédemment validé et que la quantité de données disponible chez les patients souffrant de pancréatites sévères (5 patients) était encore trop faible pour autoriser la mise sur le marché du produit, le CHMP a rendu une nouvelle fois un avis négatif

bien que le nombre des membres du comité en faveur de l'approbation ait été plus élevé que dans les révisions précédentes.

Lors d'une audience face-face avec le CHMP et un comité d'experts *ad hoc*, UniQure a apporté des preuves scientifiques concernant l'utilisation du métabolisme postprandial des chylomicrons comme marqueur d'efficacité des médicaments contre la LPLD. Il a aussi rappelé que les données des patients souffrant de maladies rares sont par nature limitées. Et c'est suite à cela qu'UniQure a été encouragé à présenter une quatrième fois le dossier de l'alipogène tiparvovec pour réexamen et cette fois-ci le CHMP a recommandé l'approbation par une majorité étroite pour une AMM sous circonstance exceptionnelle.

Ainsi, en novembre 2012 la commission européenne autorise le Glybera® et permet son déploiement en Europe en 2014².

6. Données à fournir pour la réévaluation annuelle du rapport bénéfice / risque

UniQure devra réaliser un registre regroupant l'ensemble des patients mis sous Glybera® et devra recueillir la mesure des chylomicrons postprandiaux avant le traitement (baseline) et tous les 12 mois afin de fournir plus de données sur l'efficacité du traitement. De plus, des données additionnelles seront collectées pendant 15 ans, en particulier les pancréatites et les hospitalisations d'urgences liées à la LPLD.

La sécurité, autrement dit l'immunogénicité au long cours sera évaluée par la mesure des anticorps anti-LPL et la réponse immunitaire cellulaire.

Ces données d'efficacité et de sécurité constitueront la base du rapport annuel de réévaluation du rapport bénéfice/risque de Glybera® pour son AMM sous circonstances exceptionnelles jusqu'à ce qu'il y ait assez de données permettant de prouver son efficacité².

7. Prix du Glybera®

Le concept de la thérapie génique a été validé par des essais cliniques et confirmé par l'obtention d'une autorisation de mise sur le marché en 2012, maintenant reste à

déterminer combien les autorités sont prêtes à payer pour ce traitement innovant dans une maladie rare.

Cette question qui se pose pour tout nouveau médicament s'est retrouvée sous les feux des projecteurs pour le Glybera® lorsqu'UniQure et son partenaire commercial Italien Chiesi ont déposé un dossier auprès des autorités allemandes en demandant un prix de 53 000 euros par flacon. Rapporté à un patient souffrant de LPLD dont le poids avoisine les 62,5 kg en moyenne, 21 flacons seront nécessaires pour le traiter et le prix du traitement s'élèverait à 1,1 million d'euros décrochant un nouveau record de prix pour le traitement d'une maladie rare. Avec seulement 150 à 200 patients éligibles au traitement à travers l'Europe et un nombre similaire aux États-Unis, l'impact du Glybera® sur le budget de santé des pays est faible comme le confirme la décision de la HAS du 24 juin 2015 "Le produit GLYBERA n'est pas susceptible d'avoir un impact significatif sur les dépenses de l'assurance maladie"³³. Malgré cet impact faible l'attribution d'un prix pour le Glybera® ne doit pas être prise à la légère car il constituera un précédent sur lesquels pourront s'appuyer les traitements de thérapie génique en développement dans des pathologies rares.

Il faut noter que l'évaluation de prix élevés pour des traitements spécifiques n'est plus une nouveauté pour les autorités. Le précédent record pour un médicament orphelin était détenu par Soliris© (eculizumab) dans l'Hémoglobinurie Paroxystique Nocturne (HPN) avec un prix avoisinant les 540 000 \$. En comparaison, une transplantation hépatique peut coûter entre 250 000 et 300 000\$ voir bien plus s'il y a des complications. Un traitement par remplacement d'enzyme (TRE) pour de rares pathologies peut aisément coûter 50 000\$/an et un traitement complet avec le nouveau médicament contre l'hépatite C Sovaldi® coûte 85 000\$. Les traitements contenant des facteurs de coagulation pour l'hémophilie peuvent coûter 100 000\$/an dépendant de la fréquence et de la sévérité des épisodes de saignement³⁴.

Glybera® contrairement aux traitements précédents est un traitement en une seule prise et UniQure affirme que le coût de 1,4 million de dollars pour un traitement unique n'est pas exagéré car il apporte un effet au long terme et qu'il génère à terme des économies pour les autorités de santé. Pour la plupart des traitements, les revenus proviennent des administrations répétées, comme c'est le cas des traitements à bases d'anticorps monoclonaux.

Un prix élevé est souvent argumenté par l'industrie pharmaceutique comme un retour sur investissement des dépenses de R&D qu'il a fallu réaliser pour obtenir une AMM. Cependant un prix élevé supérieur à 1 million d'euros déclencherà

probablement des débats au sein des autorités de santé et du public puisque dans la majorité des cas les coûts de R&D de Glybera® ont déjà été couverts par des fonds publics de recherche. Dans ce contexte, il est probable que les agences gouvernementales interviennent sur la demande de prix et demande un compromis. Lors de la détermination du prix d'un médicament on peut également se poser la question du coût-bénéfice patient: "Préfère t'on dépenser plus d'un million d'euros pour améliorer les conditions de vie d'un patient avec le Glybera® plutôt que 10 ou 20 femmes avec un cancer du sein avancé ou 200 patients qui ont besoin d'un remplacement de la hanche?"³⁴

Afin de pouvoir répondre à ces prix de médicaments de plus en plus importants de nouveaux schémas de paiement doivent être étudiés. Un seul paiement au moment du traitement serait la solution la plus simple pour la société produisant le traitement. Cependant, des modèles alternatifs ont été suggérés selon lesquels le paiement annuel pourrait être réalisé après une période de temps permettant de prouver que le traitement est efficace. Cette approche fournirait probablement un plus stable, bien que plus lent flot de revenu pour les compagnies développant de nouveaux traitements dans les maladies rares. Toutefois, une telle approche peut créer des complications, par exemple, si la couverture santé ou si le médecin traitant change après l'initiation du traitement.

Une approche rationnelle pour déterminer le prix d'un médicament serait de déterminer le coût-efficacité du traitement. Actuellement dans la détermination d'un prix l'accent est placé sur l'amélioration de la qualité de vie, bien qu'il soit difficile à monétariser.

A la vue de tous ces éléments à évaluer et à prendre en compte, on peut prévoir que la détermination du prix du Glybera® et de son remboursement est un sujet très important dépassant le cadre du Glybera® seul et deviendra très clairement un tournant décisif sur la longue route de la thérapie génique³⁴.

8. Le Glybera® constitue-t-il une avancée ?

La LPLD est une maladie génétique grave caractérisée par une hypertriglycémie profonde qui peut causer de graves pancréatites récurrentes même lorsque les patients suivent des régimes sévèrement restreints en graisses. Il y a plusieurs

raisons pour lesquelles la LPLD est une bonne cible pour de nouvelles thérapies de remplacement de gènes.

Tout d'abord, il n'y a aucun traitement curatif efficace pour cette pathologie, ce qui nécessite le développement de nouvelles approches pour traiter la maladie et des modèles animaux de LPLD sont disponibles ce qui rend le développement de nouveaux traitements plus facile à tester et à étudier *in vivo*.

L'autorisation du Glybera® comme premier traitement de thérapie génique en Europe est un moment important dans l'histoire de la santé, mais malgré cette grande avancée de nombreuses questions demeurent. Premièrement pourquoi l'abaissement des TG sériques n'est que temporaire ? Comme la correction à long terme de l'hypertriglycémie n'a pu être observée, le médicament a été approuvé seulement pour un petit sous-ensemble de patients ayant des antécédents de pancréatites chroniques sévères et de ce fait de nombreux experts doutent encore qu'alipogene tiparvovec puisse être efficace avec une seule injection. Une étude plus approfondie sur les causes du rebond des TG après 26 semaines mériterait d'être réalisée en gardant en tête qu'il est peu probable que l'effet temporaire soit dû à une réponse immunitaire puisqu'aucune amélioration n'a été observée avec l'utilisation des immunosuppresseurs.

Les effets temporaires d'alipogene tiparvovec suggèrent que la biologie de mise en place du transgène au long terme et son expression sont plus complexe qu'on ne le pensait à l'origine. La correction ultime à long terme de l'hypertriglycémie chez les patients LPLD proviendra peut-être des approches de thérapie génique de prochaines générations telles que l'introduction de cellules souches pluripotentes induites et l'édition du gène LPL dans les cellules souches musculaires satellites. Mais avant cela, une étude plus approfondie sur le mécanisme par lequel l'alipogene tiparvovec affecte le métabolisme des chylomicrons postprandiale à long terme même après que les taux de TG sériques aient rebondi mériterait également d'être réalisée.

Deuxièmement, des questions subsistent aussi sur la façon dont le processus d'approbation réglementaire a été réalisé et notamment son impact sur les développements à venir des nouvelles thérapies géniques. Glybera® constitue un excellent exemple des différents défis auxquels devront faire face les nouvelles thérapies géniques pour traiter des maladies orphelines dans les prochaines années et réaliser des études cliniques « statistiquement significatives » avec de petites populations de patients. Dans le cas Glybera®, cette difficulté a été reconnue par

l'EMA et a été un facteur majeur dans la décision d'approbation du médicament. Cependant avant qu'il soit reconnu Glybera® a dû présenter son dossier 4 fois. Ce chemin difficile a coûté très cher à AMT qui a dû vendre son produit à une société privée pour que le Glybera® puisse continuer à avancer dans le processus réglementaire. Toutes les sociétés ne seront pas prêtes à investir autant d'argent ou se mettre en péril pour un produit, ce qui pourrait avoir comme conséquence une diminution du nombre de produits de thérapie génique soumis pour évaluation.

Troisièmement, une question subsiste sur les capacités des assurances maladies à rembourser ce type de produit. S'agissant d'un produit de biotechnologie les coûts de développement sont particulièrement élevés ce qui se répercute sur les prix demandés par la société pour le remboursement par la sécurité sociale. Ainsi Glybera® devrait coûter \$ 1,4 million par traitement, ce qui attribue à cette nouvelle thérapeutique le titre de traitement le plus cher au monde lors de son déploiement en 2014.

Ces nouveaux médicaments de biotechnologies sont-ils coût-efficace ? Le coût du traitement est-il proportionnel à l'efficacité ? La question mérite d'être posée dans ces pathologies orphelines où la preuve de l'efficacité est difficile à obtenir. Réduire les coûts de développement s'avérera probablement être aussi un défi majeur pour les entreprises développant des traitements de thérapie génique dans les maladies orphelines.

Glybera® est une grande avancée pour la science et par de nombreux aspects représente un excellent exemple pour l'ensemble des sociétés travaillant dans le domaine de la thérapie génique ainsi que pour les autorités d'évaluation.

IV. Conclusion

Très prometteuse, la thérapie génique ne s'est avérée efficace que dans le cas de la DICS avec l'essai du professeur Alain Fischer¹⁵ et dans le cas du Glybera®, premier médicament de thérapie génique à obtenir une AMM en Europe. Même si la thérapie génique a prouvé sa faisabilité dans ces deux cas, elle rencontre encore des difficultés à avancer et reste confrontée à trois obstacles : la science, le financement et la réglementation.

Premièrement, l'obstacle scientifique représente l'axe d'amélioration principal de la thérapie génique. Certains éléments très techniques à la base de la thérapie génique ne sont pas maîtrisés tels que les vecteurs de transfert du gène médicament, l'efficacité, la sélectivité et l'innocuité des vecteurs, tout comme la stabilité et la longévité de l'expression du transgène. Le faible rapport bénéfices/risques des médicaments de thérapie génique est la conséquence de cette non maîtrise.

Le deuxième obstacle est lui financier. Les structures de production de lots cliniques de vecteurs destinés à la thérapie génique nécessitent des investissements lourds en raison notamment des exigences des bonnes pratiques de fabrication. De ce fait peu de firmes pharmaceutiques sont dans la capacité de réaliser la recherche et la production de ces vecteurs. De plus, l'expérimentation sur les animaux, les essais cliniques ainsi que les demandes d'agrément et d'enregistrement ont également un coût élevé et prennent beaucoup de temps. Cela empêche parfois les petites structures de pouvoir continuer le développement d'un produit.

Le troisième et dernier obstacle de la thérapie génique repose sur la réglementation encadrant celle-ci. Ainsi, pour assurer que l'utilisation d'OGM sera réalisée de manière à maintenir la protection de la santé publique et de l'environnement, les procédures d'autorisations, d'évaluations et de déclaration d'agrément ont été mises en place. Celles-ci nécessitent de nombreuses données sur la qualité du produit et font intervenir un grand nombre de personnes et d'entités, rendant les procédures longues, complexes et parfois dissuasives pour certaines sociétés.

Les autorités ont pour responsabilité d'assurer la sécurité de la population et assurer que les traitements qu'elles autorisent ont un rapport bénéfices/risques positif. Ainsi, sur les 3 obstacles majeurs identifiés, les autorités ne peuvent agir que sur les

aspects financiers et réglementaires pour faciliter le développement de la thérapie génique. C'est pourquoi tout en maintenant un niveau de sécurité très important elles ont mis en place des mesures incitatives qui viennent réduire les coûts et facilitent les procédures administratives. En diminuant ces obstacles financiers et réglementaires les autorités aident au développement de la thérapie génique toutefois les autorités sont impuissantes face à la non maîtrise de la science qui reste l'obstacle prédominant qu'il faudra franchir pour que la thérapie génique entre réellement dans l'arsenal thérapeutique.

Bibliographie

- 1 Bull. Acad. Natle Méd., 2001, 185, no8, 1539-1560
- 2 EPAR Glybera – Assessment report EMA/882900/2011
- 3 <http://www.inserm.fr/thematiques/genetique-genomique-et-bioinformatique/dossiers-d-information/therapie-geniquerecherche> réalisée le 24 octobre 2015
- 4 <http://medical-dictionary.thefreedictionary.com/gene+therapy> recherche réalisée le 24 octobre 2015
- 5 Cottier & /Guerry 2000, Génie Génétique et Clonage 98-125
- 6 La thérapie génique une réalité pour demain ? Gastroenterology Clin. Biol. 2005 ;29 :724-731
- 7 <http://www.wiley.com//legacy/wileychi/genmed/clinical/> recherche réalisée le 03 février 2016
- 8 http://www.jle.com/fr/revues/bio_rech/vir/e-docs/00/03/F8/D1/article.phtml recherche réalisée le 26 septembre 2015
- 9 Gene therapy finds its niche nature biotechnology volume 29 number 2 February 2011 121
- 10 VIH, JC Lemahieu et A. Decoster, FLM, p. 2
- 11 An introduction to molecular medicine and genes therapy by Thomas F. Kresina
- 12 Lentiviral vectors: turning a deadly foe into a therapeutic agent, D Trono, Gene therapy (2000) 7, 20-23
- 13 Les vecteurs non-viraux de thérapie génique. Legendre, JY ; Haensler, J ; Rémy, JS, Med Sci (Paris), 1996, Vol. 12, N° 12 ; p.1334-41
- 14 Induction of arginase activity with the Shope papilloma virus in tissue culture cells from an argininemic patient by Stanfield Rogers,* A. Lowenthal, H.G. Terheggen, and J. P. Columbo
- 15 Gene therapy of children with X-linked severe combined immune deficiency : efficiency and complications : Alain Fischer, Salima Hacein-Bey-Abina et Marina Cavazzana-Calvo M/S : medicine sciences, vol. 20, n° 1, 2004, p. 115-117.
- 16 <http://videos.doctissimo.fr/sante/genetique/Bebes-bulles-les-essais-de-therapie-genique-ont-repris.html> recherche réalisée le 26 septembre 2015
- 17 http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/001103/wapp/Initial_authorisation/human_wapp_000083.jsp&mid=WC0b01ac058001d128 recherche réalisée le 26 septembre 2015
- 18 Gene therapy : targeting Beta thalassaemia Cavazzana-Calvo, M. et al. Nature 467, 277-278 (2010)
- 19 Directive 2001/83/CE du parlement européen et du conseil du 6 novembre 2001 instituant un code communautaire relatif aux médicaments à usage humain
- 20 Règlement (CE) n°1394/2007 du parlement européen et du conseil du 13 novembre 2007 concernant les médicaments de thérapie innovante et modifiant la directive 2001/83/CE ainsi que le règlement (CE) n°726/2004
- 21 Directive 2009/41/CE du parlement européen et du conseil du 6 mai 2009 relative à l'utilisation confinée de micro-organismes génétiquement modifiés
- 22 Décret 2011/1177 du 23 septembre 2011 relatif à l'utilisation confinée d'organismes génétiquement modifiés
- 23 Loi n° 2008-595 du 25 juin 2008 relative aux organismes génétiquement modifiés
- 24 Directive 2001/18/CE du parlement européen et du conseil du 12 mars 2001 relative à la dissémination volontaire d'organismes génétiquement modifiés dans l'environnement et abrogeant la directive 90/220/CEE du Conseil
- 25 Art R533-7 code de l'environnement
- 26 Article R1125-3 code de la santé publique
- 27 <http://www.wiley.com//legacy/wileychi/genmed/clinical/> recherche réalisée le 09 mai 2016
- 28 Règlement (CE) n°1394/2007 du parlement européen et du conseil du 13 novembre 2007 concernant les médicaments de thérapie innovante et modifiant la directive 2001/83/CE ainsi que le règlement (CE) n°726/2004
- 29 Règlement (CE) n°726/2004 du parlement européen et du conseil du 31 mars 2004 établissant des procédures communautaires pour l'autorisation et la surveillance en ce qui concerne les médicaments à usage humain et à usage vétérinaire, et instituant une Agence européenne des médicaments
- 30 <http://www.leem.org/sites/default/files/Reglementation-02.pdf> recherche réalisée le 27 février 2016.
- 31 Règlement (CE) No 141/2000 du parlement européen et du conseil du 16 décembre 1999 concernant les médicaments orphelins
- 32 An update on gene therapy for the treatment of lipoprotein lipase deficiency Andrew E. Libby Hong Wang Orphan Drug : Research and Reviews 2014 : 4 47-54
- 33 HAS Décision n°2015.0157/DC/SEESP du 24 juin 2015 du collège de la Haute Autorité de santé constatant l'absence d'impact significatif du produit GLYBERA sur les dépenses de l'assurance maladie
- 34 Glybera's Second Act: The Curtain Rises on the High Cost of Therapy Molecular Therapy vol. 23 no. 2 february 2015 p 217

Université de Lille 2

FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES DE LILLE

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Année Universitaire 2015 / 2016

Nom : OLIVIER

Prénom : Jérôme

Titre de la thèse : A PARTIR D'UN CAS D'ESPECE, LE GLYBERA®, QUELS OBSTACLES TECHNIQUES OU REGLEMENTAIRES FAUDRA-T-IL SURMONTER POUR QUE LA THERAPIE GENIQUE IN VIVO ENTRE REELLEMENT DANS L'ARSENAL THERAPEUTIQUE ?

Mots-clés : Glybera®, Alipogene tiparvovec, Thérapie génique, Thérapie innovante, autorisation de mise sur le marché.

Résumé : La thérapie génique fait rêver les scientifiques depuis 1970 car elle est porteuse de l'espoir de pouvoir guérir des patients porteurs de maladies pour lesquelles les traitements actuels sont symptomatiques ou inexistantes. Le rêve devient réalité 42 ans après ses débuts quand le Glybera®, premier médicament de thérapie génique obtient son AMM après 3 ans de revue réglementaire. L'étude du chemin emprunté par le Glybera® permet d'aborder les différents obstacles réglementaires, économiques et scientifiques auxquels sont confrontés les médicaments de thérapie génique et expliquer les délais et difficultés rencontrés pour arriver sur le marché.

Membres du jury :

Président : Gras, Hélène, Professeur en chimie thérapeutique, Université Droit et Santé Lille 2

Assesseur(s) : Sergheraert, Eric, Professeur en Droit et Economie pharmaceutique, Université Droit et Santé Lille 2

Membre(s) extérieur(s) : Migliarese-Caputi, Victoire, Docteur en pharmacie