Université de Lille Année universitaire 2022/2023 Faculté de pharmacie de Lille

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Soutenue publiquement le 26 juin 2023 Par Mme Emilie RAYMACKERS

Le développement et l'enregistrement du médicament orphelin au travers d'un exemple : La Choroïdérémie

Membres du jury:

Président : Eric Sergheraert, Professeur des Universités, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

Directrice, conseillère de thèse : Anne-Catherine PERROY, Professeure des Universités, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

Assesseur(s): Vasily Smirnov, Praticien hospitalo-universitaire, Chef du service d'Extrapolation de la vision et de Neuro-Ophtalmologie



Faculté de Pharmacie de Lille 3 Rue du Professeur Laguesse - 59000 Lille 03 20 96 40 40



https://pharmacie.univ-lille.fr

Université de Lille

Président Régis BORDET Premier Vice-président Etienne PEYRAT Vice-présidente Formation Christel BEAUCOURT Vice-président Recherche Olivier COLOT Kathleen O'CONNOR Vice-présidente Réseaux internationaux et européens

Vice-président Ressources humaines Jérôme FONCEL

Directrice Générale des Services Marie-Dominique SAVINA

UFR3S

Doyen **Dominique LACROIX** Premier Vice-Doyen Guillaume PENEL Éric BOULANGER Vice-Doyen Recherche Vice-Doyen Finances et Patrimoine **Damien CUNY** Vice-Doyen Coordination pluriprofessionnelle et Formations sanitaires Sébastien D'HARANCY Hervé HUBERT

Vice-Doyen RH, SI et Qualité

Vice-Doyenne Formation tout au long de la vie Caroline LANIER Vice-Doyen Territoires-Partenariats Thomas MORGENROTH

Claire PINÇON Vice-Doyenne Vie de Campus

Vice-Doyen International et Communication Vincent SOBANSKI Vice-Doyen étudiant **Dorian QUINZAIN**

Faculté de Pharmacie

Doyen Delphine ALLORGE Benjamin BERTIN Premier Assesseur et Assesseur en charge des études Assesseur aux Ressources et Personnels Stéphanie DELBAERE Assesseur à la Santé et à l'Accompagnement Anne GARAT Assesseur à la Vie de la Faculté **Emmanuelle LIPKA** Responsable des Services Cyrille PORTA Représentant étudiant Honoré GUISE

Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers (PU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie et Santé publique	81
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie	82
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81

M.	DINE	Thierry	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie	82
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie - Virologie	82
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	ODOU	Pascal	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	POULAIN	Stéphanie	Hématologie	82
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	STAELS	Bart	Biologie cellulaire	82

Professeurs des Universités (PU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Biophysique - RMN	85
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie	87
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	CHAVATTE	Philippe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	COURTECUISSE	Régis	Sciences végétales et fongiques	87
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques	87
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Biophysique - RMN	85
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie thérapeutique	86
M.	DEPREZ	Benoît	Chimie bioinorganique	85
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences végétales et fongiques	87
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie	86
M.	ELATI	Mohamed	Biomathématiques	27
M.	FOLIGNÉ	Benoît	Bactériologie - Virologie	87
Mme	FOULON	Catherine	Chimie analytique	85
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie et Santé publique	86
M.	GOOSSENS	Jean-François	Chimie analytique	85

M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie	86
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique	86
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques	26
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie cellulaire	87
Mme	LESTRELIN	Réjane	Biologie cellulaire	87
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie physique	85
M.	MILLET	Régis	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	MUHR-TAILLEUX	Anne	Biochimie	87
Mme	PERROY	Anne-Catherine	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	ROMOND	Marie-Bénédicte	Bactériologie - Virologie	87
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie	86
M.	SERGHERAERT	Éric	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie organique	86

Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers (MCU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	BLONDIAUX	Nicolas	Bactériologie - Virologie	82
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie	82
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie et Santé publique	81
Mme	GENAY	Stéphanie	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
M.	LANNOY	Damien	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	ODOU	Marie-Françoise	Bactériologie - Virologie	82

Maîtres de Conférences des Universités (MCU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	AGOURIDAS	Laurence	Chimie thérapeutique	85
Mme	ALIOUAT	Cécile-Marie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	ANTHÉRIEU	Sébastien	Toxicologie et Santé publique	86

Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie	87
М.	BANTUBUNGI-BLUM	Kadiombo	Biologie cellulaire	87
Mme	BARTHELEMY	Christine	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	85
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie - Virologie	87
M.	BELARBI	Karim-Ali	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	BERTHET	Jérôme	Biophysique - RMN	85
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie	87
M.	восни	Christophe	Biophysique - RMN	85
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie	86
M.	BOSC	Damien	Chimie thérapeutique	86
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie	87
Mme	CARON-HOUDE	Sandrine	Biologie cellulaire	87
Mme	CARRIÉ	Hélène	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	CHARTON	Julie	Chimie organique	86
M.	CHEVALIER	Dany	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	DANEL	Cécile	Chimie analytique	85
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques	85
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques	27
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire	87
M.	EL BAKALI	Jamal	Chimie thérapeutique	86
M.	FARCE	Amaury	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	FLIPO	Marion	Chimie organique	86
M.	FURMAN	Christophe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie	87
Mme	GOOSSENS	Laurence	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie et Santé publique	86

Mme	GROSS	Barbara	Biochimie	87
M.	HAMONIER	Julien	en Biomathématiques	
Mme	HAMOUDI-BEN YELLES	Chérifa-Mounira	Chérifa-Mounira Pharmacotechnie industrielle	
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie	86
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie	87
M.	KAMBIA KPAKPAGA	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	KARROUT	Younes	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie	87
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie analytique	85
Mme	LEHMANN	Hélène	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	LELEU	Natascha	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie analytique	85
Mme	LOINGEVILLE	Florence	Biomathématiques	26
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie	86
M.	MOREAU	Pierre-Arthur	Sciences végétales et fongiques	87
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques	85
M.	PIVA	Frank	Biochimie	85
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie et Santé publique	86
M.	POURCET	Benoît	Biochimie	87
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques / Innovations pédagogiques	85
Mme	RAVEZ	Séverine	Chimie thérapeutique	86
Mme	RIVIÈRE	Céline	Pharmacognosie	86
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie	86
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie	87

Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie - Virologie	87
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie	87
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Chimie organique	86
M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques	87
M.	YOUS	Saïd	Chimie thérapeutique	86
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques	85

Professeurs certifiés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
Mme	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	HUGES	Dominique	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeurs Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	DAO PHAN	Haï Pascal	Chimie thérapeutique	86
M.	DHANANI	Alban	Droit et Economie pharmaceutique	86

Maîtres de Conférences Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques	85
M.	DUFOSSEZ	François	Biomathématiques	85
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	85
M.	GILLOT	François	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	MITOUMBA	Fabrice	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	86
M.	PELLETIER	Franck	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques	85

Assistants Hospitalo-Universitaire (AHU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	CUVELIER	Élodie	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	GRZYCH	Guillaume	Biochimie	82
Mme	LENSKI	Marie	Toxicologie et Santé publique	81
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81

Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche (ATER)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	GEORGE	Fanny	Bactériologie - Virologie / Immunologie	87
Mme	N'GUESSAN	Cécilia	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	RUEZ	Richard	Hématologie	87
M.	SAIED	Tarak	Biophysique - RMN	85
M.	SIEROCKI	Pierre	Chimie bioinorganique	85

Enseignant contractuel

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
M.	MARTIN MENA	Anthony	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière





Faculté de Pharmacie de Lille

3 Rue du Professeur Laguesse – 59000 Lille 03 20 96 40 40 https://pharmacie.univ-lille.fr

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

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier le **Docteur Anne Catherine Perroy**, Docteure en Pharmacie et Professeure à l'Université de Lille dans la faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, qui m'a encadré tout au long de cette thèse et qui m'a fait partager ses commentaires et sa vision de ma rédaction.

Un grand merci pour sa disponibilité, sa gentillesse ainsi que ses conseils qui m'ont énormément aidé à peaufiner et à présenter le sujet qui nous intéresse dans cette thèse.

Je remercie également le **Docteur Eric Sergheraert**, Docteur en Pharmacie et Professeur à l'Université de Lille dans la faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, pour sa participation en tant que président de jury lors de ma soutenance de thèse.

J'adresse enfin tous mes remerciements au **Docteur Vasily Smirnov**, Docteur, en médecine, Praticien hospitalo-universitaire et Chef du service d'Extrapolation de la vision et de Neuro-Ophtalmologie. Sa relecture et ses commentaires ont été d'une grande aide dans la rédaction de ce document. Son expertise dans le domaine m'a permis d'y voir plus clair et de présenter ce document précis et abouti.

Je souhaite également remercier toute l'équipe pédagogique de la faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille, qui m'a suivie tout au long de mon cursus universitaire et sans qui l'aboutissement de mes études en Pharmacie n'aurai pu être possible.

Merci à ma famille et mes amis, qui ont su me guider et m'épauler tout au long de ses 6 ans d'études :

Merci à **Mathilde**, sans qui la rédaction de ce document n'aurait pas pu être possible. Je garderai avec moi ces bons souvenirs de nos nuits presque blanches et de nos fous rires de fatigue un long moment.

Merci à **Eléonore** et **Honoré** de m'avoir soutenu et motivé lors de la rédaction de ce document, votre amitié, votre aide, vos encouragements et vos critiques m'ont aidé à avancer tout au long du processus de thèse.

Merci à Gaëtan, Margaux, Dorian, Loïc et Mehdi, à votre amitié et aux liens que nous avons créés tout au long de notre cursus universitaire.

J'ai aimé grandir et m'épanouir avec vous tous tout au long de mon cursus. Merci à nos terrasses rue Masséna, à tous ces moments à refaire le monde et à imaginer ce que va être notre vie plus tard. Je suis reconnaissante et fière de vous compter parmi mes amis proches et de construire ma vie personnelle et professionnelle à vos côtés.

Merci à mes parents, Claude et Christèle et à mon frère, Antoine, pour votre confiance et votre dévouement vis-à-vis de mon cursus, à votre patience et à vos

remarques qui m'ont aidé à terminer ces études dans les meilleures conditions possibles. Merci de m'avoir suivi pendant ces longues études et de m'avoir permis de m'épanouir autant que possible.

Merci à **Judicaël**, à tes conseils, ton soutien, ta bienveillance et à ta patience. Merci pour ces longues soirées à réfléchir à la meilleure manière d'aborder ce sujet mêlant médecine et pharmacie. Je suis fière d'avoir rédigé ce document avec ton aide et de tourner le chapitre des études à tes côtés.

Sommaire

Somi	maire	12
Liste	des figures	14
Liste	des tableaux	15
Liste	des abréviations	16
Intro	duction	18
Partic	e I : La Pathologie	19
A.	Historique	19
В.	Clinique – Evolution	19
C.	Physiopathologie – Etiologie	21
1	. Phénotype	21
2	. Génotype	27
3	Corrélation Génotype-Phénotype	30
D.	Diagnostic	21
D. 1		
2	-	
3	-	
E.	Epidémiologie	
F.	Stratégie thérapeutique actuelle	
1		
2	Surveillance et prévention ⁽²⁾	40
Partic	e II. Stratégie de développement	41
A.	Choix de l'indication thérapeutique et de la cible	41
В.	Choix du vecteur	41
C.	Conception du vecteur AAV2-REP1	43
D.	Méthode d'administration	45
E.	La Dénomination Commune Internationale	46
F.	Analyse concurrentielle	46
1	•	
2	. Médicaments en développement	46
G.	Potentiel Résumé des Caractéristiques de notre traitement	48
н.	Propriété intellectuelle	51
1		
2	•	
3	·	
4		
Partie	e III. Phase de développement non-clinique et clinique	54

I.	La phase de développement pré-clinique	54
A.	Cadre réglementaire	54
1.	. L'ICH	55
2.	. Directive 2010/63/UE 3R ou Principe des « 3R »	56
3.	EMA guideline on quality, non-clinical and clinical aspects of medicinal products containing	
ge	enetically modified cells(19)	56
В.	Le modèle animal(19)	E 7
ь.	Le modele animal(15).	57
C.	La réglementation autour du développement non-clinique des produits de thérapie	
géni	ique	60
1.	. Les études de pharmacologie	60
2.	. Les études de toxicologie	60
D.	Développement non clinique de notre médicament	60
1.		
2.		
3.		
4.	·	
5.	·	
E.	Conclusion.	76
II. La	a phase de développement clinique	76
Α.	Contexte réglementaire des essais cliniques	77
В.	Développement clinique de notre médicament	
1.	and the second s	
2.	. Adaptation de nos études à une maladie orpheline	80
Partie	e IV. Plan d'Investigation Pédiatrique	82
A.	Cas de notre médicament	82
В.	Le PIP en Europe	82
1.	•	
2.		
3.		
•		
C.	Le PSP aux États-Unis	
1.	4	
2.	. La soumission du PSP	88
Partie	e V. Stratégie d'enregistrement globale	89
1.	. Généralités	89
2.	. Médicaments orphelins en Europe	90
3.	. Médicaments orphelins aux Etats-Unis	95
1.	Enregistrement en Union Européenne	98
2.	. Enregistrement aux Etats-Unis	102
`onc	dusion	100

Liste des figures

Figure 1 : Diminution du champ visuel au cours de la choroïdérémie ⁽²⁾	20
Figure 2 : Schéma simple de l'œil ⁽²⁾	22
Figure 3 : Schéma simple de la rétine et de la choroïde ⁽²⁾	23
Figure 4 : Résultats structurels typiques de la choroïdérémie ⁽¹⁾	
Figure 5 : Fond d'œil d'une mère atteinte de choroïdérémie et de son fils	25
Figure 6 : Evolution de l'atrophie : Corrélation structure-fonction ⁽⁴⁾	
Figure 7 : Structure du gène CHM ⁽⁶⁾	28
Figure 8 : Action de la protéine REP-1 ⁽¹⁾	29
Figure 9 : Arbre généalogique lié à l'X	36
Figure 10 : schéma d'AAV2-REP-1 ⁽¹¹⁾	43
Figure 11 : Illustration d'une vitrectomie	
Figure 12 : Rappel de la structure de notre vecteur AAV2-REP-1 ⁽¹¹⁾	61
Figure 13 : Western Blot des cellules CHO traitées par notre vecteur ⁽¹⁾	
Figure 14 : Immunofluorescence de cultures de cellules CHO ⁽¹⁾	62
Figure 15 : Analyse par Immuno-Blot des cellules CHO infectées par des doses de 1x10³ à 2x10⁵	de
génome viral d'AVV2-hCHM ⁽¹⁾	62
Figure 16 : Schéma de la génération de la lignée cellulaire iPSc à partir de CPS1 ⁽¹⁾	63
Figure 17 : Marqueurs extracellulaires de la pluripotence des lignées générées pour nos études ⁽¹⁾	
Figure 18 : Analyse par PCR des lignées iPSC issues de CPS1 et CPS2 ⁽¹⁾	64
Figure 19 : Coloration à l'hématoxyline et à l'éosine des tératomes sur les 3 couches germinales(1) 64
Figure 20 : Immunofluorescence sur les lignées de fibroblastes infectées par AAV2-hCHM ⁽¹⁾	65
Figure 21 : Western Blot mesurant l'expression de REP-1 dans les fibroblastes infectés par AAV2	-
hCHM ⁽¹⁾	66
Figure 22 : Méthode FACS (fluorescence activating celle sorting) des lignées iPSC infectées par	
AAV2-hCHM ⁽¹⁾	66
Figure 23 : Méthode FACS des lignées iPSC infectées par AAV2-hCHM ⁽¹⁾	67
Figure 24 : Immunofluorescence chez des cellules infectées par notre vecteur (VI) vs des cellules	
contrôles (non-infectées : V) ⁽¹⁾	67
Figure 25 : Cytométrie de flux en fluorescence pour suivre l'expression de la protéine REP1 et la	
protéine Rab27 dans les lignées CPF1 et CPS1 ⁽¹⁾	
Figure 26 : Analyse quantitative des niveaux d'expression de REP1 et Rab 27 dans les lignées iP	
Figure 27 : Immuno-Blot des sections de rétine de souris C57B1/6 ⁽¹⁾	
Figure 28 : Immunofluorescence des sections de rétine de souris C57B1/6 ⁽¹⁾	
Figure 29 : Essai TUNEL chez les cellules CHO infectées par AAV2-hCHM ⁽¹⁾	
Figure 30 : Essai TUNEL sur les coupes rétiniennes de souris infectées par notre plasmide ⁽¹⁾	
Figure 31 : Electrorétinogramme de la rétine de souris wild-type ⁽¹⁾	
Figure 32 : Quantification de la réponse aux différents plasmides injectés dans les yeux de souris	
Figure 33 : Procédure d'approbation du PIP en Europe	
Figure 34 : Procédure d'approbation du PSP aux États-Unis	
Figure 35 : Chronologie de la mise en place de la réglementation des médicaments orphelins dan	s le
monde	
Figure 36 : Procédure de désignation des médicaments orphelins en Europe	
Figure 37 : Procédure d'obtention de l'ODD pour notre médicament aux Etats-Unis	
Figure 38 : Étape de la procédure européenne d'enregistrement pour un médicament orphelin	
Figure 39: Procédure de soumission en Europe	
Figure 40 : Étapes de la procédure centralisée après la soumission du dossier	101
Figure 41 : Procédure d'évaluation prioritaire de la FDA	108

Liste des tableaux

Tableau 1 : Caractéristiques cliniques d'une femme conductrice ⁽⁸⁾	32
Tableau 2 : Caractéristiques cliniques d'un homme affecté ⁽⁸⁾	33
Tableau 3 : Niveau de confinement pour chaque classe de risque défini par le HCB(20)	79
Tableau 4 : Développement clinique classique d'un médicament	80
Tableau 5 : Design de l'étude PIP	85
Tableau 6 : Définition d'une maladie rare selon les régions du monde	89

Liste des abréviations

- > AAV : Virus Adéno-Associé
- AMM : Autorisation de Mise sur le Marché
- ANSM : Angence Nationale de Sécurité du Médicament
- > AON : Oligonucléotides Antisens
- ATC : Anatomical Therapeutic Chemical
- ATMP : Médicament de thérapie innovante
- > BPC : Bonnes Pratiques Cliniques
- BPCA : Best Pharmaceuticals for Children Act
- BPF : Bonnes Pratiques de Fabrications
- BPL : Bonnes Pratiques de Laboratoire
- CAT : Committee on Advanced Therapies
- > CE : Commission Européenne
- CER : Comité d'Ethique de la Recherche
- CFDA : Chinese Food and Drug Administration
- CHMP : Committe on Human Medicinal Product
- > CHO: Chinese Hamster Ovaries
- > CMV : Cytomégalovirus
- COMP : Committee for Orphan Medicinal Product
- > CTA: Clinical Trial Application
- > CTD : Common Technical Document
- CTFG: Clinical Trials Facilitation Group
- > DEC : Demande d'Essai Clinique
- DGPSA : Direction Générale des Produits de Santé et des Aliments
- DMD : Dystrophie Musculaire de Duchenne
- ELD : Division de l'Evaluation et des Licenses
- > EMA : European Medicine Agency
- EPAR : European Public Assessment Report
- EPR : Epithélium Pigmentaire de la Rétine
- > ERA : Evaluation des Risques Environnementaux
- ERG : Electrorétinogramme

- > ETDRS: Early Treatment Diabetic Retinapthy Study
- FACS : Fluorescence Activating Cell sorting
- > FDA : Food and Drug Administration
- > FTD : Fast Track Designation
- > GTMP : Gene Therapy Medicinal Product
- HCB: Haut Conseil des Biotechnologies
- > ICH: International Conference on Harmonization
- IMM : Morbidité ou Mortalité Irréversible
- IMPD: Investigational Medicinal Product Dossier
- > INDA: Investigational New Drug Application
- INPI : Institut National de Propriété Industrielle
- > iPSC : induced Pluripotent Stem Cell
- > IRB : Institutional Review Board
- IReST : International Reading Speed Texts
- > ITR: séquences Répétées Terminales Inversées
- MHRA: Medicines and Healthcare products Regulatory Agency
- > MHW : Ministry of Health and Welfare
- MLPA: Amplification de sonde dépendant de la Ligature Multiplex
- > MOI : Multiplicity Of Infection
- MTI : Médicament de Thérapie Innovante
- > NOC : Notice Of Compliance
- > NRG : Name Review Group
- OCDE : Organisation de coopération et de développement économiques
- OCT ou TCO: Tomographie par Cohérence Optique
- > ODD : Orphan Drug Designation
- OGM : Organisme Génétiquement Modifié
- OMPI : Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle
- OOPD : Orphan Products Development
- > OVM : Organisme Vivant Modifié

- PAFSC : Pharmaceutical Affairs and Food Sanitation Council
- PBRER : Periodic Benefit Risk Évaluation Report
- > PCR : Polymerase Chain Reaction
- > PDCO : Paediatric Committee
- PDN : Présentation de Drogue Nouvelle
- PDUFA : Prescription Drug User Act
- > PGR : Plan de Gestion de Risque
- > PIP : Plan d'Investigation Pédiatrique
- PMDA : Pharmaceutical and Medical Devices Agency
- > PR : Priority Review
- PREA : Paediatric Research Equity Act
- > PRIME : Priority Medicine
- > PSP : Paediatric Study Plan
- > PV : Pharmacovigilance
- > RECs: Research Ethics Committees
- > RMP : Risk Management Plan

- > RP : Rétinite Pigmentaire
- SACGM : Scientific Advisory Committee on Genetic Modification
- > SDN : Screening Deficiency Notice
- > SIPD : Submission Information and Policy Division
- > SNC : Système Nerveux Central
- > SWAP : Spécific Advice Working Party
- > TGA : Therapeutic Goods
 Administration
- > TRID : Translational Readthrough Inducing Drugs
- > UE : Union Européenne
- > UKECA : UK Ethics Committee Authority
- > USAN: Union of South America Nations
- > VHP: Voluntary Harmonisation Procedure

Introduction

L'objectif de cette thèse est d'imaginer la stratégie de développement et d'enregistrement du médicament dit « orphelin » en prenant un exemple concret d'une pathologie orpheline qui n'a pas encore de thérapie disponible sur le marché.

Cette thèse portera sur les aspects techniques et réglementaires du développement d'un médicament orphelin. Une partie se basera sur des données scientifiques publiées concernant le médicament que nous allons étudier et une autre sera donc fictive, imaginant ce que pourrait être les potentielles étapes de mise sur le marché d'un tel traitement au niveau européen et international.

Nous avons donc choisi la Choroïdérémie, une pathologie évolutive orpheline de l'œil pour développer notre sujet. La choroïdérémie fait partie des maladies rétiniennes héréditaires, un groupe de maladies oculaires rares et hétérogènes causées par des défauts génétiques et qui entraînent une dégénérescence de la rétine. Elle est due à des variants du gène *CHM* sur le chromosome X et codant la protéine d'escorte de Rab (REP-1, Rab escort protein), une GTPase de la famille Ras. La protéine REP-1 est essentielle à l'activation post-traductionnelle et à la localisation subcellulaire des protéines Rab de liaison au GTP qui contrôlent le trafic des vésicules dans les voies de la sécrétion et de l'endocytose. Les variations pathogènes de *CHM* entraînent une perte d'ancrage des protéines Rab aux membranes donatrices provoquant ainsi la mort cellulaire, ainsi que les zones d'atrophie et de dégénérescence de la choroïde, de l'EPR et de la rétine, observables au fond d'œil.

A ce jour, il n'existe aucun traitement permettant de guérir la choroïdérémie. La prise en charge actuelle se compose essentiellement d'un suivi ophtalmologique périodique afin d'évaluer la progression de la maladie et ses complications (survenue d'une cataracte), et de mesures préventives comme le port de lunettes de soleil anti-UV.

Ces dernières années, la thérapie génique a donné des résultats très prometteurs dans le traitement de différentes formes de cécité héréditaire. En effet, la FDA a approuvé en 2018 une thérapie génique, LUXTURNA® (voretigene neparvovec-rzyl; Spark Therapeutics Inc., USA), dans le cadre du traitement des maladies héréditaires de la rétine dues à des défauts bialléliques du gène *RPE65*.

Tout a long de cette thèse, nous aborderons la présentation de la pathologie (Partie 1) et la stratégie de développement du potentiel traitement (Partie 2). Nous nous focaliserons ensuite sur la réglementation relative au développement non clinique et clinique de ce traitement (Partie 3), le plan d'investigation pédiatrique (partie 4) et enfin nous aborderons la stratégie d'enregistrement global pour cette thérapie (Partie 5).

Partie I: La Pathologie

Dans cette partie, nous allons présenter la choroïdérémie en reprenant l'historique de découverte de la maladie (A), sa clinique ainsi que son évolution (B), sa physiopathologie (C) et son diagnostic (D). Nous allons ensuite nous focaliser sur son épidémiologie (E) et les stratégies thérapeutiques actuellement disponibles (F).

A.Historique

La choroïdérémie est une dystrophie chorio-rétinienne liée à l'X caractérisée par la dégénérescence progressive de la choroïde, de l'épithélium pigmentaire de la rétine (EPR) et de la rétine. Cette pathologie affecte principalement les hommes, les femmes conductrices étant dans la plupart des cas asymptomatiques.

La choroïdérémie a été décrite pour la première fois en 1872 par Ludwig Mauthnuer, un ophtalmologue autrichien⁽¹⁾. L'absence presque totale de vaisseaux choroïdiens a initialement laissé penser qu'il s'agissait d'une anomalie du développement, semblable à un colobome choroïdien ^a.

C'est de cette observation que le terme « Choroïdérémie » lui a été attribué. En effet il s'agit de la combinaison du terme « choroïde » (originaire du grec ancien « $\chi \acute{o}\rho i o v$ » pour « chorion », et « $\epsilon \acute{i}\delta o \varsigma$ » pour « forme ») et du suffixe « $\epsilon \acute{o}\eta \mu \acute{i}\alpha$ », qui signifie « désert », également en grec ancien⁽¹⁾. Ainsi, le nom de la maladie signifie littéralement « une zone stérile de choroïde ». Quelques décennies plus tard, cette hypothèse fut finalement réfutée après l'observation d'autres cas et la mise en évidence de la nature progressive de la maladie. Bien qu'incorrect, le terme choroïdérémie reste encore depuis toutes ces années le seul terme diagnostic utilisé pour cette pathologie.

Une hérédité liée à l'X a été proposée en 1942, mais ce n'est qu'en 1990 que les délétions du gène *CHM* causant la choroïdérémie ont été décrites, et que le gène spécifique a été cloné⁽¹⁾. Le gène *CHM* a été l'un des premiers identifiés par clonage positionnel et l'un des premiers à être établi comme cause d'une dégénérescence héréditaire de la rétine. Depuis le début des années 1990, plus de 130 variations pathogènes du gène *CHM* ont été découvertes, mais sans avancées thérapeutiques pour les patients diagnostiqués⁽¹⁾.

B.Clinique – Evolution

La choroïdérémie est une maladie génétique rare dégénérative de l'œil, liée à l'X. Elle débute la plupart du temps dans l'enfance ou l'adolescence et touche principalement les hommes. Les femmes peuvent toutefois être atteintes de la maladie mais ne présentent en général que peu de symptômes.

^a Anomalie de développement de la choroïde survenant lors de la vie embryonnaire.

Les premières manifestations de cette pathologie sont des problèmes de vision nocturne ou de vision dans des conditions de faible luminosité (héméralopie). Ceci se traduit par des difficultés à s'adapter à l'obscurité (lors du passage d'un endroit très éclairé à un endroit sombre) puis par un rétrécissement progressif du champ visuel⁽²⁾.

Il deviendra donc compliqué pour le patient de voir des objets situés dans la périphérie du regard (en haut, en bas et/ou sur les côtés^b) et petit à petit, son champ de vision va se rétrécir et se limiter à une vision dite "en tunnel"⁽²⁾.

La figure ci-dessous illustre ce que le patient percevra au fur et à mesure de l'évolution de la maladie.



Figure 1 : Diminution du champ visuel au cours de la choroïdérémie⁽²⁾

- A: Vision normale.
- B et C : Vision d'une personne atteinte de la choroïdérémie. Le champ visuel se rétrécit progressivement (B) pour aboutir à la vision dite "en tunnel" (C) au fur et à mesure de l'avancée de la maladie.

La choroïdérémie est une pathologie qui s'exprime par une atteinte bilatérale des yeux. Au départ, elle est très discrète et ses manifestations s'aggravent petit à petit pour devenir gênantes vers l'âge de 30 ans environ. La vie du patient est impactée de manière progressive. Au début, le patient subira une certaine forme de maladresse dans les gestes de tous les jours, des difficultés à conduire de nuit (et parfois même de jour par manque de vision globale de la route), une marche qui devient plus difficile (dû à l'incapacité d'éviter des obstacles)⁽²⁾.

Au fur et à mesure, des dyschromatopsies (troubles de la vision des couleurs, plus particulièrement dans l'axe bleu-jaune) apparaissent et une sensibilité accrue à la lumière se met en place.

La choroïdérémie est une pathologie qui évolue lentement et les patients atteints gardent généralement longtemps une bonne vision centrale. C'est donc un peu plus tard que surviennent ces manifestations. Le patient aura des difficultés à réaliser des activités minutieuses ou de lecture, puis une diminution de la vision précise des deux yeux. La conséquence la plus importante de la pathologie, la cécité, apparaît le plus souvent vers l'âge de 50 ans⁽²⁾.

Toutefois, l'évolution la choroïdérémie varie d'une personne à l'autre. Il peut arriver que l'atteinte des yeux ne soit pas symétrique : l'acuité visuelle d'un œil peut être conservée, contrairement à l'autre. La maladie évolue sur plusieurs dizaines d'années en continu. Elle présente cependant une alternance entre de longues phases de stagnation et des phases de dégradations rapides. Certaines personnes vont conserver une bonne vision et plus tard une petite partie de leur champ visuel jusqu'à un âge avancé et ne présenteront pas nécessairement de cécité complète à long terme⁽²⁾.

La plupart des patients sont myopes et portent, pour pallier ces troubles de la vision, des lunettes ou des lentilles de contact. La progression de la choroïdérémie va entraîner des difficultés pour l'autonomie, la locomotion et la communication. Il existe donc de la rééducation fonctionnelle et des aides techniques pour pallier le handicap⁽²⁾.

C.Physiopathologie - Etiologie

Cette sous-partie va se focaliser sur l'aspect phénotypique de la choroïdérémie (1), son génotype (2) et enfin la corrélation entre le phénotype et le génotype de la pathologie (3).

1. Phénotype

La perte de la vision peut être expliquée par la destruction progressive des cellules de la rétine sensibles à la lumière, appelées photorécepteurs (cônes et bâtonnets). C'est la disparition de ces photorécepteurs qui diminue la capacité de la rétine à répondre à la lumière.

Cette disparition des photorécepteurs est détectable par l'ophtalmologue à l'aide d'un fond d'œil. Il peut ainsi visualiser des plages claires, traduisant la perte de la choroïde et de l'épithélium pigmentaire. On parle alors d'atrophie chorio-rétinienne.

Cette insensibilité rétinienne provoque, au fil de l'évolution de la maladie, l'apparition de lacunes dans le champ visuel, appelées scotomes, qui, dans la plupart des cas, fusionneront en périphérie pour former la vision dite "en tunnel"⁽²⁾.

Pour mieux appréhender le phénotype de la choroïdérémie, nous présenterons quelques rappels anatomiques de l'œil (a), l'étiologie de la maladie (b) ainsi que sa physiopathologie fine (c).

a. Rappels anatomiques de l'œil

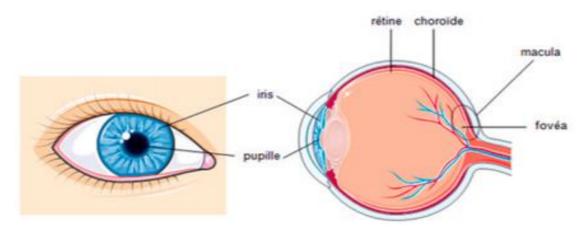


Figure 2 : Schéma simple de l'œil⁽²⁾

Il existe deux types de vision :

- la **vision centrale**, qui implique la macula (centre de la rétine) et la fovéa (au centre de la macula),
- la **vision périphérique**, qui implique les photorécepteurs situés à la périphérie de la rétine.

La rétine est le tissu qui tapisse le fond de l'œil et où les images vont se former. Elle comporte deux couches :

- La rétine neurale : composée de photorécepteurs capables de réagir à la lumière.
- L'épithélium pigmentaire rétinien (EPR) : le tissu nourricier des photorécepteurs. Il repose sur un tissu plus épais ne faisant pas partie de la rétine et contenant de nombreux vaisseaux sanguins : la choroïde.

La choroïde, grâce à son réseau de vaisseaux sanguins, va permettre à l'EPR d'assurer la nutrition des cellules rétiniennes, en assurant le transit de l'oxygène et des nutriments à travers lui.

2 types de photorécepteurs tapissent la rétine :

- **Les cônes** : ils se trouvent dans la fovéa et fonctionnent à la lumière du jour. Ils permettent à l'œil de distinguer les détails et de percevoir les couleurs.
- **Les bâtonnets**: ils se trouvent dans le reste de la rétine et interviennent lorsque la lumière diminue ou en cas de faible luminosité⁽³⁾.

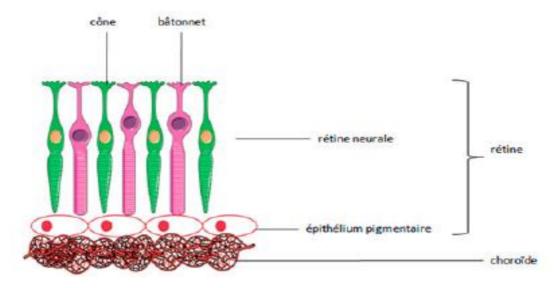


Figure 3 : Schéma simple de la rétine et de la choroïde⁽²⁾

b. Etiologie

Les raisons de la destruction progressive de ces cellules au cours de la maladie ne sont pas totalement élucidées.

Au départ, on a pensé qu'elle pouvait être la conséquence de la mort de l'EPR (ellemême liée à une absence ou une disparition progressive de la choroïde). Des zones dévastées de choroïde entraîneraient la mort des portions d'épithélium pigmentaire situées au-dessus, et le manque de nutrition des photorécepteurs entraînerait à leur tour leur disparition.

Cependant, de récentes études montrent que les défats du gène *CHM* ont en fait pour conséquence une atteinte conjointe et directe des photorécepteurs ET de l'épithélium pigmentaire. La diminution de la choroïde s'explique donc non pas comme une cause, mais comme une conséquence de la perte d'intégrité de l'épithélium pigmentaire⁽¹⁾.

D'autres études ont montré plus précisément les différentes modifications histologiques présentes chez les patients atteints de cette maladie. Des coupes histologiques post-mortem ont été effectuées et ont montré une dégénérescence indépendante de la choroïde (couche choriocapillaire^c), de l'EPR et de la rétine neurosensorielle.

c. Physiopathologie de la choroïdérémie

La choroïdérémie est caractérisée par une dégénérescence progressive et lente (atrophie) de plusieurs structures :

- Les photorécepteurs (bâtonnets, puis cônes)
- L'épithélium pigmentaire rétinien (EPR)
- La choroïde.

.

^c Fin réseau de capillaires qui assurent l'alimentation constante de la couche externe de la rétine.

Cette dégénérescence provoque initialement une rétinopathie périphérique, avec un élargissement des zones d'EPR et une atrophie choroïdienne entraînant une exposition des vaisseaux choroïdes devant la sclérotique nue. Dans un premier temps, la macula reste intacte mais s'atrophie dans les derniers stades de la maladie.

Seules les fibres nerveuses, les cellules ganglionnaires, les cellules bipolaires et la sclérotique sont exclues, ce qui conduit à un aspect impressionnant de la choroïdérémie, avec un fond d'œil caractéristique⁽¹⁾.

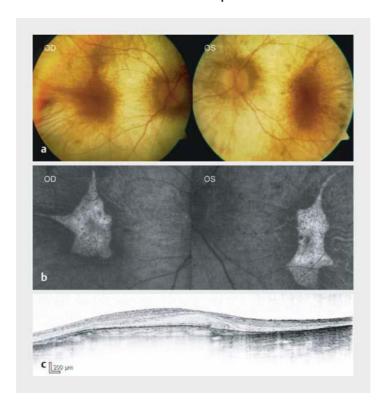


Figure 4 : Résultats structurels typiques de la choroïdérémie⁽¹⁾

La figure ci-dessus illustre la choroïdérémie via trois examens caractéristiques :

- a) Photographie du fond d'œil : Fond d'œil droit et gauche d'un patient atteint de choroïdérémie avancée. Il est important de noter la présence de tissu sain (flèches blanches) entre les tissus atteints.
- b) Auto-fluorescence du fond d'œil : Présente un motif moucheté caractéristique traduisant la perte d'EPR tandis que la choroïde reste intacte. Cette dégénérescence de l'EPR est marquée par une auto-fluorescence accrue, due aux amas de lipofuscine provenant de la digestion des bâtonnets. L'examen du Fond d'œil montre des zones rétiniennes préservées (tissu sain) à côté de zones de dégénérescence sévère. Cette observation est soutenue par les coupes histologiques. En effet, la destruction des photorécepteurs est en général moins prononcée au-dessus de l'EPR préservé.

c) Tomographie par cohérence optique ^d(OCT): L'épaisseur de la rétine est fortement diminuée. Dans les zones touchées, la rétine est amincie en raison de l'atrophie des segments externes des photorécepteurs et de la perte de leurs noyaux. Une forte raréfaction de la plupart des vaisseaux et des mélanocytes dans la choroïde a été démontrée.

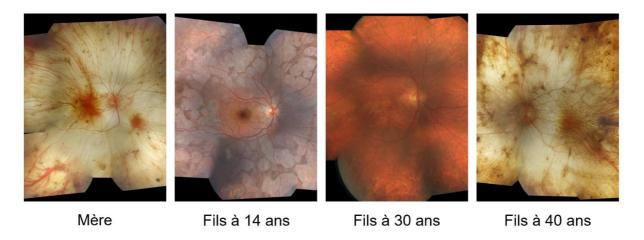


Figure 5 : Fond d'œil d'une mère atteinte de choroïdérémie et de son fils

Evolution du stade précoce de la maladie au stade tardif

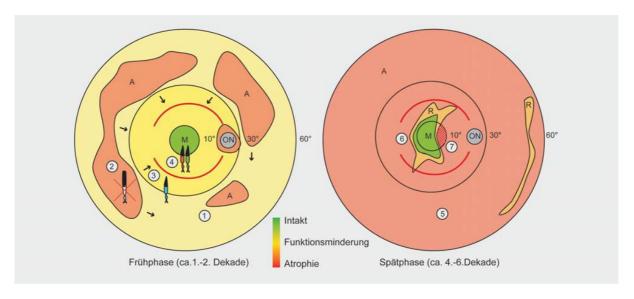


Figure 6 : Evolution de l'atrophie : Corrélation structure-fonction⁽⁴⁾

On observe sur le schéma de gauche la phase précoce, et sur le schéma de droite la phase tardive. Sont indiquées la papille (ON), la macula (M) et les arcades vasculaires (lignes rouges). La coloration différencie les zones intactes (vertes), dysfonctionnelles (jaune) et atrophiques (rouge) de la rétine. Les zones atrophiques sont en outre marquées par (A), et les îlots résiduels par (R).

^d OCT est similaire à une échographie, mais au lieu d'ondes sonores, une lumière laser spéciale et totalement inoffensive est utilisée. La lumière (optique) de laser est constituée d'ondes de lumière cohérente (cohérence) pour produire des images en coupe (tomographie).

1) Stades précoces de la maladie : Premières décennies :

- Aberrations fonctionnelles:
- Héméralopie (90% des patients de 20 ans)
- Restrictions du champ visuel (60% des patients de 20 ans)
 - Légère perte d'acuité visuelle
 - Sensibilité rétinienne limitée
- Certains patients asymptomatiques au moment de l'examen.
- Aberrations structurelles :
- Dégénérescences périphériques de la rétine externe : La rétine centrale, elle, est bien préservée. Une atrophie péripapillaire est souvent constatée comme découverte secondaire.
- Amas pigmentaires dans l'EPR

L'auto-fluorescence du fond d'œil et la micropérimétrie montrent des zones d'atrophie bien définies (= typiques de la choroïdérémie) dès la première décennie. L'ampleur de cette atrophie varie suivant les individus. L'atrophie couvre de larges zones de photorecepteurs périphériques, provoquant l'héméralopie (bâtonnets) et des atteintes du champ visuel (cônes).

2) Evolution de la maladie :

- Acuité visuelle : évolue au cours de la maladie, jusqu'à se stabiliser après une aggravation sévère, vers 40-60 ans
- Au fil des décennies : La zone d'atrophie continue à s'étendre de façon centripète : progression fonctionnelle (diminution du champ visuel, diminution de la sensibilité : micropérimétrie) et structurelle (visible à l'autofluorescence du fond de l'œil ou l'OCT)

Une approximation de la zone d'atrophie de la macula à environ 500 μ m marque la transition vers la phase tardive de la maladie. Cette atteinte de la macula peut être différente entre les deux yeux du patient, d'où le caractère asymétrique de la pathologie⁽⁴⁾.

3) Stades tardifs : Vers l'âge de 40-60 ans :

- Déclin accéléré de l'acuité visuelle centrale, due à l'extension des zones d'atrophie atteignant la macula, voire même la fovéa centrale.
- Epaisseur de la rétine centrale (mesurée par OCT) diminue, corrélée avec l'âge et la baisse de l'acuité visuelle.
- Perte précoce des cônes rétiniens centraux : aggravation sévère de la vision des couleurs (même chez les patients n'étant pas affectés auparavant par la vision des couleurs)
- Les zones rétiniennes intactes sont limitées aux "îlots résiduelles" centraux et éventuellement périphériques. L'étendue et la position de l'îlot résiduel central

sont déterminantes pour le pronostic de l'acuité visuelle. L'atrophie de la macula (bandes rouges) est également associée au pronostic visuel.

> Autres caractéristiques de la choroïdérémie

• Inflammation de la rétine

La présence d'une légère infiltration de lymphocytes T dans la choroïde démontre une inflammation dans la rétine chez les patients atteints de choroïdérémie. Des macrophages remplis de pigments ont été identifiés dans l'espace sous-rétinien associé à la formation de rosettes dans la rétine.

L'inflammation n'est pas susceptible de jouer un rôle actif dans la pathogenèse de la choroïdérémie mais il semble qu'une réponse inflammatoire réactive dans les zones de maladie active se produise (causée par les débris de photorécepteurs qui sont généralement phagocytés et éliminés par les macrophages)⁽⁵⁾.

Baisse de l'intensité de la perfusion de choriocapillaris comme marqueur de progression

Dans un rapport récent utilisant l'angiographie en tomographie par cohérence optique OCT, il a été démontré que la non-perfusion de la couche des choriocapillaires (choroïde) était plus prononcée que la non-perfusion rétinienne chez les patients atteints de choroïdérémie. On pense qu'elle suit la perte d'EPR et peut donc éventuellement représenter un marqueur de la progression de la maladie et/ou de la réponse au traitement⁽⁵⁾.

• Changements maculaires associés à la choroïdérémie

La choroïdérémie est associée à des changements maculaires, pouvant être diagnostiqués par la (OCT) :

- La néovascularisation choroïdienne.
- L'œdème maculaire cystoïde.
- La formation de la membrane épirétinienne.
- Les tabulations rétiniennes externes.
- La formation d'un trou maculaire.
- Le trou maculaire compliqué d'un décollement de la rétine.

2. Génotype

La choroïdérémie est une pathologie génétique récessive liée à l'X, causée par des défauts du **gène** *CHM*.

Pour expliquer le génotype de la choroïdérémie, nous allons étudier dans un premier temps la structure du gène (a), pour ensuite exposer ce qu'est le produit génique normal avant l'apparition de la maladie (b) et le produit génique anormal généré par la pathologie (c). Nous finirons par la caractérisation du spectre des variants affectant le gène *CHM* (d).

a. Structure du gène

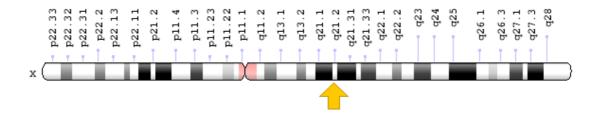


Figure 7 : Structure du gène CHM⁽⁶⁾

Situé sur le bras long du chromosome X (q21.2), ce gène s'étend sur une séquence génomique de 186 382 pdb. Ce gène est traduit en un ARNm de 5442 pdb et composé de 15 exons. Le cadre de lecture ouvert (ORF, *open reading frame*) est de 1962 pdb, de quoi résulte une protéine ubiquitaire de 653 AA (95 kDa) : **La protéine d'escorte Rab-1 (REP-1).**

b. Produit génique normal

La protéine d'escorte Rab-1 (REP-1) est un composant essentiel de la géranylgéranyltransférase Rab (RGGTase), un complexe enzymatique qui assure la médiation correcte du transport vésiculaire intracellulaire.

En tant que protéine d'escorte, REP-1 se fixe sur des molécules appelées protéines Rab et effectue une prénylation (c'est une modification lipidique par addition covalente d'unités géranylgéranyles à 20 carbones aux GTPases de Rab) à l'intérieur de la cellule et les dirige vers les membranes des différents compartiments cellulaires (organelles).

Les protéines Rab sont impliquées dans le déplacement des protéines et des organites à l'intérieur des cellules (trafic intracellulaire). Il existe plus de 50 protéines Rab, présentes dans toutes les cellules de l'organisme. Dans la rétine, elles agissent dans le transport des mélanosomes^e de l'EPR et aident à la phagocytose des membranes discales qui se détachent des segments extérieurs.

Chez l'homme, deux isoformes de REP co-existent ; REP-1 (vu ci-dessus) et REP-2 (codée par le rétro-gène lié à l'X *CHM*L "choroidérémie-like", situé sur le chromosome 1). Certaines protéines Rab peuvent donc avoir des affinités particulières pour l'une ou l'autre de ces isoformes.

-

^e Organites intracellulaires, à l'intérieur desquels sont fabriquées les mélanines, pigments protecteurs des radiations solaires

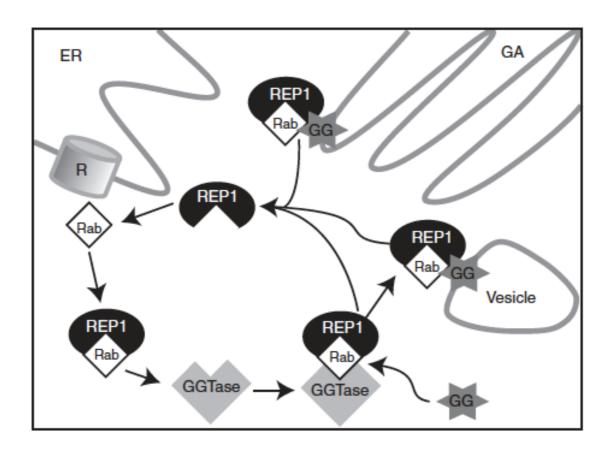


Figure 8 : Action de la protéine REP-1⁽¹⁾

c. Produit génique anormal

Le plus souvent, le variant pathogène du gène *CHM* entraîne l'absence de la protéine REP-1 ou bien la traduction d'une protéine tronquée et non-fonctionnelle, qui sera par la suite dégradée. Les variants du gène *CHM* conduisent à une absence de la protéine REP-1 ou à la production d'une protéine REP-1 qui ne peut pas remplir sa fonction d'escorte protéique. Cette absence de REP-1 fonctionnelle empêche les protéines Rab d'atteindre et de se fixer (se lier) aux membranes des organelles. Sans l'aide des protéines Rab dans le trafic intracellulaire, les cellules meurent prématurément.

Les individus porteurs d'une atteinte du gène *CHM* montrent une incapacité marquée à prényler les protéines Rab, en particulier Rab27a (démontrée notamment dans leurs lymphocytes)⁽¹⁾.

d. Caractérisation du spectre des variants affectant le gène CHM⁽⁶⁾

Plus de 130 variants du *CMH* ont été rapportées à ce jour^f. Parmi les variants pathogènes du gène *CHM*, on ne distingue pas à ce jour de variants comme étant d'un pronostic plus favorable que d'autres.

On note majoritairement des **variants ponctuels**, c'est-à-dire un variant qui touche un ou plusieurs nucléotides d'un même gène.

Des variants par substitution :

f Disponibles sur la base de données suivante : http://www.lovd.nl/CHM

- Des variants non-sens (30% des variants recensées): Les nucléotides touchés provoquent le remplacement d'un codon codant un AA par un codon-Stop prématuré. Cela entraine donc l'arrêt de la traduction, et la production d'une protéine tronquée et non-fonctionnelle.
- Des variants faux-sens : Le remplacement d'un nucléotide par un autre entraine une modification de l'acide aminé codé.
 - 2 variants ont été rapportées, l'une résultant en l'absence de REP1 dans les lymphocytes du patient, l'autre générant une variante fonctionnellement inactive de REP1 car incapable d'interagir avec la RGGTase.
- Des variants induisant un décalage du cadre de lecture (frame-shift) :
 - o des **délétions** (25-50% des variants recensées) Les délétions répertoriées sont variables, allant de larges parties du Chromosome Xq21.1, du gène CMH entier, ou d'une partie de ce gène, jusqu'à un simple exon).
 - o des insertions
- Des variants touchant un site d'épissage : Si l'un des nucléotides de cette séquence de reconnaissance du site d'épissage est échangé, l'exon correspondant ne sera donc pas pris en considération dans le mécanisme d'épissage, provoquant la synthèse d'une protéine différente.

On note également, mais de façon plus rare, des **variants chromosomiques**, c'està-dire un variant qui concerne un nombre de nucléotides tellement grand dans l'ADN, que le variant est observable lorsqu'on fait un caryotype.

- o des duplications
- o des translocations
 - Une translocation entre le chromosome X et un autosome, et une entre les chromosomes X, 1, et 3, ont été identifiées, mais uniquement chez les femmes, provoquant des phénotypes de choroïdérémie modérées à sévères.

3. Corrélation Génotype-Phénotype

• Restriction du phénotype pathologique à l'œil⁽⁷⁾

Pour rappel, le gène *CHM* est exprimé de manière omniprésente dans l'organisme, et la protéine REP1 est ubiquitaire. Les protéines Rab sont également présentes dans toutes les cellules et, jusqu'à présent, plus de 50 protéines Rab ont été identifiées.

Dans le cas général, la perte de REP1 est compensée par la protéine d'escorte Rab 2 (REP2), l'autre isoforme de REP qui ressemble beaucoup à REP1 (elles partagent en effet 95% de leurs séquences d'acides aminés). La plupart des Rabs nouvellement synthétisées se lient à l'une des deux protéines REP et donc les variants dans le *CHM* n'entraînent généralement pas de maladie systémique.

Dans l'œil, de nombreux processus, tels que le transport des protéines dans les photorécepteurs ou la régulation de la phagocytose et la dégradation des membranes discales qui se détachent des segments extérieurs des photorécepteurs par l'EPR, dépendent de la fonction des protéines Rab. Une explication possible du phénotype restreint à l'œil est que certains Rabs, comme le Rab 27a qui joue un rôle clé dans la rétine, sont préférentiellement prénylés par REP1 ou que les complexes Rab27a prénylés par REP2 peuvent avoir une affinité moindre géranylgéranyltransférase. Par conséquent, le phénotype de la choroïdérémie peut être principalement causé par une incapacité spécifique du tissu de REP2 à compenser la fonction de REP1⁽⁵⁾.

Variations interindividuelles génotypiques et phénotypiques

La protéine REP1 est quasiment toujours absente en cas d'atteinte du *CHM*, indépendamment de le variant causal de la pathologie (cf. le spectre des variants pour un catalogue des différentes variants). Il n'a donc été trouvé aucune preuve en faveur d'une corrélation génotype – phénotype en ce qui concerne l'apparition effective des symptômes, et le déclin de l'acuité visuelle et des champs visuels.

Cependant, le phénotype clinique peut varier d'un individu à l'autre, sur les critères de l'âge d'apparition de la dégénérescence rétinienne et de la force de la progression. Des facteurs génétiques (gènes modulateurs), une compensation plus ou moins efficace de REP2 selon les individus, ou bien encore des facteurs environnementaux pourraient jouer un rôle dans l'apparition et la progression de la dégénérescence dans la choroïdérémie⁽⁵⁾.

D.Diagnostic

En l'absence d'antécédents familiaux particuliers, la découverte de la choroïdérémie est majoritairement fortuite, à l'occasion d'un bilan ophtalmologique à la suite d'une baisse de l'acuité visuelle, ou d'une mauvaise vision nocturne.

Elle est mise en évidence par un examen du **fond de l'œil**, permettant de visualiser directement la rétine et ses éventuelles lésions caractéristiques de la maladie. Cet examen peut être accompagné d'autres examens complémentaires, mais le diagnostic ne sera confirmé qu'après un diagnostic génétique, afin de déterminer si le gène *CHM* est anormal ou non.

Afin d'étudier le diagnostic de la choroïdérémie, nous allons articuler notre propos autours des méthodes de diagnostic (1), du diagnostic différentiel (2) et enfin du conseil génétique (3).

1. Méthodes de diagnostic

Dans cette partie, nous allons nous intéresser au diagnostic initial (clinique) de la choroïdérémie (a) ainsi qu'à la confirmation du diagnostic, correspondant au test génétique (b).

a. Diagnostic initial: diagnostic clinique

• Bilan ophtalmologique⁽⁸⁾

Le bilan ophtalmologique se fait via deux types d'examen clinique : l'évaluation de l'acuité visuelle et test du champ visuel de Goldmann (ligne de base) ainsi que l'examen du fond d'œil : rechercher à l'intérieur de l'œil la dégénérescence rétinienne.

- Examens complémentaires⁽⁸⁾
- **Electrorétinogramme (ERG)**: enregistrement de la réponse électrique de la rétine après stimulation par la lumière)
- Tomographie par cohérence optique (OCT) : image en coupe optique de la rétine, obtenue grâce à un rayon infrarouge pour évaluer l'état des structures rétiniennes
- **Test d'autofluorescence rétinienne** : même principe que l'angiographie fluorescéinique mais sans injection, etc.
- Consultation d'un ophtalmo-généticien et/ou d'un conseiller génétique : étude des antécédents familiaux compatibles (hérédité liée à l'X).

Tableau 1 : Caractéristiques cliniques d'une femme conductrice⁽⁸⁾

Femmes conductrices			
Bilan ophtalmologique	Pas de déficience visuelle significative. Généralement asymptomatique.		
Fond d'œil	Travées de pigmentation en périphérie de la rétine, aspect d'un fond d'œil « sale, poussiéreux »		
ERG	Normal, peut s'altérer dans les âges avancés.		
Autofluorescence du fond d'œil	Zones hétérogènes en poivre-et-sel, travées sont habituellement présentes		

Tableau 2 : Caractéristiques cliniques d'un homme affecté⁽⁸⁾

Homme affecté		
Bilan ophtalmologique	Mauvaise vision dans l'obscurité, perte du champ visuel périphérique, qui se manifeste par un scotome annulaire et suit généralement les changements d'apparence du fond d'œil.	
Fond d'oeil	Aspect caractéristique : zones inégales de dégénérescence choroïdo-rétinienne commençant généralement dans la moyenne périphérie du fond d'œil. La fonction et l'anatomie de la macula sont préservées jusqu'à la fin du processus pathologique.	
Autofluorescence	Réduite dans les zones d'atrophie choriorétinienne avec un signal relativement élevé dans le tissu rétinien préservé de la macula.	
Angiographie fluorescéinique	Démontre des zones de dégénérescence : perte marquée de l'épithélium pigmentaire rétinien et de la choriocapillaire (à l'intérieur des deux couches vasculaires de la choroïde qui est composée en grande partie de capillaires) avec préservation des vaisseaux choroïdiens profonds.	
ОСТ	Révèle l'absence de la couche nucléaire externe et des segments externes, de l'EPR et l'amincissement de la choroïde.	
ERG	Perte précoce de la réponse issue des bâtonnets (en réponse à des stimuli scotopiques faibles), puis détérioration de la réponse issue des cônes (stimuli photopiques), et finalement un ERG fortement réduit voire non-enregistrable (stades ultérieurs de la maladie).	
Conseil génétique	Antécédents familiaux compatibles avec l'hérédité liée à l'X.	

b. Confirmation du diagnostic : Test génétique

La confirmation du diagnostic se fait par l'identification d'un variant pathogène dans le gène $CHM^{(8)}$.

- Principale méthode d'analyse : Séquençage selon la méthode Sanger
- Analyse des délétion/ duplication : test d'amplification de sonde dépendant de la ligature multiplex (MLPA)

- Test sur un seul gène : Le gène CHM uniquement
- Analyse de séquence, suivie d'une recherche de délétion / duplication si aucun variant pathogène n'est trouvé : Permet la détection de 95% des variants pathogènes chez les patients masculins.
- Analyse ciblée des variantes pathogènes : Permet la détection de la plupart des variants pathogènes dans la population d'ascendance finlandaise (patients masculins ou femmes conductrices)
- <u>Test sur un panel multi-gène : Gène CHM et d'autres gènes d'intérêt sont inclus dans les panels de dégénérescences rétiniennes hérédiatires</u>
- Méthodes utilisées : Analyse de séquence, recherche de délétion / duplication.

Les gènes inclus dans le panel et la sensibilité des tests utilisés pour chaque gène varient en fonction des laboratoires et dans le temps. Les cliniciens doivent déterminer quel panel multi-gène est le plus susceptible d'identifier la cause génétique de la maladie, au coût le plus raisonnable.

• Tests génomiques plus complets (si disponibles) : Séquençage

Le séquençage de l'exome et le séquençage du génome peuvent être envisagés si les tests sur un seul gène (et/ou l'utilisation d'un panel multi-gène) ne parviennent pas à confirmer un diagnostic chez un individu présentant des caractéristiques de *CHM*. Analyse de génome permet de retrouver des variants complexes de structure (grandes duplications, inversions, insertions de transposons) et des variants introniques profonds.

2. Diagnostic différentiel

Le tableau clinique fundoscopique de choroïdérémie est assez typique et reconnaissable au stade d'état. Certaines difficultés diagnostiques peuent être rencontrés aux stades précoces ou inversement très tardives, quand la dégénérescence chorio-rétinienne est très avancée.

La choroïdérémie doit donc être distinguée des dystrophies rétiniennes suivantes :

a. La rétinite pigmentaire (RP)⁽⁹⁾

Maladie où des anomalies des photorécepteurs (bâtonnets et cônes) ou de l'épithélium pigmentaire rétinien (EPR) entraînent une perte progressive de la vision. Les symptômes de la RP (cécité nocturne apparaissant durant l'enfance, et constriction progressive du champ visuel périphérique « vision en tunnel ») sont similaires à ceux du CHM. Dans les derniers stades du CHM, lorsque la perte de la choroïde et de la rétine est importante, l'apparence du fond d'œil peut être confondue avec le stade final de la RP. Cependant, le pattern de migration pigmentaire dans la rétine qui caractérise la RP n'est pas observé chez les individus atteints de CHM. La RP peut être héritée d'une manière autosomique dominante, autosomique récessive ou liée à l'X. Les variantes pathogènes dans *RPGR* (70-90% des cas) et *RP*2 (10-20% des cas) sont

les causes les plus courantes de RP lié à l'X. Les aspects **d'imagerie rétinienne couleur et auto-fluorescence** chez les porteurs de RP lié à l'X est distinct de celui des porteurs *CHM*.

b. L'Atrophie gyrée de la choroïde et de la rétine

Il s'agit d'une maladie caractérisée par une dégénérescence de la choroïde et de la rétine, mais aussi par d'autres problèmes médicaux, tels que la faiblesse musculaire. La nature progressive des zones festonnées d'atrophie choroïdo-rétinienne observée dans l'atrophie gyrée de la choroïde et de la rétine peut être confondue avec la CHM. L'atrophie gyrée de la choroïde et de la rétine est une maladie autosomique récessive causée par des variantes pathogènes du gène codant pour l'ornithine aminotransférase (*OAT*). Les personnes atteintes d'atrophie gyrée de la choroïde et de la rétine ont une **concentration plasmatique élevée d'ornithine**, ce qui n'est pas observé chez les personnes atteintes de CHM.

Il existe d'autres formes d'atrophie choroïdienne, le plus souvent récessives ou sporadiques, dont la cause génétique reste à établir.

3. Conseil génétique

Le conseil génétique désigne un processus consistant à fournir aux patients et à leurs familles des informations sur la nature, le mode de transmission et les implications des maladies génétiques afin de les aider à prendre des décisions médicales et personnelles en connaissance de cause⁽⁸⁾.

Ce conseil génétique va fournir au patient des informations relatives au mode de transmission de la choroïdérémie, de la caractérisation du risque pour les membres de la famille ainsi que de la détection des porteurs de la variante pathogène du gène *CHM*. D'autres sujets pourront être abordés tels que le projet d'avoir un enfant ou la prédiction de l'évolution de la maladie.

c. Mode de transmission de la Choroïdérémie

La choroïdérémie est héréditairement liée à l'X. Lors de l'identification d'une variante pathogène du CHM dans une famille, le dépistage des femmes conductrices de la maladie et le diagnostic prénatal pour les grossesses à risque accru sont possibles chez les parents du malade.

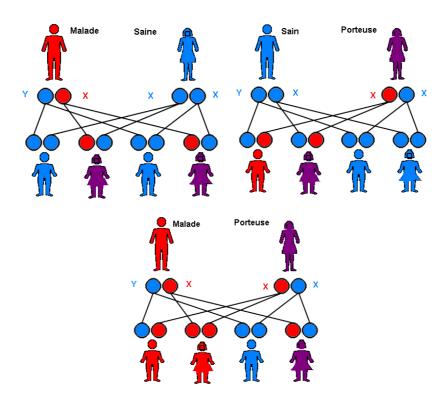


Figure 9 : Arbre généalogique lié à l'X

- d. Caractérisation du risque pour les membres de la famille
- Les parents d'un patient

Le père d'un homme atteint ne sera pas atteint de choroïdérémie et ne sera pas porteur de la variante pathogène du gène *CHM*.

Dans une famille où il y a plus d'un enfant de sexe masculin atteint, la mère des hommes atteints est obligatoirement conductrice de la maladie. Dans une famille où le patient est le seul membre de la famille affecté, il convient de prescrire un examen plus poussé afin de déterminer son statut de femme conductrice de la maladie.

Le cas d'un patient de sexe masculin sans antécédents familiaux de choroïdérémie peut s'expliquer par les raisons suivantes :

- Le patient a un variant pathogène du gène CHM de novo. Dans ce cas, la mère du patient n'a pas de variant pathogène germinal du gène CHM et ne présente pas les modifications rétiniennes observées chez les femmes conductrices. Les seuls autres membres de la famille à risque sont les descendants du patient.
- La mère du patient a un variant pathogène du gène CHM de novo et peut ou non présenter les modifications rétiniennes observées chez les femmes conductrices. L'un des deux types de variantes pathogènes du gène CHM de novo peut être présent chez la mère :
 - Variant germinal, présente au moment de sa conception, et donc présente dans toutes les cellules de son corps et qui est détectable dans son ADN

 Variant pathogène qui n'est présente que dans ses ovaires (appelée "mosaïque germinale") et qui n'est pas détectable dans l'ADN de ses leucocytes. Ce cas de figure n'a encore jamais été rencontré dans la choroïdérémie, mais reste possible

Dans les deux cas, chaque descendant de la mère du patient risque d'hériter de la variante pathogène, mais aucun des frères de la mère du patient (oncles maternels du patient), ne risque d'avoir hérité du gène altéré.

• La fratrie d'un patient

Le risque pour les frères et sœurs d'un patient dépend du statut génétique de sa mère :

- **Si la mère porte le variant pathogène du gène** *CHM*, la probabilité de transmettre la variante pathogène du gène *CHM* à chaque grossesse est de 50%. Les frères et sœurs héritant de la variante pathogène seront affectés :
 - Les femmes qui héritent de la variante pathogène seront conductrices et ne seront généralement pas affectées.
 - Les hommes qui héritent de la variante pathogène seront atteints.
- Si la mère ne présente aucun signe de choroïdérémie (examen du fond d'œil normal) : Le risque pour les frères et sœurs du patient semble faible. Mais bien qu'aucun cas de mosaïcisme germinal n'ait été signalé, cela reste une possibilité.

• La descendance d'un patient

Descendance d'un patient de sexe masculin :

- Transmission de la variante pathogène du gène *CHM* à tous ses enfants de sexe féminin : **Toutes ses filles seront obligatoirement femmes conductrices**
- Pas de transmission du chromosome X aux enfants de sexe masculin donc pas de transmission de la variante pathogène.

Descendance d'une femme conductrice (porteuse de la variante pathogène du gène *CHM*), à chaque grossesse, elle aura une probabilité de **50% de transmettre la variante pathogène du gène** *CHM* **à son enfant, dont :**

- 25% de probabilité d'avoir une fille conductrice
- 25% de probabilité d'avoir un garçon atteint de choroïdérémie
- Autres Membres de la famille d'un patient

Si l'un des membres de la famille d'un patient est également atteint de la choroïdérémie, des autres membres de sexe féminin de sa famille peuvent être porteurs (asymptomatiques ou symptomatiques) et d'autres membres de sexe masculin de sa famille peuvent être affectés.

e. Détection des porteurs de la variante pathogène du gène CHM

Le dépistage des femmes conductrices chez la famille d'un patient est possible si la variante pathogène du *CHM* a été identifiée dans la famille.

- f. Autres questions abordées lors du conseil génétique
- Projets d'avoir un enfant

Il convient d'offrir un conseil génétique (y compris une discussion sur les risques potentiels pour la descendance et les options de reproduction) aux jeunes adultes qui sont affectés, porteurs ou qui risquent d'être porteurs. Une fois que la variante pathogène de la *CHM* a été identifiée chez un membre de la famille, il est possible de procéder à un **test prénatal** pour une grossesse à risque accru et à un **diagnostic génétique préimplantatoire** de la choroïdérémie. L'autre possibilité est le **sexage**, car aucune descendante de sexe féminin ne sera sévèrement atteinte.

• Prédiction de l'évolution

Il n'est pas possible de prédire à quel âge un homme affecté commencera à avoir des problèmes de vision et à quelle vitesse la maladie évoluera. Il n'est pas non plus possible de savoir si une femme conductrice manifestera une perte de vision.

Banque d'ADN

L'ADN (généralement extrait des globules blancs) est stocké en vue d'une éventuelle utilisation future. Comme il est probable que la méthodologie des tests et notre compréhension des gènes, des variants alléliques et des maladies s'améliorent à l'avenir, il faut envisager de mettre en banque l'ADN des personnes atteintes.

E. Epidémiologie

La choroïdérémie est une pathologie touchant essentiellement les hommes, et dont la prévalence est estimée à environ 1:50 000 - 1:100 000 dans la population mondiale. Des variants pathogènes du gène *CHM* ont pu être identifiées dans des familles du monde entier (Europe, Canada, Etats-Unis, Japon, Chine, Australie), la prévalence la plus élevée restant celle observée dans le nord de la Finlande (1:40)(8). On estime à plus de 500 le nombre de patients masculins atteints au Royaume-Uni et à environ 3000 dans toute l'Europe. Il est cependant probable que cette affection soit sous- ou sur-diagnostiquée en raison de ses similitudes avec d'autres troubles oculaires⁽⁸⁾.

Ainsi, bien que relativement rare, il existe une importante population de patients pour cette maladie qui ne dispose d'aucune option thérapeutique majeure face à cette évolution défavorable.

F. Stratégie thérapeutique actuelle

Aucun traitement n'est disponible à ce jour pour traiter la choroïdérémie. Les thérapies actuelles se limitent à traiter les manifestations, en association à une surveillance et

des mesures de prévention. Une prise en charge adaptée et précoce permet de diminuer le retentissement de la pathologie sur la qualité de vie des patients⁽⁸⁾.

La thérapeutique mise en place actuelle pour le traitement de la choroïdérémie consiste en le traitement (chirurgical ou non) des manifestations physiques liées à la maladie (1) ainsi que la surveillance et la prévention de l'apparition de nouveaux symptômes (2).

1. Traitement des manifestations⁽²⁾

Certains symptômes de la choroïdérémie peuvent être traités, limités, ou appréhendés. La maladie en elle-même ne peut cependant pas être guérie. Les mesures suivantes peuvent accompagner le patient aux différents stades de sa maladie, sans pour autant empêcher la détérioration de son état.

Lors de sorties à l'extérieur, le port de verres optiques filtrantes peut jouer un rôle protecteur (même s'il faut garder en tête que tout le spectre visible est impacté).

Une correction chirurgicale (intervention classique, par un ophtalmologue) peut être envisagée si nécessaire :

Dans certains cas de cataracte sous-capsulaire postérieure.

Les services de basse vision sont aussi mis à la disposition des patients. Conçus pour bénéficier aux personnes dont la capacité de fonctionnement est compromise par une déficience visuelle, des spécialistes (souvent des optométristes), aident à optimiser l'utilisation de la vision restante. Les services fournis peuvent donc varier en fonction de l'âge et des besoins.

Des conseils, promulgués par des organisations ou des professionnels travaillant avec les personnes aveugles et les malvoyants, peuvent être nécessaires pour aider la personne concernée à faire face à des problèmes tels que la dépression, la perte d'autonomie, la perte de l'aptitude à conduire et l'anxiété liée à la perte d'un emploi.

La nutrition et la santé oculaire sont également de plus en plus d'actualité :

- Pour les personnes qui n'ont pas accès à des fruits frais et des légumes verts à feuilles, un supplément de vitamines antioxydantes peut être important.
- Aucune information n'est disponible sur l'efficacité de la supplémentation en vitamine A dans le traitement de la CHM.
- Une source d'acides gras oméga-3 à très longue chaîne, dont l'acide docosahexaénoïque, pourrait être bénéfique, car les études cliniques suggèrent une certaine efficacité dans d'autres types⁽¹⁰⁾ de dystrophies rétiniennes héréditaires.

2. Surveillance et prévention⁽²⁾

Certains agents ou circonstances sont à éviter, particulièrement l'exposition aux UV ou la lumière du soleil réfléchie par l'eau et la neige.

Un examen ophtalmologique régulier pour surveiller la progression de la CHM est recommandé car les personnes atteintes ont besoin de conseils concernant leur niveau de fonction visuelle. Les examens du champ visuel Goldmann fournissent des informations pratiques tant pour le clinicien que pour la personne concernée.

Partie II. Stratégie de développement.

Dans cette partie, nous allons étudier la stratégie de développement d'un potentiel médicament qui pourrait être utilisé pour le traitement de la choroïdérémie. Nous allons donc développer le choix de l'indication thérapeutique ainsi que le choix de la cible (A), le choix du vecteur de notre thérapie génique (B), sa conception (C) et sa méthode d'administration (D). Nous allons ensuite étudier sa possible dénomination internationale (E), mener une analyse concurrentielle (F), envisager le possible Résumé des Caractéristiques du Produit de ce traitement (G) et étudier la propriété intellectuelle relative à notre nouveau traitement (H).

A.Choix de l'indication thérapeutique et de la cible

L'objectif du développement est de trouver une thérapie visant à ralentir ou arrêter la dégénérescence de la rétine et de l'EPR, dans la choroïdérémie

Comme vu lors de la présentation de la choroïdérémie, cette dégénérescence est directement liée à **l'absence de la protéine REP-1**. Il sera donc primordial de trouver un moyen de rétablir l'expression de cette protéine au niveau de la rétine et de l'EPR.

Cette absence de protéine REP-1 est directement liée aux variants du gène *CHM*. Dans ce cas de figure, l'ajout d'une copie correcte du gène *CHM* semble être la solution efficace la plus simple pour rétablir le gène. **L'ajout d'une version fonctionnelle du gène** *CHM* permettrait en effet d'assurer un niveau d'expression correct et soutenu du gène, et donc une expression normale de la protéine.

Considérations sur la sécurité d'une expression de la protéine REP-1 hors des cibles thérapeutiques

Le gène *CHM* et la protéine REP-1 sont normalement exprimés de manière eutopique dans un individu sain. Il n'y a pas de type cellulaire dans lequel l'expression de cette protéine pourrait causer un problème.

De plus, le niveau d'expression de REP1 rétabli est inversement proportionnel au déficit de prénylation, et aucune preuve de surexpression provoquant une toxicité n'a été apportée⁽¹¹⁾. L'événement peu probable d'un schéma de transduction plus répandu du virus vecteur pourrait ne pas être considéré comme une cause majeure d'inquiétude, même dans les cellules et les tissus à l'extérieur de l'œil.

B.Choix du vecteur

Dans le cadre d'une thérapie d'augmentation génique, le matériel génétique (ici, le gène *CHM*) a besoin d'un « système de livraison », appelé vecteur. On utilise le plus souvent un virus modifié pour transporter le gène dans les cellules.

• Affinité du vecteur pour la cible

Le virus adéno-associé (AAV) est actuellement l'un des vecteurs de thérapie génique les plus étudiés. Il existe cependant de nombreux sérotypes d'AAV, ayant chacun un tropisme cellulaire différent. Le sérotype 2 (AAV2) a démontré une bonne affinité à la fois pour les photorécepteurs et pour l'EPR. Il a d'ailleurs déjà été bien caractérisé dans plusieurs modèles animaux⁽¹¹⁾ (injection sous-rétinienne chez des primates non humains), et a également été utilisé dans des essais cliniques de thérapie génique pour un certain nombre de dystrophies rétiniennes.

De plus, dans la couche photoréceptrice, l'AAV2 semble viser principalement les bâtonnets plutôt que les cônes, ce qui est intéressant pour la choroïdérémie, où l'absence de REP1 semble affecter prioritairement les bâtonnets.

L'AAV2 serait donc un vecteur de choix, car les photorécepteurs en bâtonnets et les cellules RPE doivent tous deux être ciblés pour le remplacement de REP1 dans la choroïdérémie.

• Capacité d'empaquetage

La capacité d'empaquetage est la quantité de matériel génétique pouvant être placée dans chaque particule virale. Pour le vecteur AAV2, cette capacité est estimée à 5kb d'ADN simple brin. Compte tenu de sa petite taille de 1,9 kB, le gène *CHM* s'intègre bien dans les limites de conditionnement du vecteur AAV2 tout en conservant l'espace nécessaire pour accueillir d'autres éléments régulateurs, tels que le promoteur du gène et les séquences signal poly-A⁽¹¹⁾.

• Sécurité du vecteur et maintien de son expression dans le temps

L'AAV infecte naturellement les humains (et certaines autres espèces de primates). Bien qu'il ne soit pas actuellement connu pour provoquer des maladies, des anticorps contre les antigènes de capside des AAV de type sauvage peuvent être détectés chez un pourcentage significatif d'humains. De nombreuses données de sécurité ont démontré la sécurité de l'administration sous-rétinienne d'AAV2. En effet, dans le cadre du développement du Luxturna® (AAV2-RPE65), il a été démontré⁽¹²⁾ que :

- L'AAV2 ne provoque pas d'immunogénicité, d'inflammation ou de toxicité significatives (chez les primates)
- Les modèles canins traités conservent leur vision sans réduction pendant plusieurs années, voire plus d'une décennie dans certains cas.
- Chez l'homme, les essais cliniques ont montré que les gains visuels obtenus suite au transfert de gènes avec l'AAV2-RPE65 sont maintenu pendant au moins 3 ans

Si les effets à très long-terme chez l'homme ne sont pas encore connus, ces données suggèrent que **l'expression du vecteur AAV2 est soutenue**, et que la perte précoce de l'expression des transgènes thérapeutiques par l'extinction de gènes (méthylation de l'ADN promoteur par exemple), n'est pas un problème majeur⁽¹³⁾.

Dans l'ensemble, AAV2 présente un tropisme pour les types de cellules nécessaires, est capable de contenir la séquence codante REP1 complète et s'est révélé sûr et

efficace dans les essais de thérapie génique oculaire pour une maladie oculaire différente (LCA2) jusqu'à 3 ans après le traitement. Pour ces raisons, l'AAV2 a été sélectionné pour être utilisé dans une stratégie de thérapie génique de remplacement de *CHM* pour la choroïdérémie. Le choix de l'AAV2 étant très convaincant, d'autres types de virus, tels que les lentivirus et les adénovirus, n'ont pas été pris en considération⁽¹¹⁾.

C.Conception du vecteur AAV2-REP1

AAV2-REP1 est une cassette d'expression AAV2 codant pour REP1. Chaque virion AAV contiendrait une séquence d'ADN simple brin de 4,2 kb de long comprenant :

- Un promoteur hybride d'un amplificateur de cytomégalovirus CMV/ avec le promoteur de la β-actine de poulet CBA
- L'ADNc de REP1 humaine
- WPRE
- La séquence de polyadénylation de l'hormone de croissance bovine (BGH-polyA).

Le tout serait encadré de séquences répétées terminales inversées (ITR) provenant du génome de l'AAV2 de type sauvage⁽¹¹⁾.

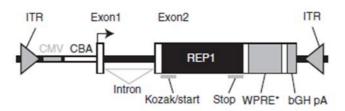


Figure 10 : schéma d'AAV2-REP-1(11)

Hybride de l'amplificateur du cytomégalovirus humain (CMV) et du promoteur de la b-actine de poulet (CBA)

Comme REP1 est une protéine ubiquitaire, il n'y avait pas d'intérêt à utiliser sa séguence spécifique pour diriger l'expression régulée des transgènes.

Le CBA, un promoteur ectopique bien caractérisé, sera capable d'entraîner des niveaux d'expression élevés et soutenus. Le promoteur CBA est également un promoteur de choix pour la thérapie génique rétinienne car il fournit une transduction efficace et une expression à long terme du transgène dans l'EPR⁽¹¹⁾.

• Séquence WPRE⁽¹¹⁾

Le WPRE est un élément régulateur post-transcriptionnel, qui améliore l'expression du transgène AAV dans la rétine et améliore l'efficacité du vecteur. Cela permet de délivrer des doses plus faibles de vecteur pour obtenir l'effet souhaité.

Cet élément n'a pas été utilisé auparavant dans des essais de thérapie génique rétinienne. Mais une séquence WPRE identique a été approuvée par la Food and Drug

Administration (FDA) aux États-Unis lorsqu'elle a été utilisée dans le vecteur AAV2-GAD pour la thérapie génique de la maladie de Parkinson⁽¹⁴⁾. Son utilisation dans cette indication n'a entraîné aucun effet indésirable grave.

• Signal de polyadénylation (Bgh pA)⁽¹¹⁾

La séquence poly A de l'hormone de croissance bovine peut également être utilisée pour améliorer l'expression des gènes.

• 2 Séquences répétitives terminales inversées (ITR) identiques⁽¹¹⁾

Celles-ci font partie du génome de l'AAV de type sauvage et sont importantes pour l'empaquetage de l'ADN simple brin dans les virions mais aussi pour protéger et maintenir d'une manière ou d'une autre l'ADN non empaqueté dans un état épisomique dans les cellules transduites. L'annotation complète AAV2/2 est utilisée pour indiquer que les RTI d'AAV2 ont été utilisés pour emballer la cassette d'expression dans le sérotype AAV2.

• Séquence d'ADNc codant pour le REP1 humain⁽¹¹⁾

Cette séquence a déjà été entièrement clonée et caractérisée

Les niveaux d'expression du transgène AAV sont donc maximisés par une combinaison d'un promoteur optimisé, d'un signal polyA, et par l'inclusion de la séquence WPRE. Cela permet d'obtenir le même effet thérapeutique avec une dose plus faible de vecteur AAV, ce qui devrait contribuer à minimiser la réponse immunitaire aux protéines virales chez les patients.

D.Méthode d'administration

AAV2-REP1 serait administré au moyen d'une procédure chirurgicale en trois étapes⁽¹⁵⁾ :

Vitrectomie et décollement du vitré postérieur

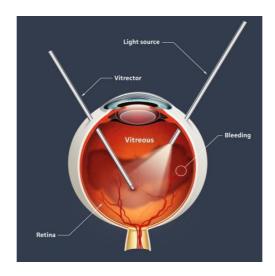


Figure 11^g: Illustration d'une vitrectomie

La procédure comprend une vitrectomie centrale et périphérique, suivie de l'induction d'un décollement du vitré postérieur, pour permettre la visualisation du site d'injection et pour réduire la traction du vitré pendant l'injection du vecteur.

Décollement maculaire et injection de BSS⁽¹⁵⁾

Le décollement maculaire est induit à l'aide d'une canule sous-rétinienne à bout émoussé et d'une injection sous-rétinienne d'une solution saline équilibrée (BSS). Le site de la rétinotomie est choisi à proximité de l'arcade vasculaire temporale supérieure, ce qui évite le vaisseau sanguin et facilite la bonne localisation de la zone cible et l'acheminement optimal du vecteur vers cette zone.

- Injection lente du vecteur AAV2⁽¹⁵⁾

Une injection lente en bulle unique est essentielle chez les patients atteints de choroïdérémie car l'espace sous-rétinien ciblé est souvent inférieur au volume de vecteur injecté (1 mL), et la rétine peut être trop étirée.

Une fois que le vecteur a été délivré, l'irrigation et l'aspiration de la cavité vitréenne sont effectuées pour éliminer tous reflux de vecteur dans la cavité vitréenne.

Il faut veiller à éviter d'injecter une bulle d'air dans l'espace sous-rétinien afin de minimiser le risque d'étirement aigu de la rétine et le développement éventuel d'un trou

^g D'après le site : http://www.aubryserny.fr/questions-frequentes-ophtalmologie/faq-vitrectomie-ablation-du-vitre-

 $[\]frac{montpellier.html\#:\sim:text=La\%20vitrectomie\%20ou\%20ablation\%20du,taille\%20inferieure\%20\%C3\%A0\%201\%20m}{m}$

maculaire. En outre, il faut éviter le tamponnement au gaz pour réduire le risque de reflux du vecteur et de formation de cataracte.

Après l'irrigation de la cavité vitréenne, l'œil est souvent laissé rempli de liquide.

E.La Dénomination Commune Internationale

La FDA et l'USAN proposent pour notre type de produit une dénomination en 2 termes contenant chacun un préfixe, un corps et un suffixe⁽¹⁶⁾.

Premier terme : qualifie le gène

- Préfixe : libre choix, pour notre thèse nous prendrons « EMI »

- Corps : identifie le gène utilisé ou la protéine qu'il code : REPI

- Suffixe: GENE

Deuxième terme : qualifie le vecteur

- Préfixe : libre choix, pour notre thèse nous prendrons « MA »

- Corps : type de virus : PARVO

- Suffixe: VEC

Nous pourrions donc imaginer le nom du potentiel médicament comme suit : *Emirepigene Maparvovec.*

F. Analyse concurrentielle

Dans cette partie, nous allons donc mener une rapide analyse concurrentielle afin de connaître les alternatives thérapeutiques disponibles ou en développement pour la choroïdérémie.

1. Médicaments actuellement sur le marché

A ce jour, il n'y a pas de médicaments disponibles sur le marché dans cette indication.

2. Médicaments en développement

- <u>Thérapies visant à ralentir ou à arrêter la dégénérescence de la rétine et de l'EPR⁽⁷⁾ :</u>
 - Remplacement/ augmentation du gène CHM: Pas molécule en développement à part notre exemple.
 - Modifier le gène du patient :
 - Échec des techniques existantes : nucléases à doigt de zinc ou les nucléases à effecteur Tal (TALEN) : peu efficace
 - Développement de la technologie CRISPR / Cas (répétitions palindromiques courtes régulièrement espacées en cluster / nucléase associée à CRISPR 9) :

- Efficacité de l'édition des gènes semble généralement meilleure, avec un potentiel cliniquement plus significatif
- Une partie importante du médicament reste inchangé entre les patients, et seule une séquence guide d'ARN spécifique doit être développée pour cibler un site dans le gène spécifique de la maladie, ce qui est plus attrayant en termes de développement clinique.
- Utile surtout lorsqu'on veut corriger ou réduire au silence un gène dont le variant entraine la production de protéine ayant un effet délétère. Or là, les variants n'entrainent aucune protéine détectable ou active : un simple ajout d'une copie correcte du gène est amplement suffisant. Rétablir le gène permettrait d'assurer un niveau d'expression correct et soutenu du gène, de plus existe des preuves que l'expression à partir d'un transgène peut être maintenue pendant des années si le vecteur d'administration et la cassette d'administration sont adaptés
- Utilisation de **médicaments inducteurs de reprise traductionnelle** (Translational readthrough inducing drugs, TRID) **en aval d'un codon STOP**
 - Les variants non-sens sont la cause de la choroïdérémie chez plus de 30% des patients.
 - L'utilisation de l'Ataluren (PTC124) dans la dystrophie musculaire de Duchenne (DMD) a montré un bon profil d'innocuité lorsqu'il est administré par voie orale et le bénéfice clinique démontré a conduit à son approbation dans l'UE pour cette indication.
 - Des décennies de traitement seraient nécessaires pour la choroïdérémie : pas assez de recul.
 - Preuve de concept en préclinique sur le poisson zèbre (seul modèle existant de choroïdérémie avec un variant non-sens) : pas cliniquement pertinent car absence du gène CHML (REP2) chez le poisson zèbre et donc le variant CHM est mortelle : on observe une augmentation de la durée de vie de l'animal.
 - La capacité des TRID à corriger le défaut de prénylation de Rab dans les fibroblastes d'un patient présentant un variant non-sens de la choroïdérémie est encourageante, malgré le fait que les niveaux de protéine REP1 de longueur normale restent inférieurs au seuil de détection.
- Oligonucléotides antisens (AON): Exon skipping: conçus spécifiquement pour se lier au pré-ARNm et rediriger le processus d'épissage, le ramenant potentiellement à une transcription normale
 - Dans certains cas de choroïdérémie : variants introniques profondes peuvent créer un site accepteur d'épissage cryptique qui se traduit par l'insertion d'un pseudoexon dans la transcription CHM, qui perturbe la fonction des gènes
 - Résultats in vitro prometteurs
 - Repose sur des types particuliers de variants, donc pas pertinente pour tous les cas de choroïdérémie

- <u>Thérapies visant à restaurer la vision aux derniers stades de la maladie, lorsque la majorité des photorécepteurs ont déjà été perdus⁽⁷⁾.</u>
 - **Transplantation cellulaire**, mais le problème est que dans la choroïdémie au stade avancé, l'EPR et la choroïde ont été perdues avec les photorécepteurs dégénératifs.
 - Prothèses rétiniennes: Bien que la plupart des systèmes reposent sur les couches rétiniennes internes survivantes, avec une conduction nerveuse des cellules ganglionnaires intacte, il n'y a pas de dépendance à la survie de l'EPR, des photorécepteurs ou de la choroïde.
 - Prothèse rétinienne Argus II: c'est un dispositif épirétinien approuvé pour une utilisation commerciale dans la dégénérescence rétinienne avancée dans l'UE et aux États-Unis, a été implantée chez au moins un patient atteint de choroïdérémie.
 - Ce dispositif présente un très bon profil de sécurité et diverses améliorations de la fonction visuelle ont été rapportées, bien que cellesci varient considérablement d'un individu à l'autre et la vision finale lors de l'utilisation de la prothèse était assez basse ;
 - D'autres dispositifs existent ou sont en cours de développement (dispositif supracoriodique pour l'œil bionique à 44 canaux (NCT03406416) Melbourne, Australie et Intelligent Retinal Implant System, IRIS V1 (NCT01864486) et V2 (NCT02670980) Pixium Vision SA) qui pourraient théoriquement restaurer des niveaux visuels beaucoup plus élevés.
 - Optogénétique: rendre les cellules restantes de la rétine sensibles à la lumière en exprimant ectopiquement des canaux ioniques ou des opsines sensibles à la lumière. Un certain nombre de systèmes sont à divers stades de développement préclinique et commencent à être étudiés dans des essais cliniques. Encore une fois, le niveau de vision qui peut être restauré par cette méthode est susceptible d'être relativement grossier, cependant, il est susceptible d'être comparable à n'importe quelle prothèse rétinienne et peut offrir des avantages spécifiques tels qu'une chirurgie moins invasive et une restauration potentielle d'un champ visuel plus large.

G. Potentiel Résumé des Caractéristiques de notre traitement

Dans cette partie, nous allons imaginer le résumé des caractéristiques du potentiel traitement pour la choroïdérémie. Nous allons donc lui donner un nom de marque « Chororepair » à partir de maintenant. Ce résumé des caractéristiques contiendra les informations suivantes : La dénomination, la composition qualitative et quantitative du traitement, la forme pharmaceutique, l'indication thérapeutique, la posoogie et le mode d'administration, les précautions à prendre avant la manipulation ou l'administration

du médicament, les conditionnements, les conditions de conservation et la classification ATC.

1. Dénomination

Chororepair® 1 x 10¹¹ génomes de vecteur/mL, solution injectable

2. Composition qualitative et quantitative

Description générale : L'Emirepigene maparvovec est un vecteur destiné au transfert de matériel génétique, qui utilise la capside d'un vecteur viral adéno-associé de sérotype 2 (AAV2) comme véhicule pour délivrer l'ADNc de la protéine ubiquitaire humaine REP-1 de 95 kDa au niveau de la rétine. L'emirepigene maparvovec est dérivé d'un AAV présent naturellement et modifié en utilisant des techniques d'ADN recombinant.

Chaque flacon unidose de 1 mL de solution contient 1 x 10¹¹ génomes de vecteur (vg).

Excipients : Chlorure de sodium, Phosphate monosodique monohydraté (pour ajustement de pH), Phosphate disodique dihydraté (pour ajustement de pH), Poloxamère 188, Eau pour préparation injectables

3. Forme pharmaceutique

Solution injectable.

Après décongélation, la solution est un liquide transparent et incolore avec un pH de 7,3.

4. Indication thérapeutique

Chororepair® est indiqué pour le traitement des hommes adultes présentant une perte visuelle due à une dystrophie rétinienne héréditaire résultant de défauts géniques confirmées du *CHM* et possédant suffisamment de cellules rétiniennes viables.

5. Posologie et mode d'administration

Posologie:

Les patients recevront une dose unique de 1 x 10¹¹ vg d'emirepigene maparvovec dans chaque œil. Chaque dose sera délivrée dans l'espace sous-rétinien dans un volume total de 0,3 mL. Les administrations individuelles dans chaque œil sont réalisées lors de jours distincts avec un intervalle court, mais espacées d'au moins 6 jours.

Le traitement doit être accompagné d'un traitement immunomodulateur pré et postopératoire.

Mode d'administration :

Administration sous-rétinienne.

Chororepair® est une solution stérile pour injection sous-rétinienne qui doit être décongelée avant administration.

Ce médicament ne doit pas être administré par injection intravitréenne.

Chororepair® est un flacon à usage unique pour administration unique dans un seul œil. Le produit est administré sous la forme d'une injection sous-rétinienne après vitrectomie dans chaque œil. Il ne doit pas être administré dans le voisinage immédiat de la fovéa afin de préserver l'intégrité fovéale.

L'administration de l'emirepigene maparvovec doit s'effectuer au bloc opératoire en conditions aseptiques contrôlées. Une anesthésie adéquate doit être administrée au patient avant l'intervention. La pupille de l'œil devant recevoir l'injection doit être dilatée et une prise en charge du risque infectieux doit être définie avant la chirurgie, conformément à la pratique médicale de référence.

6. Précautions à prendre avant la manipulation ou l'administration du médicament

Ce médicament contient des organismes génétiquement modifiés. Un équipement de protection individuelle (avec une blouse de laboratoire, des lunettes de sécurité et des gants) doit être porté pendant la préparation ou l'administration du voretigene neparvovec.

7. Conditionnements

Conditionnement primaire: 1 flacon unidose en verre

Conditionnement secondaire : Poche d'aluminium contenant 1 boîte en carton contenant 1 flacon unidose.

8. Condition de conservation

Flacon congelé non ouvert : 2 ans

Après décongélation et dilution : Une fois décongelé, le médicament ne doit pas être recongelé et doit être laissé à température ambiante (moins de 25 °C). Une fois ouverte, la solution doit être utilisée immédiatement ; si elle n'est pas utilisée immédiatement, le temps de stockage à température ambiante (moins de 25 °C) ne doit pas dépasser 4 heures.

9. Classification ATC

La classification ATC n'a pas encore été attribuée.

H. Propriété intellectuelle

Dans cette partie, nous allons développer les requis relatifs à la propriété intellectuelle en nous intéressant au dépôt de brevet (1), aux certificats complémentaires de protection (2), à la protection des données et à l'exclusivité commerciale (3), ainsi qu'aux marques (4).

1. Dépôt de brevet

C'est le code de la propriété intellectuelle⁽¹⁷⁾ qui définit le brevet comme un titre délivré par l'État et conférant un droit exclusif d'exploitation de l'invention qui en est l'objet.

Il existe 4 critères de brevabilité en Europe :

- <u>La nouveauté</u>: « Une invention est considérée comme nouvelle si elle n'est pas comprise dans l'état de la technique (articles, brevets, posters publiés avant la date de dépôt du brevet). »
- <u>L'activité inventive</u>: « Une invention est considérée comme impliquant une activité inventive si, pour un homme du métier (spécialiste du domaine technique), elle ne découle pas d'une manière évidente de l'état de la technique ». C'est, en France, l'Institut National de Propriété Industrielle (INPI) qui apprécie cette activité inventive.
- <u>L'application industrielle</u>: « Une invention est considérée comme susceptible d'application industrielle si on objet peut être fabriqué ou utilisé dans tout genre d'industrie, y compris l'agriculture ». Encore une fois, l'INPI apprécie cette application industrielle.
- <u>La suffisance de description</u>: « L'invention doit être exposée dans la demande de brevet européen de façon suffisamment claire et complète pour qu'un homme du métier puisse l'exécuter ».

Les brevets sont limités dans le temps et dans l'espace. Ils sont généralement nationaux (valable dans un seul pays) ou limité à un seul territoire (par exemple l'Europe). Nous avons donc déposé une demande de brevet pour notre molécule et quelques dérivés en Europe, Etats-Unis, Australie, Canada, Japon et en Chine.

Les étapes afin d'obtenir un brevet sont :

- Identification de l'invention.
- Rédaction de la demande de brevet.
- Dépôt de la demande de brevet.
- Rapport de recherche établi par l'office des brevets.
- Publication de la demande de brevet.
- Examen : échanges entre l'ingénieur brevet et l'examinateur de l'office des brevets au sujet de la brevetabilité.
- Délivrance (ou rejet) du brevet : incluant une publication du brevet.
- Maintien du brevet délivré : paiement des annuités.

L'expiration du brevet aura lieu, sous réserve que ce que nous dirons s'agissant du certificat complémentaire de protection (voir *infra*), 20 ans après la date de dépôt.

Le contenu du brevet est le suivant :

- Page de garde :
 - Numéro de brevet : « A » pour demande de brevet, « B » pour Délivré.
 - Date de dépôt.
 - Titulaire.
 - o Inventeurs.
 - Propriétaire.
 - o Classe : domaine, chimie et médicament.
- Abstract : aucune valeur juridique.
- Description.
- Revendications : indépendantes ou non.

Pour préserver l'intégrité et la confidentialité des données et des secrets commerciaux relatifs au produit faisant l'objet d'un dépôt de brevet, des accords de confidentialité existent avec les employés de l'entreprise concernée, les consultants, les conseillers scientifiques ainsi que les sous-traitants.

2. Certificats complémentaires de protection

Le certificat complémentaire de protection est un titre de propriété industrielle destiné aux produits pharmaceutiques, ainsi qu'aux produits phytopharmaceutiques (traitement des maladies à l'aide de plantes). Il permet de prolonger la durée de protection de ces produits.

En Europe, ce certificat prolonge la protection de notre produit de cinq ans au maximum à partir de l'expiration de la durée de validité maximale du brevet (20 ans). Il est défini dans le règlement (CE) N°469/2009 du parlement européen et du conseil du 6 mai 2009.

3. Protection des données et exclusivité commerciale

En Europe, l'AMM permet d'obtenir une protection des données durant 8 ans suivie d'une exclusivité commerciale de 2 ans. Cette protection peut être prolongée d'un an en cas d'obtention, dans les 8 ans de l'AMM initiale, d'une extension d'indication présentant un bénéfice clinique significatif.

Aux Etats-Unis, la protection des données est de 5 ans voire 8 ans dans certains cas.

Au Canada, la protection des données est de 8 ans et peut être allongée de 6 mois si l'on obtient des données pédiatriques au cours de ces 8 années.

En Australie, la protection des données est de 5 ans, elle est identique aux autres médicaments commercialisés.

Au Japon, la durée de protection des données est de 8 ans.

L'exclusivité commerciale n'existe pas dans tous les pays.

4. Dépôt de marque⁽¹⁸⁾

La marque de fabrique, de commerce ou de service est un signe susceptible de représentation graphique servant à distinguer les produits ou services d'une entité morale ou physique.

La marque va permettre de défendre les valeurs de l'entreprise et de distinguer les produits mis sur le marché. C'est un élément clef de la stratégie d'une entreprise contribuant à la valorisation de celle-ci et permettant de distinguer ses produits et ses services de ceux des concurrents.

Dans notre cas pratique, le nom « Chororepair® » serait déposé à l'INPI (Institut National de la Propriété Intellectuelle) qui effectuera une recherche d'antériorité sur ce nom. Cette dernière déposera ensuite une demande internationale à l'Organisation mondiale de la propriété intellectuelle (OMPI) pour permettre à notre potentiel produit d'obtenir le certificat d'enregistrement.

Partie III. Phase de développement non-clinique et clinique.

I. La phase de développement pré-clinique

Les objectifs de la phase préclinique sont les suivants :

- Connaître la cible, le mécanisme d'action et les effets de notre molécule.
- Connaître et prévoir le devenir de notre produit dans l'organisme (Absorption, Distribution, Métabolisation et Élimination -ADME). Il faudra ensuite pouvoir extrapoler ces informations à l'organisme humain.
- Connaître les organes cibles et le niveau de toxicité que notre molécule pourrait avoir sur eux, les liens avec la dose et la réversibilité de la toxicité.

Pour mener à bien ces différents objectifs, il est important de bien sélectionner les paramètres de sécurité à surveiller sur le plan clinique.

La finalité de ces études est de déterminer la première dose administrable à l'homme en toute sécurité ainsi que l'escalade de dose envisageable lors du traitement.

Nous allons donc dans cette partie développer le cadre réglementaire des essais cliniques (A), le concept de modèle animal (B), la réglementation autour du développement non clinique des produits de thérapies géniques (C) et enfin le développement non-clinique de notre médicament (D).

A.Cadre réglementaire.

Le cadre réglementaire permet de définir le bon déroulement de la phase préclinique et est définit par trois notions :

- Les directives et recommandations scientifiques : Celles-ci sont mises en place par l'EMA (plus précisément par le CHMP), l'ICH (International Conference on Harmonization), la FDA et l'OCDE.
- Les Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF): Un processus de validation, d'assurance qualité, de qualification des équipements, de contrôle qualité et de documentation doit être fourni pour le médicament expérimental. Tout ceci est encadré par les BPF.
- Les Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL) : Elles regroupent les aspects organisationnels et opérationnels pour les essais de sécurité non-cliniques. Elles permettent de garantir :
 - La reproductibilité,
 - La qualité,
 - o L'intégrité des données (in vivo et in vitro).

Nous allons, dans cette partie, développer l'ICH (1), le principe des 3R (2) ainsi que les guidelines de l'EMA concernant la qualité et les aspects cliniques et non cliniques du médicament contenant des cellules génétiques modifiées (3).

1. L'ICH

L'International Conference on Harmonization a été fondé par différentes autorités de santé : l'EMA, la FDA, la MHW (autorité japonaise) ainsi que par des représentants de l'industrie et de la recherche (European Foundation of Pharmaceutical Industries and Association, Japan Manufactures Association, Pharmaceuticals Researchs and Manufacturers of America).

Elle regroupe 17 pays et fait appel à des groupes d'experts en fonction de lignes directrices ou « topics », avec un rapporteur (topic leader) qui est accompagné de l'avis des autorités nationales, des industriels et des observateurs.

Les « topics » sont les suivants :

- La qualité.
- La sécurité.
- L'efficacité.
- Le multidisciplinaire : MedRA, CTD, module 3 et 5.

L'ICH va définir un certain nombre de lignes directrices pour encadrer la réalisation des études précliniques :

- ICH S7A "Safety Pharmacology Studies for Human Pharmaceuticals":
 Principes généraux, définition et recommandation concernant la pharmacologie de sécurité.
- ICH M3 "Guidance on safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorization for pharmaceuticals": Harmonisation des études d'innocuité non cliniques nécessaire pour appuyer les études cliniques chez l'Humain.

Notre médicament étant un produit issu des biotechnologies, certaines lignes directrices plus précises vont nous concerner, par exemple : ICH S6 "Preclinical safety evaluation of biotechnology derived pharmaceuticals".

Les objectifs principaux de cette dernière guideline sont :

- Identification du schéma de posologie chez l'Homme (et l'escalade de dose si besoin).
- Identification des organes cibles pour la toxicité.
- Identification des paramètres de sécurité pour la surveillance clinique.

2. Directive 2010/63/UE 3R ou Principe des « 3R »

Cette directive est importante à mentionner car elle concerne l'utilisation des modèles animaux dans la recherche scientifique et met en place la notion des « 3R » dans la législation de l'Union Européenne. Il s'agit d'une exigence juridique qui est applicable aux soins et à l'utilisation des animaux dans ce domaine.

C'est une harmonisation Européenne et internationale de la réglementation de sécurité et de reconnaissance mutuelle de validité des méthodes et elle montre qu'il faut se limiter aux seules expériences considérées comme indispensables. Il faut aussi réduire les répétitions inutiles pour éviter de refaire une étude déjà réalisée.

En ce qui concerne le protocole expérimental, il doit être rédigé et évalué par un comité d'éthique qui jugera de l'intérêt ou non de l'expérimentation qui va leur être présenté. Des méthodes statistiques sont disponibles afin d'estimer le nombre d'animaux minimum requis pour avoir des résultats d'étude exploitables.

Les « 3R » ont été énoncés en 1959 par Russel et Burch dans leur ouvrage « Les principes de la technique expérimentale sans cruauté » et proposent les principes suivants :

- **Remplacer**: Trouver des méthodes alternatives à l'expérimentation animale telles que l'informatique ou des expérimentation cellulaires.
- Raffiner: Améliorer les contraintes autour de l'animal (seuil de douleur, points limites) en travaillant sur son confort et en réfléchissant sur les aspects d'angoisse ou de douleur. Le modèle animal est donc choisi avec soin et les conditions de transport, d'élevage, d'hébergement sont renforcées afin d'augmenter le bien-être animal.
 - Les protocoles doivent être planifiés et les animaux correctement entraînés à coopérer avec un renforcement positif (qui visera à diminuer le stress qui perturbe ou modifie les résultats des études).
 - Enfin, des points limites les plus précoces possibles seront établis en fonction de l'objectif de l'expérience (qui seront vérifiés par le Comité d'éthique).
- Réduire: Il faut utiliser le moins d'animaux possible, des animaux stables de manière héréditaire et réutiliser l'animal ou les mutualiser, optimiser les statistiques.

3. EMA guideline on quality, non-clinical and clinical aspects of medicinal products containing genetically modified cells⁽¹⁹⁾

Concernant la pharmacodynamie et la pharmacocinétique de notre potentiel produit « Emirepigene Maparvovec », nos études doivent démontrer :

- Les effets attendus de la modification génétique, tels que la différenciation et / ou la prolifération cellulaire induites par le produit génique ou la récupération de la fonction physiologique prévue,
- La qualité d'expression, de régulation, de localisation, de durée d'expression et d'intégrité structurelle du produit génique,

- L'intégrité du vecteur dans les cellules (épisomales ou intégrées),
- L'effet thérapeutique recherché, sa localisation et ses limites à l'organe / tissu souhaité (efficacité et innocuité),
- Toute interaction ayant un effet sur les tissus environnants (par exemple, le suicide de cellules de spectateurs en plus de ceux qui portent le suicide transgène),
- Toute perte d'expression inattendue.

Les critères d'effet toxicologique pourraient être traités dans des études in vitro et / ou in vivo qui devraient être conçues afin d'étudier les effets indésirables induits par la modification génétique.

Les paramètres et considérations suivants doivent être pris en compte :

- Tout changement involontaire et inattendu de la morphologie cellulaire, du phénotype, de la fonction et du comportement, comme la prolifération indésirable, la différenciation, l'immortalisation ou l'induction d'un phénotype transformé, qui pourrait se produire dans les cellules génétiquement modifiées par rapport à la population de cellules non modifiées, ainsi que tout changement pathologique dans les sites où l'expression se produit.
- Toute conséquence toxicologique de l'expression vecteur / transgène, de l'activité du produit et de sa persistance ou toute propriété inattendue de la modification génétique, comme par exemple une réponse immunitaire indésirable.

L'utilisation de cellules allogéniques ou xénogéniques peut entraîner une réponse immunitaire indésirable à l'administration dans les cellules, et les études animales in vivo peuvent fournir des informations utiles concernant les conséquences d'une telle réponse immunitaire.

B.Le modèle animal⁽¹⁹⁾

Selon les guidelines de l'EMA ("Guideline on the quality, non-clinical and clinical aspects of gene therapy medicinal products"), les études non cliniques doivent être effectuées avec les modèles in vitro et in vivo les plus appropriés sur le plan pharmacologique.

La justification du développement non clinique et les critères utilisés pour choisir ces modèles doivent être discutés et justifiés en vue des études non-cliniques.

Dans le cas où aucun modèle animal approprié n'est disponible pour traiter tous les aspects des tests non cliniques, sur la base d'une justification scientifique, le demandeur doit s'efforcer de développer de tels modèles ou effectuer des évaluations in vitro en utilisant des systèmes reflétant de manière appropriée l'état de la maladie.

Les aspects suivants doivent être pris en compte lors de la sélection du modèle animal

:

- La capacité du vecteur visé à transfecter / transduire / infecter et à se répliquer dans les espèces / modèles animaux choisis.
 - Pour les GTMP basés sur un vecteur viral déficient en réplication, le modèle animal doit être sensible à l'infection virale.
 - Pour le GTMP basé sur un virus ou un micro-organisme compétent pour la réplication, la capacité à se répliquer doit être prise en considération lors de la sélection du modèle animal.
 - O Pour les virus oncolytiques qui sont classés comme GTMP, il peut être important d'inclure une xénogreffe humaine porteuse de tumeur dans les animaux immunodéficients ou immunodéprimés ou un modèle de tumeur animale syngénique afin d'évaluer les effets de la réplication virale dans les cellules tumorales dans le cadre de l'étude non-clinique.
- L'expression et la distribution tissulaire des récepteurs cellulaires d'un virus / virion / bactérie dans le modèle animal qui pourraient affecter l'efficacité de la capture par l'hôte et la séquestration cellulaire et tissulaire du vecteur. Selon le type de vecteur de thérapie génique, le tropisme tissulaire peut se produire ou est censé se produire via la présence sélective du GTMP dans les tissus ou les organes, l'infection sélective de cellules / tissus ou l'expression sélective du ou des gènes thérapeutiques. Lors de la sélection du modèle animal pour ces vecteurs, la comparabilité du tropisme tissulaire dans le modèle animal sélectionné et chez l'homme doit être discutée et justifiée.
- L'activité des éléments régulateurs et leur contrôle pour conduire l'expression spécifique aux tissus et le niveau d'expression du transgène.
- La réponse biologique au produit transgénique, y compris son expression cible, sa distribution, sa liaison et son occupation, ses conséquences fonctionnelles, y compris la signalisation cellulaire et également la régulation des gènes associés, le cas échéant.
- Le statut immunitaire de l'animal, sa réponse immunitaire et l'immunité préexistante potentielle. Le statut immunitaire et l'immunité préexistante chez l'homme doivent être pris en compte lors de la sélection du modèle animal. La persistance et la clairance de l'acide nucléique administré dépendront largement de la surveillance immunitaire. Le statut immunitaire du modèle animal doit reproduire le plus fidèlement possible la situation du patient. La réaction immunitaire des animaux au virus parental ou aux bactéries utilisées pour dériver le GTMP doit être prise en considération et tout impact potentiel sur les résultats ou l'interprétation de l'étude doit être évalué. Les effets d'une immunité préexistante contre le véhicule vecteur et / ou les produits géniques vectoriels chez le patient peuvent être imités par un prétraitement des animaux avec le vecteur.
- Présence de gènes animaux / produits géniques homologues au gène thérapeutique / produit transgénique. Par exemple, un vecteur exprimant une cytokine humaine serait mieux testé chez une espèce dans laquelle cette cytokine se lie au récepteur de cytokine correspondant avec une affinité

- comparable à celle observée pour les récepteurs humains, et initie une réponse pharmacologique comparable à celle attendue chez l'homme.
- Les animaux transgéniques sont utilisés pour modéliser diverses maladies humaines. Néanmoins, le choix du modèle animal transgénique doit être correctement discuté.
- Métabolisme et autres aspects pharmacocinétiques, si nécessaire.
 L'utilisation de modèles animaux de grande taille ou malades peut être
 envisagée afin d'imiter des conditions cliniques particulières ou la biodistribution
 du GTMP en fonction de la nature du produit, de sa voie d'administration et,
 éventuellement, du système d'administration utilisé (par exemple,
 administration intra-cérébrale).
- Caractéristiques biologiques des composants du produit dans l'espèce utilisée, en fonction de la dose administrée et du volume pouvant être administré en toute sécurité aux animaux d'essai.
- La distribution active et / ou passive du virus / vecteur dans l'organisme modèle et la possibilité de recombinaison du GTMP (ou de parties du GTMP) avec des virus endogènes de l'hôte.

Dans le cas où un seul modèle animal pourrait ne pas suffire pour traiter les aspects pertinents, différents modèles animaux doivent être utilisés dans ces études.

Le ou les modèles animaux choisis peuvent comprendre des animaux de type sauvage, immunodéprimés, knock-out, knock-in, humanisés ou transgéniques.

L'utilisation de modèles de maladies ou de modèles homologues peut être envisagée. Les petits animaux rongeurs, y compris les modèles transgéniques, à élimination directe et les maladies naturelles, peuvent représenter des modèles pertinents, mais les limitations dues à la petite taille et à la courte durée de vie doivent être prises en compte.

Le nombre d'animaux utilisés par dose testée a une incidence directe sur la capacité de détecter la toxicité.

- Une petite taille d'échantillon peut entraîner l'échec de l'observation des événements toxiques en raison de la faible fréquence, quelle que soit la gravité.
- Les limites imposées par la taille de l'échantillon, comme c'est souvent le cas pour les études sur des primates non humains, peuvent être en partie compensées en augmentant la fréquence et la durée de la surveillance.

Les **deux sexes** doivent généralement être utilisés ou une justification doit être fournie pour des omissions spécifiques. Pour améliorer l'évaluation de l'innocuité, une attention particulière doit être accordée à la taille des groupes de contrôle, en particulier lorsque les données historiques font défaut ou sont limitées pour le modèle / l'espèce animale choisi.

C.La réglementation autour du développement non-clinique des produits de thérapie génique.

Dans cette partie, nous allons développer les requis en termes d'études pharmacologiques (1) et toxicologiques (2) dans le cadre du développement non clinique d'un médicament. Pour ce faire, nous allons nous aider de la guideline développée par l'Agence Européenne du Médicament⁽¹⁹⁾.

1. Les études de pharmacologie.

Il s'agit d'effectuer une preuve de principe de notre médicament. L'évaluation de l'activité biologique doit être faite « in vitro » (sur des cellules humaines, des myoblastes, etc) et « in vivo » sur des modèles animaux (souris, singes, etc).

Le choix de l'espèce se porte en général sur un petit animal car ce dernier donne des informations pour les études de toxicologie et est plus facile à manipuler.

On choisit lors de ces études les composants du vecteur (promoteur et vecteur). A terme, on aura alors une évaluation de la persistance de l'expression dans le modèle que l'on utilise.

2. Les études de toxicologie.

Il s'agit d'études portant sur une administration avec une période d'observation de 3 à 6 mois (en fonction du vecteur).

Une seule espèce animale est suffisante pour mener à bien les tests et pour appuyer le passage aux essais cliniques.

De plus, il est important que la voie d'administration soit identique à celle envisagée pour l'Homme ou se rapproche le plus possible de celle-ci.

D.Développement non clinique de notre médicament.

Devant le manque de modèle animal disponible et viable pour reproduire la pathologie que nous étudions, nous avons trouvé des études qui portent essentiellement sur des modèles in vitro et in vivo qui vont reproduire au mieux les tissus cibles de « Emirepigene Maparvovec ».

Dans cette partie, nous allons étudier les preuves de concept « in vitro » sur les lignées cellulaires saines (1) et pathologiques (2), les preuves de concepts « in vivo » (3), la pharmacocinétique (4) et la sécurité de notre vecteur (5).

1. Preuve de concept « in vitro » (lignées cellulaires saines)⁽¹⁾.

Les tests in vitro se feront sur une lignée de cellules créées à partir d'une culture de cellules d'ovaires d'hamster Chinois (CHO).

Le vecteur proviral a été généré et présente :

- Un type sauvage ADNc de CHM humain (hCHM).
- Un hybride activateur de cytomégalovirus, avec une béta-actine de poulet (CBAe).

Les analyses de séquences de notre vecteur montrent une absence de potentiels variants, attestant ainsi de la qualité de notre vecteur qui pourra être utilisé ultérieurement dans nos études précliniques.

Ceci nous démontre donc que ce vecteur est stable et peut être utilisé pour nos études non-cliniques.

Nous pouvons schématiser le vecteur comme suit :

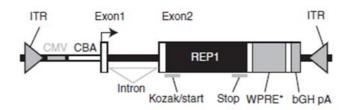


Figure 12 : Rappel de la structure de notre vecteur AAV2-REP-1⁽¹¹⁾

Le vecteur a été injecté dans les cellules CHO et les résultats observés grâce à un Western Blot utilisant un anticorps anti-REP1.

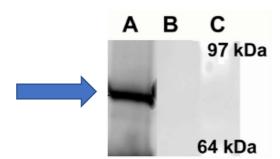


Figure 53: Western Blot des cellules CHO traitées par notre vecteur(1)

A : Cellule transfectée par notre vecteur.

B : Cellule de contrôle (non transfectée).

C : Marqueur de la protéine.

Ce Western Blot nous révèle bien que les cellules transfectées par le vecteur AAV2.h*CHM* présentent la protéine REP1.

Des analyses par Immunofluorescence de ces cultures cellulaires transfectées montrent une forte expression de la protéine hREP1 dans le cytoplasme. Cependant, les cellules contrôles ne présentent pas cette forte expression.

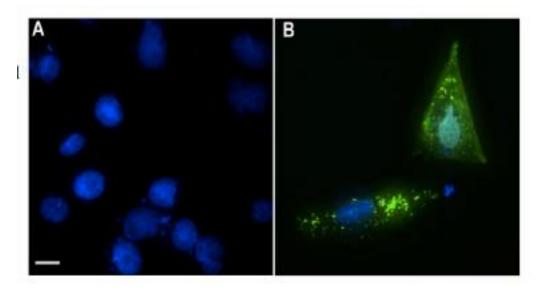


Figure 14: Immunofluorescence de cultures de cellules CHO⁽¹⁾

A : Cellules contrôles ne présentant pas de fluorescence due à la présence de la protéine REP1.

B : Cellules transfectées par notre vecteur et présentant une fluorescence verte, due à la présence de la protéine REP1.

On remarque également lors de ces premiers tests que l'administration par dose croissante de génome viral entraîne une expression proportionnelle de la protéine REP1 dans les cellules transfectées.

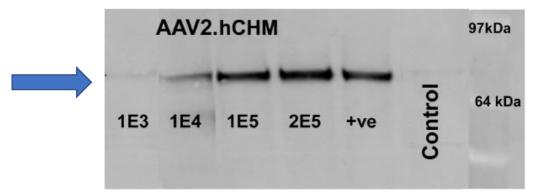


Figure 15 : Analyse par Immuno-Blot des cellules CHO infectées par des doses de 1x10³ à 2x10⁵ de génome viral d'AVV2-hCHM⁽¹⁾

On remarque grâce à cette figure que l'expression de la protéine REP1 dans les cellules CHO traitées augmente en fonction de la dose de génome viral que l'on injecte. Ceci est illustré par l'intensité du signal présent (flèche bleue).

Ces études nous permettent donc de prouver que la transfection de notre vecteur dans les cellules induit bien une expression de la protéine REP1. De plus, ceci est corroboré par le fait que les cellules contrôles (non-traitées par notre vecteur) ne présentent pas les protéines REP1.

2. Preuve de concept « in vitro » (lignées cellulaires pathologiques)⁽¹⁾.

Dans un deuxième temps, les tests sur notre potentiel médicament se feront sur des lignées cellulaires présentant les déficiences induites par la choroïdérémie.

Nous allons donc procéder en différentes étapes : la génération et la caractérisation de modèles « in vitro » de choroïdérémie (a), la preuve de concept « in vitro » : augmentation de l'expression de la protéine REP1 (b), et la preuve de concept « in vitro » avec l'augmentation du trafic de la protéine Rab27 (c).

a. Génération et caractérisation de modèles « in vitro » de choroïdérémie.

Pour ce faire, deux individus (non apparentés) présentant la pathologie ont consenti à fournir des échantillons de leur sang pour permettre la génération de lignées cellulaires et pour effectuer des tests biologiques.

On cherche donc à générer des cellules souches pluripotentes induites (iPSc) avec les cellules mononucléaires du sang périphérique.

Les lignées cellulaires provenant de ces individus seront nommées respectivement CPS1 et CPS2.

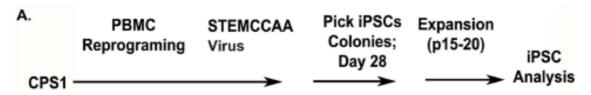


Figure 16 : Schéma de la génération de la lignée cellulaire iPSc à partir de CPS1(1)

Les lignées iPSC sont caractérisées de manière standard afin de déterminer si elles ont un degré de qualité suffisant pour mener à bien les différents tests que nous développerons ultérieurement.

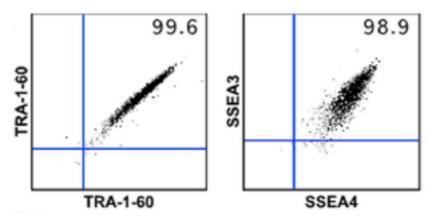


Figure 17 : Marqueurs extracellulaires de la pluripotence des lignées générées pour nos études⁽¹⁾

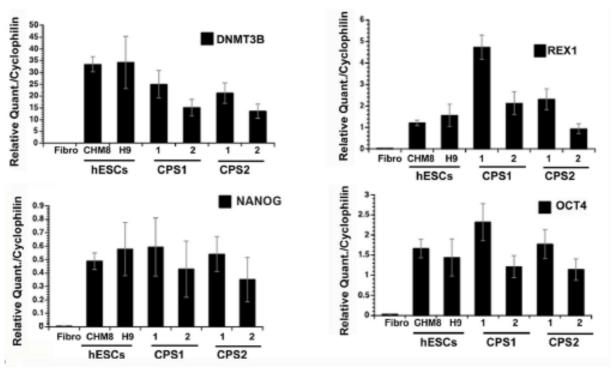


Figure 186 : Analyse par PCR des lignées iPSC issues de CPS1 et CPS2⁽¹⁾

On remarque dans ces analyses l'expression de marqueurs retrouvés normalement dans les gènes pluripotents.

Afin d'effacer la mémoire épigénétique résiduelle de la cellule de départ, les clones sont maintenus en culture pour une durée minimale de 16 passages.

La capacité de pluripotence des clones de CPS a été démontrée grâce à un essai sur chaque couche germinale (ectoderme, mésoderme et endoderme).

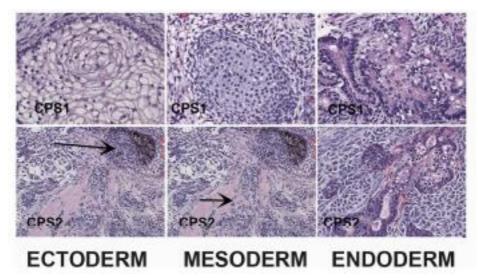


Figure 19 : Coloration à l'hématoxyline et à l'éosine des tératomes sur les 3 couches germinales⁽¹⁾.

Des tests moléculaires ont été menés afin de prouver que les lignées cellulaires générées présentaient bien le déficit en protéine REP1 caractéristique de la choroïdérémie.

De plus, une lignée de fibroblastes correspondant à la lignée iPSC de CPS1 a été générée et sera appelée pour la suite des études CPF1.

b. Preuve de concept « in vitro » : augmentation de l'expression de la protéine REP1.

Les lignées de fibroblastes dérivées des patients ont été infectées avec notre vecteur à une dose MOI (Multiplicity Of Infection) de 2^E5 vg/cellule et l'expression de la protéine REP1 a été analysée via la technique d'immunofluorescence et de western blot.

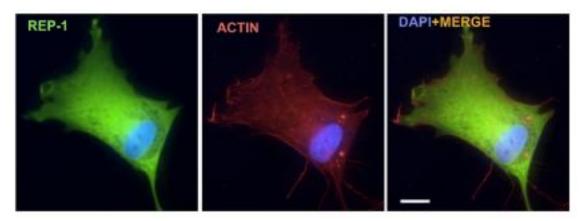


Figure 20 : Immunofluorescence sur les lignées de fibroblastes infectées par AAV2hCHM⁽¹⁾

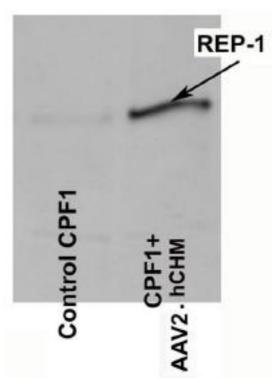


Figure 21 : Western Blot mesurant l'expression de REP-1 dans les fibroblastes infectés par AAV2-hCHM⁽¹⁾

On remarque sur ces deux figures que l'expression de la protéine REP1 est augmentée lors de l'infection par notre vecteur, ce qui démontre l'effet de notre médicament.

Cette expression est démontrée de la même manière dans les lignées iPSC infectées par AAV2.h*CHM*.

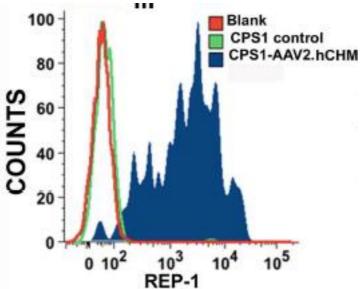


Figure 22 : Méthode FACS (fluorescence activating celle sorting) des lignées iPSC infectées par AAV2-hCHM⁽¹⁾

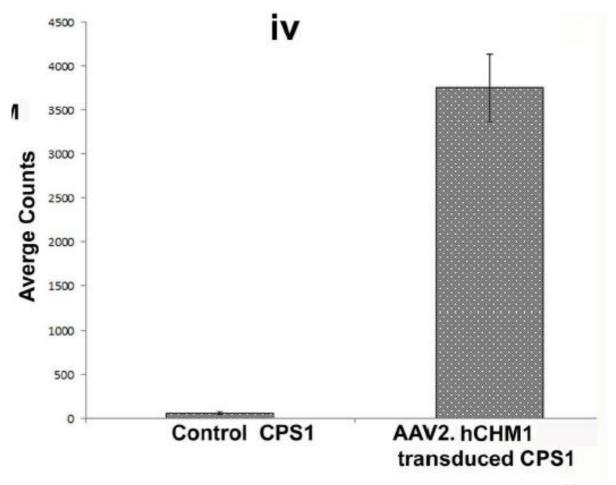


Figure 23 : Méthode FACS des lignées iPSC infectées par AAV2-hCHM⁽¹⁾

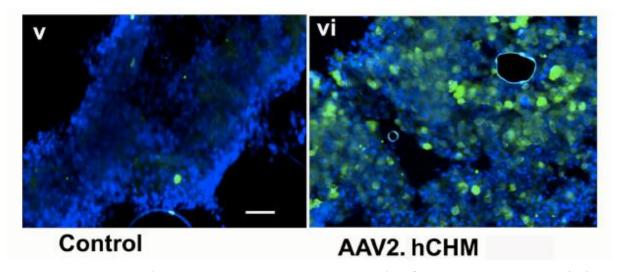


Figure 24 : Immunofluorescence chez des cellules infectées par notre vecteur (VI) vs des cellules contrôles (non-infectées : V)⁽¹⁾

Des comparaisons plus poussées montrent que le taux de protéines REP1 exprimées dans les cellules infectées par notre vecteur est 35 à 40% plus forte dans les lignées pluripotentes que dans les lignées de fibroblastes.

Ceci confirme non seulement la forte expression de la protéine REP1 dans les cellules infectées par notre plasmide mais montre aussi l'augmentation de la transduction médiée par AAV2 dans les lignées iPSC comparées aux lignées de fibroblastes.

On peut donc en conclure que les lignées pluripotentes sont un excellent modèle pour établir une preuve de concept pour les thérapies géniques de la choroïdérémie.

c. Preuve de concept « in vitro » : Augmentation du trafic de la protéine Rab27.

On veut déterminer si l'injection de AAV2.h*CHM* corrige le trafic protéique déficient à cause de la perte de la protéine REP-1.

On infecte donc les lignées iPSC et les fibroblastes qui ont été réalisés pour les besoins de l'étude avec AAV2.h*CHM*.

On fait une immunofluorescence de contrôle qui montre que quand la protéine REP-1 est absente, la protéine Rab27 stagne près de la région nucléaire de la cellule.

Avec la présence de REP-1 exogène, on remarque un trafic du noyau vers la membrane de la cellule.

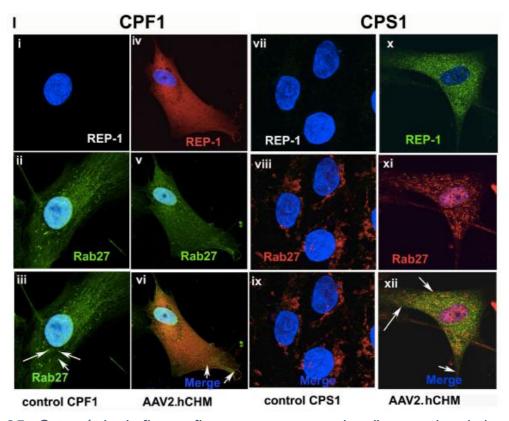


Figure 25 : Cytométrie de flux en fluorescence pour suivre l'expression de la protéine REP1 et la protéine Rab27 dans les lignées CPF1 et CPS1⁽¹⁾.

Contrôles: i, ii, iii, vii, viii, ix.

On voit sur ces images que les protéines Rab27 ne sont présentent qu'autour du noyau chez les cellules non traitées.

Chez les cellules traitées, on remarque que les protéines Rab27 sont réparties dans tout le cytoplasme, témoin de la reprise du trafic protéique lors de l'administration de notre médicament.

On veut également évaluer en détail la distribution de Rab27 et des REP1 dans les cellules contrôles et les cellules traitées.

Des analyses en cytométrie de flux avec fluorescence ont été menées.

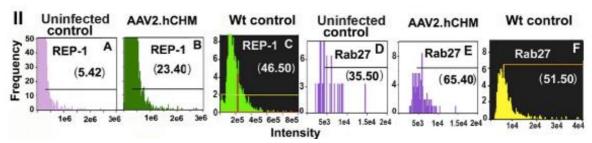


Figure 26 : Analyse quantitative des niveaux d'expression de REP1 et Rab 27 dans les lignées iPSC⁽¹⁾

Ces figures nous montrent que l'expression de la protéine REP1 est bien plus élevée chez les cellules traitées (B) en comparaison aux cellules non traitées(A).

Cependant, cette expression exogène de REP1 est toujours inférieure à l'expression endogène de REP1.

L'expression de REP1 entraine alors une expression de Rab27 beaucoup plus forte chez les cellules traitées (E) (65% d'expression dans les membranes des cellules traitées, 35% dans les membranes des cellules non traitées).

En conclusion, nous pouvons donc montrer que notre molécule agit sur des modèles in vitro pathologiques de la choroïdérémie.

Il est important de noter que l'expression de la protéine REP1 est augmentée lors de l'infection des lignées cellulaires iPSC par notre médicament et que cette expression induit un plus fort trafic protéique grâce à Rab27, palliant ainsi les déficits fondamentaux de la pathologie.

3. Preuve de concept « in vivo ».

Afin d'évaluer l'efficacité de notre plasmide in vivo, ce dernier a été injecté par voie sous-rétinienne chez la souris « wild type ».

Trois semaines après l'injection, les tissus ont été collectés afin d'analyser les taux de protéine et de mener une étude histologique.

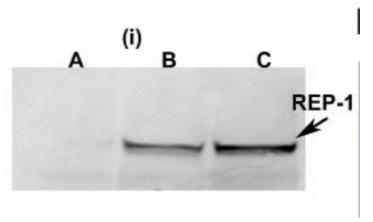


Figure 27 : Immuno-Blot des sections de rétine de souris C57B1/6⁽¹⁾

A: Contrôle.

Ce Western Blot nous confirme donc que notre médicament a une action in vivo chez la souris.

Afin de confirmer ces résultats, des analyses par immunofluorescence ont été menées pour montrer l'expression et la localisation des protéines REP1 dans les segments internes et externes des couches nucléaires des photorécepteurs.

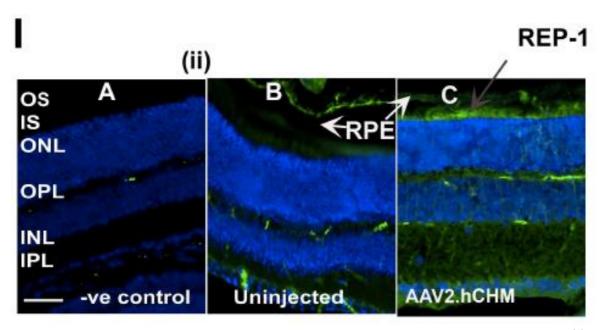


Figure 28 : Immunofluorescence des sections de rétine de souris C57B1/6⁽¹⁾

On remarque avec facilité une meilleure immunofluorescence des protéines REP1 chez les souris infectées par notre vecteur, démontrant ainsi l'efficacité d'Emiperigene Maparvovec dans ce modèle.

4. Pharmacocinétique

Les études de pharmacocinétique permettent de rendre compte du devenir du médicament dans l'organisme : administration, distribution, métabolisation, élimination.

Les études de distribution ont été incluses comme composante des études générales de toxicité.

L'excrétion virale n'a pas été étudiée chez les animaux.

Le transgène codé par notre vecteur est considéré comme identique à la protéine REP1 humaine normale et devrait donc être métabolisée de la même manière que la protéine REP1 humaine normale.

5. Sécurité in vitro et in vivo d'AAV2.hCHM(1).

Pour étudier la sécurité in vitro et in vivo de notre vecteur, nous allons nous focaliser sur les études de toxicité court terme « in vitro » (a), de toxicité court terme « in vivo » (b), de toxicité long terme « in vivo » (c), de génotoxicité (d), de carcinogénicité (e), de reprotoxicité (f), de phototoxicité (g), de pharmacodépendance (h), d'écotoxicité (i) et enfin la réponse immunitaire (j).

a. Toxicité court terme « in vitro ».

La toxicité court terme a été menée sur les cellules CHO afin d'évaluer le taux d'apoptose induit par l'infection de ces cellules par notre vecteur à une dose 1^E5 ou 2^E5 vg/ml.

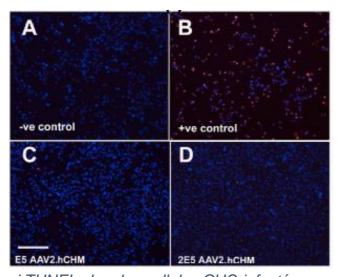


Figure 29 : Essai TUNEL chez les cellules CHO infectées par AAV2-hCHM(1)

Ces images nous montrent qu'aucune des deux doses injectées n'entraîne la mort cellulaire. Ceci est donc un indicateur encourageant quant à la non-toxicité du médicament.

b. Toxicité court terme « in vivo ».

De la même manière, la toxicité à court terme a été évaluée chez les souris infectées par notre vecteur et les résultats montrent un niveau bas d'apoptose des cellules de la rétine.

Le nombre de rangées de noyaux dans la couche nucléaire externe était similaire chez les souris traitées et témoins indiquant qu'il n'y a pas eu de changements dégénératifs à court terme dans les photorécepteurs résultant de la surexpression d'AAV2 h*CHM*.

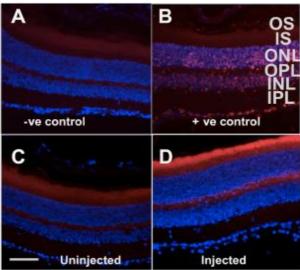


Figure 30 : Essai TUNEL sur les coupes rétiniennes de souris infectées par notre plasmide⁽¹⁾

c. Toxicité long-terme « in vivo ».

Pour cette étude, nous avons généré un deuxième vecteur : AAV2.CBA.GFP qui nous servira de contrôle. Ce vecteur a montré une certaine efficacité pour des traitements de pathologies de la rétine mais n'est cependant pas spécifique à la choroïdérémie.

Notre vecteur sera injecté dans le premier œil de notre modèle animal : une souris wild-type et le deuxième vecteur sera injecté dans l'autre œil.

Les données seront recueillies sur 6 mois et analysées par Electrorétinogramme (qui va analyser la réponse électrique de la rétine grâce à une stimulation lumineuse).

Les résultats ont été illustrés grâce aux graphiques suivants :

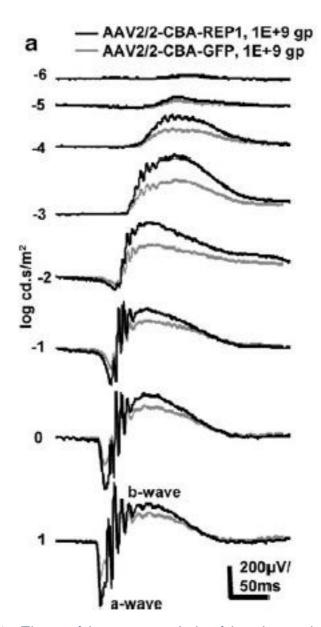


Figure 31 : Electrorétinogramme de la rétine de souris wild-type⁽¹⁾

Ligne noire = réponse de notre plasmide.

Ligne grise = réponse de AAV2.CBA.GFP.

On note dans un premier temps que la réponse de la rétine de souris à notre vecteur est plus importante qu'avec le vecteur contrôle.

La quantification de cette réponse nous confirme ces observations, comme nous le montre les graphiques ci-dessous :

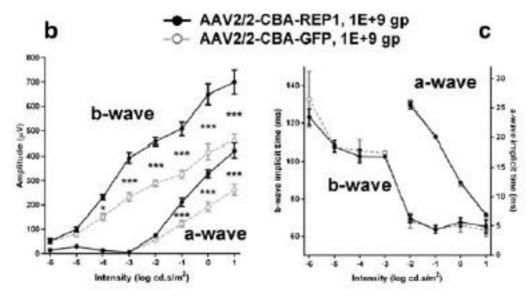


Figure 32 : Quantification de la réponse aux différents plasmides injectés dans les yeux de souris⁽¹⁾

Les tests menés n'ont montré aucune preuve d'altération évidente de la fonction rétinienne.

Ceci nous confirme donc qu'il n'existe pas de toxicité évidente sur la fonction rétinienne même si la protéine REP1 est surexprimée.

d. Génotoxicité

La **guideline ICHS6** nous indique que les études de toxicité classiques ne sont pas applicables aux produits issus de la biotechnologie et ne sont donc pas demandées. Par précaution, les sujets utilisent une méthode de contraception barrière pendant 3 mois après l'intervention

Des études particulières de génotoxicité doivent cependant être faites en présence d'éléments pouvant indiquer un potentiel génotoxique. Ce n'est pas le cas de notre produit.

Les études de génotoxicité n'ont donc pas été réalisées.

e. Carcinogénicité

La **guideline ICHS6** nous indique que les études de carcinogénicité standard ne sont pas appropriées pour les médicaments issus de la biotechnologie.

Une évaluation produit-spécifique du potentiel carcinogène peut être demandée en fonction de l'activité biologique et de la chronicité du traitement.

C'est la **guideline ICHS1A** qui va établir les conditions sous lesquelles les études de carcinogénicité sont demandées.

Concernant les médicaments administrés par voie oculaire, ces études ne sont requises que s'il existe une exposition systémique significative et des éléments en faveur d'un potentiel carcinogène.

Comme ce n'est pas le cas de notre produit, les études de carcinogénicité n'ont donc pas été réalisées.

f. Reprotoxicité

Notre produit ayant démontré une absence de passage systémique en injection subrétinienne à dose thérapeutique et supra-thérapeutique, les études de reprotoxicité n'ont pas été réalisées.

g. Phototoxicité

La guideline ICHS10 est relative à l'évaluation de la phototoxicité.

Notre produit n'est pas concerné par ces études du fait de son administration subrétinienne.

Les études de phototoxicité non cliniques n'ont donc pas été réalisées.

h. Pharmacodépendance

C'est la guideline européenne EMEA/CHMP/SWP/94227/2004 qui statue sur la nécessité des études sur l'éventuel risque de dépendance.

Notre produit n'a fourni aucun élément en faveur d'un tel risque que ce soit in vitro ou in vivo.

Comme il ne fait pas l'objet d'une auto-administration, il est donc pertinent de ne pas mener ces études de pharmacodépendance.

i. Ecotoxicité

Chororepair® est classé comme un organisme génétiquement modifié, encadré par la guideline « *Environmental risk assessments for medicinal products consisting of, or containing, genetically modified organisms (GMOs)* ».

Compte tenu de la complexité procédurale et scientifique de l'évaluation des risques environnementaux (ERA), nous demanderons une réunion avec l'EMA 6 mois à 1 an avant le dépôt de notre dossier.

A l'issue de cette réunion, nous avons pu suivre les 6 étapes requises suivantes pour notre ERA :

- Étape 1 : Identification des caractéristiques susceptibles de provoquer des effets néfastes.
- Étape 2 : Évaluation des conséquences potentielles de chaque effet néfaste, s'il se produit, et de l'ampleur de chaque conséquence identifiée.
- Étape 3 : Évaluation de la probabilité d'occurrence de chaque effet négatif potentiel identifié.
- Étape 4 : Estimation du risque posé par chaque caractéristique identifiée de notre produit.
- Étape 5. Application de stratégies de gestion des risques liés à la commercialisation de Chororepair®

• Étape 6. Détermination du risque global. La décision 2002/623/CE de la Commission a normalisé un système de classement utilisant les qualités "élevée", "modérée", "faible" et "négligeable" pour les estimations des conséquences et de leur ampleur, et les risques d'effets négatifs.

Les risques déterminés pour les caractéristiques d'Emirepigene Maparvovec ont été classés comme faibles ou négligeables et son risque global a été classé comme faible.

j. La réponse immunitaire.

Les premières études précliniques pour la thérapie génique oculaire n'ont pas prédit l'inflammation qui pourrait être observée chez plusieurs patients recevant une injection sous-rétinienne d'un vecteur AAV2.

Cependant, le manque de réponse immunitaire pour le transfert de gènes dans les zones oculaires était attendu, car la compartimentation est considérée comme une immunité privilégiée. Une explication potentielle de ce phénomène est que le sérotype de capside et les voies de livraison étudiées peuvent avoir contribué à masquer cette réponse.

Plus tard, les études ont montré qu'il n'y avait pas d'évidence d'infiltration inflammatoire dans les tissus de la rétine.

E.Conclusion.

En résumé, un vecteur AAV capable d'introduire une version fonctionnelle du gène REP-1 humain dans les cellules des patients atteints a été généré.

La transduction de REP-1 humain déficient dans ces cellules avec ce vecteur a fourni une expression stable de REP-1 fonctionnelle qui améliore non seulement le trafic des protéines Rab 27a accumulées mais prényle également les protéines.

L'expression de REP-1 n'a pas produit de cytotoxicité dans les cellules in vitro ou in vivo. Ces données fournissent les informations nécessaires pour aller de l'avant et développer un essai clinique humain sur la choroïdérémie.

II. La phase de développement clinique

Dans cette partie, nous allons développer le contexte réglementaire général des essais cliniques (A) pour ensuite introduire le déroulement d'un potentiel développement clinique de notre médicament (B). Comme les données scientifiques ne sont pas encore publiées à ce stade du développement de la thérapie génique que nous étudions, nous allons donc nous focaliser sur les requis réglementaires qu'une thérapie génique pour une pathologie orpheline doit remplir pour pouvoir prétendre à la mise en place d'essais cliniques.

A.Contexte réglementaire des essais cliniques

Toutes les études cliniques seront menées conformément aux réglementations, directives et **recommandations de l'ICH**, qui a pour objectif d'harmoniser les requis concernant la qualité (ICH Q), l'efficacité (ICH E), la sécurité (ICH S), les domaines multidisciplinaires (ICH M) des médicaments.

- Norme ICH E6 (R2) « Bonnes pratiques cliniques (BPC) »: Norme internationale de qualité éthique et scientifique pour la conception, la conduite, l'enregistrement et la notification des essais impliquant la participation de sujets humains.
- Norme ICH E8 « Considérations générales relatives aux études cliniques » : Principes et pratiques internationalement acceptés dans la conception et la réalisation d'études cliniques.
- Norme ICH E10 « Choix d'un groupe témoin et questions connexes dans le cadre des essais cliniques » : Principes généraux impliqués dans le choix d'un groupe témoin pour les essais cliniques visant à démontrer l'efficacité d'un traitement et à discuter des problèmes liés à la conception et à la conduite des essais
- Norme ICH E17 « Essais cliniques multirégionaux » : Principes généraux de la planification et de la conception des essais cliniques multirégionaux dans le but d'accroître leur acceptabilité dans les soumissions réglementaires mondiales.
- Norme ICH E18 « Echantillonnage génomique et la gestion des donnés génomiques » : Principes harmonisés d'échantillonnage génomique et gestion des données génomiques dans les études cliniques.

Le nouveau règlement européen 536/2014 portant sur les essais cliniques des médicaments^h remplacera la directive 2001/20/CE et sera pour notre cas pratique requise pour soumettre notre médicament aux autorités Européennes.

L'évolution majeure de ce règlement est la création du portail CTIS (Clinical Trial Information System), un point d'entrée unique pour les demandes et les autorisations d'essais cliniques de l'ensemble des 27 États membres de l'UE auxquels s'ajoutent Islande, Liechtenstein et Norvège, en tant que pays signataires du traité de l'Espace économique européen (EEE). Ce portail remplace Eudra-CT.

L'harmonisation des processus de soumission, évaluation et surveillance des essais cliniques menés au sein de l'UE et de l'EEE a pour objectifs principaux de faciliter l'accès des patients aux traitements, de renforcer l'attractivité de l'Europe en matière d'essais cliniques et d'augmenter la transparence et l'accès aux données issues de ces essais.

Le système d'information CTIS, mis en place par l'Agence européenne des médicaments (EMA) est accessible aux promoteurs industriels et institutionnels des 30 pays concernés, à leurs autorités sanitaires respectives ainsi qu'au grand public à travers trois espaces numériques distincts. C'est la Commission européenne qui est

-

^h adopté en mai 2014, entrant en vigueur le 31 janvier 2022

chargée de la bonne mise en application du nouveau règlement européen portant sur les essais cliniques.

Notre demande passera aussi entre les mains du Comité de Protection des Personnes (CPP) dont le rôle est d'émettre un avis préalable sur les conditions de validité de toute recherche impliquant la personne humaineⁱ. Si cet avis n'est pas positif, il ne sera pas possible de débuter les essais cliniques.

Il sera également demandé de respecter la **déclaration d'Helsinski**, qui énonce les principes éthiques applicables à la recherche médicale impliquant des êtres humains et les **bonnes pratiques de fabrication (BPF)** pour les médicaments expérimentaux qui seront utilisés durant les études cliniques.

• Cas particulier des Organismes Génétiquement Modifié (OGM)

Notre médicament est un médicament de thérapie génique (GMTP), et appartient donc aux médicaments de thérapie innovante (MTI). Il répond également aux définitions (mondiale, et européenne) des OGM. Nous avons donc l'obligation réglementaire de déclarer notre médicament comme un organisme modifié dans les pays où cette définition existe.

Dans le monde :

Le **Protocole de Cartagena** (accord international adopté le 29 janvier 2000) a pour but de prévenir les risques biotechnologiques liés à la manipulation, au transport et à l'utilisation, entre pays, d'organisme vivant modifié (OVM).

Ce texte définit un OVM comme étant un « organisme vivant possédant une combinaison de matériel génétique inédite obtenue par recours à la biotechnologie moderne ». La notion de biotechnologie moderne y est définie comme « l'application de techniques in vitro aux acides nucléiques, y compris la recombinaison de l'acide désoxyribonucléique (ADN) et l'introduction directe d'acides nucléiques dans des cellules ou organites [...] qui surmontent les barrières naturelles de la physiologie de la reproduction ou de la recombinaison et qui ne sont pas des techniques utilisées pour la reproduction et la sélection de type classique ». Cette définition est complétée par deux annexes.

- La première (Annexe I.A1) liste de façon non-exhaustive les techniques entrainant des modifications génétiques donnant des OGM (la recombinaison de l'ADN (dont la transgénèse), la micro-injection et la fusion cellulaire)
- La deuxième (Annexe I.A2) liste les techniques qui n'en entraînent pas, avec cette fois une liste fermée (la fécondation in vitro et les processus naturels tels que la conjugaison, la transduction, la transformation ou l'induction polyploïde).

En Europe:

La directive 2001/18 (EC) définit l'OGM comme « un organisme, à l'exception des êtres humains, dont le matériel génétique a été modifié d'une manière qui ne s'effectue

i au regard des critères définis par l'article L 1123-7 du Code de la Santé Publique (CSP)

pas naturellement par multiplication et/ou par recombinaison naturelle », entendant par organisme « toute entité biologique capable de se reproduire ou de transférer du matériel génétique ».

La directive 2001/18 (EC) dispose également que toute personne devrait adresser une notification à l'autorité nationale compétente avant de procéder à une dissémination volontaire d'un OGM dans l'environnement ou de mettre sur le marché un OGM en tant que produit ou élément de produits, si l'utilisation envisagée de ce produit implique sa dissémination volontaire dans l'environnement. De plus, une évaluation cas par cas des risques pour l'environnement devrait toujours être effectuée avant toute dissémination. Elle devrait également tenir dûment compte des effets cumulés potentiels à long terme liés à l'interaction avec d'autres OGM et avec l'environnement.

En tant que médicament de thérapie innovante (MTI), il faut également signaler qu'il devra suivre le **règlement européen (CE) n°1394/2007.**

• Classification du risque de notre OGM (cas de la France)

En France, où est basé notre laboratoire, l'ANSM requiert l'avis du Haut Conseil des Biotechnologies (HCB), qui vise à estimer le niveau de dangerosité de l'OGM objet de la recherche (estimer les risques pour la santé humaine et l'environnement). Il est chargé de définir la classe de risque de l'OGM, déterminer son niveau de confinement, et donner des agréments aux sites où il sera utilisé (par exemple les hôpitaux lors des essais cliniques).

Tableau 3 : Niveau de confinement pour chaque classe de risque défini par le HCB⁽²⁰⁾

le HCB. Containment level for each risk class as defined by the HCB.				
	Lieu de production	Lieu d'administration/maintien du patient ^b		
Classe C1	Laboratoire L1	TLı		
Classe C2	Laboratoire L2	TL2		
Classe C ₃	Laboratoire L3	TL3 (non envisageable, a priori) ^c		
Classe C4	Laboratoire L4	TL4 (non envisageable, a priori) ^c		
^a Lieu de produc préparés.	ction (L) : pharmacie ou la	OGM : organisme génétiquement modifié. boratoire agréé où les OGM-médicaments sont i patient (TL) : chambre hospitalière accuellant		

Le HCB classera certainement C2 le risque de l'OGM de notre médicament. Les lieux de production et de réalisation d'essai clinique devront donc être adaptés et agréés en conséquence :

- Laboratoire de niveau de confinement 2 pour les lieux de production
- Obtention d'un agrément LT2 pour les sites cliniques des essais.

B.Développement clinique de notre médicament

1. Développement clinique classique d'un médicament

Tableau 4 : Développement clinique classique d'un médicament

	Aòro a da la la la caracteria de la constanta della constanta della constanta della constanta della constanta
	1 ^{ère} administration du candidat médicament chez l'Homme.
Phase I	Pendant cette phase, la tolérance au médicament et sa
	pharmacocinétique sont évaluées sur un petit échantillon de sujets sains.
	1ère administration du candidat médicament au patient malade.
DI !!	Administration chez un petit nombre de volontaires atteints de la
Phase II	pathologie cible avec des critères d'inclusion très restreints. Lors de cette
	phase, on évalue l'efficacité pharmacologique : c'est l'étude pilote .
	Candidat médicament aux patients malades à plus grande échelle.
Phase III	Étude de la pharmacodynamie du médicament sur un nombre de patients
	plus importants en élargissant les critères d'inclusion afin de se
	rapprocher au maximum des conditions réelles. Cet essai permet de
	comparer notre candidat médicament à un autre déjà commercialisé et
	considéré comme référence. On obtient également des données
	d'efficacité plus approfondies et un rapport bénéfice/risque. Lors de cette
	phase, on détermine la posologie et on identifie d'éventuelles interactions
	médicamenteuses. C'est l'étude pivot qui conditionne l'obtention de
	l'AMM pour des médicaments classiques.
	Études post-AMM en vie réelle.
Phase IV	La balance bénéfice/risque est continuellement évaluée après la
	commercialisation car des données nouvelles apparaissent en conditions
	réelles d'utilisation avec tout ce que cela implique
	reciles a diffication avectout de que cela implique

2. Adaptation de nos études à une maladie orpheline

Notre médicament traite une maladie orpheline, ne touchant qu'une petite population d'individus. Les effectifs lors des essais cliniques seront en conséquence très réduits. En l'absence actuelle de traitement, l'utilisation d'un groupe de patients témoins pose problème pour des raisons éthiques. On n'utilisera de groupe témoin que lors des études de phase III (avec traitement des patients du groupe de contrôle dès la fin de l'essai clinique). En attendant, notre phase I/II et notre phase II devront utiliser les patients comme leur propre contrôle.

Notre médicament est également un médicament de thérapie génique, et ne peut donc pas être administré à des volontaires sains, nécessitant la non-réalisation d'une phase I standard. Notre phase I/II comprendra donc une première administration à un groupe de patients malades à une dose dite « faible » puis au reste des participants à une dose plus élevée recommandée.

a) Réalisation d'une phase I/II et donc la non-réalisation d'une phase I standard avec administration à des volontaires sains.

EMA/CAT/852602/2018 (Guideline on quality, non-clinical and clinical requirements for investigational advanced therapy medicinal products in clinical trials): « Les études sur les MTI sont souvent conçues en essais de phase I / II, combinant des caractéristiques de conception de la phase I et de la phase II. On peut citer en exemples des essais avec des GTMP chez des patients atteints de maladie monogénétique, où l'escalade de dose et la détermination d'une dose recommandée sont suivies d'une phase d'extension, pour inclure des patients supplémentaires au niveau de dose recommandé et pour explorer davantage l'efficacité du GTMP ».

ICH E8 « Considérations générales relatives aux études cliniques » : Selon cette guideline, « Les médicaments présentant une toxicité potentielle significative, par exemple les médicaments cytotoxiques, sont généralement étudiés chez des patients. », afin d'éviter des effets secondaires importants au volontaire sain.

b) Nombre restreint de participants dans nos essais cliniques

Pour les indications dans des maladies orphelines, le développement des essais cliniques doit tenir compte des principes énoncés dans la directive CHMP / EWP / 83561/2005 (directive sur les essais cliniques dans de petites populations).

c) <u>Utilisation des patients traités comme leur propre contrôle dans nos phases I/II et phase II</u>

D'après la directive **EMA/CAT/852602/2018** (directive sur les requis en qualité, en non clinique et en clinique pour les médicaments expérimentaux de thérapie innovante dans les essais cliniques) :

- Pour certaines indications, un traitement de comparaison peut ne pas être disponible ou bien il peut être contraire à l'éthique de mener un essai en utilisant un placebo comme comparateur.
- Dans les cas où les essais cliniques contrôlés randomisés ne sont pas réalisables, des alternatives (par exemple des données bien documentées ou l'utilisation des patients comme leur propre contrôle) peuvent être acceptables si elles sont justifiées de manière appropriée.
- Pour certains MTI, un contrôle intra-sujet pourrait être une approche utile.

Partie IV. Plan d'Investigation Pédiatrique

Dans cette partie, nous allons développer ce qu'est un plan d'investigation pédiatrique (PIP) et essayer de comprendre en quoi consisteraient les études que nous pourrions mener dans le cadre du développement de notre médicament.

Nous allons donc dans un premier temps nous focaliser sur le cas de notre médicament (A) pour ensuite parler du PIP en Europe (B) et du Paediatric Study Plan (PSP) aux États Unis.

A.Cas de notre médicament

La choroïdérémie est une pathologie qui évolue lentement et qui apparaît la plupart du temps vers l'adolescence.

Les études précliniques sur les populations pédiatriques sont limitées. Le diagnostic de la maladie est difficile et se fait le plus souvent tardivement. La choroïdérémie présente sensiblement la même symptomatologie chez l'adulte et chez l'adolescent car elle évolue sur plusieurs dizaines d'années.

B.Le PIP en Europe

En Europe, le PIP doit être présenté à l'EMA. Nous allons donc développer dans cette partie ce que dit la réglementation européenne à son sujet (1), à quoi pourrait ressembler le PIP de notre potentiel médicament (2) et enfin comment soumettre ce PIP aux autorités européennes (3).

1. Ce que dit la réglementation.

Cette partie va se focaliser sur la définition d'un plan d'investigation pédiatrique (a), sur les dérogations qui peuvent être délivrées (b), sur le comité pédiatrique de l'EMA ou PDCO (c) et enfin sur les modalités de soumission d'un PIP (d).

a. Définition

Un PIP⁽²¹⁾ est un plan de développement visant à s'assurer que les données nécessaires sont obtenues par des études chez l'enfant, pour appuyer l'autorisation d'un médicament dans la population pédiatrique.

Toutes les demandes d'AMM de nouveaux médicaments doivent inclure les résultats des études décrites dans un PIP convenu, sauf si le médicament est exempté en raison d'un report (deferral) ou d'une dérogation (waiver).

Cette exigence s'applique également lorsqu'un titulaire d'AMM souhaite ajouter une nouvelle indication, forme pharmaceutique ou voie d'administration pour un médicament déjà autorisé et couvert par des droits de propriété intellectuelle.

En bref, le PIP:

- Inclut une description des mesures à prendre chez les enfants avec le médicament;
- Décrit les mesures d'adaptation de la formulation du médicament pour rendre son utilisation plus acceptable chez les enfants, comme l'utilisation d'une formulation liquide plutôt que des comprimés;
- Couvre les besoins de tous les groupes d'âge des enfants, de la naissance à l'adolescence;
- Définit le calendrier des mesures chez les enfants par rapport aux adultes.

La soumission de ce PIP doit être faite auprès du *Paediatic Committee* (PDCO) avant tout demande d'AMM. Celui-ci va fournir une opinion que l'entreprise devra fournir dans le module 1 du *Common Technical Document* (CTD) lors de sa demande d'AMM.

Le plan de développement d'un médicament peut être modifié ultérieurement à mesure que les connaissances augmentent. Des modifications peuvent également être apportées si le demandeur rencontre des difficultés avec la mise en œuvre d'un PIP, qui le rendent impraticable ou plus approprié. Les candidats doivent s'adresser au PDCO pour ces modifications.

L'Agence élabore également des PIP standard pour aider les demandeurs à obtenir l'accord pour des PIP sur des types ou des classes spécifiques de médicaments. L'adhésion aux principes et aux principaux éléments contraignants contenus dans un PIP standard facilitera le processus d'approbation du PIP.

La réalisation du PIP est obligatoire pour obtenir l'AMM de nouveaux produits, de produits possédant déjà un brevet et étant déjà autorisé, et évidemment pour les produits orphelins.

Il est important de savoir qu'il n'est pas obligatoire pour les produits ne possédant pas de brevet (la plupart du temps, il s'agit de médicaments anciens), et pour les produits suivants :

- Génériques,
- Produits hybrides,
- Biosimilaires,
- Produits dont l'utilisation est bien établie.
- Homéopathie.
- Herbes médicinales.

Ces produits sont définis dans les articles 10 et 10(a) de la directive 2001/83/CE.

b. Dérogations

Si le laboratoire pharmaceutique a des arguments scientifiques et/ou techniques étayant le report des essais cliniques chez l'enfant, le PDCO peut accorder un « deferal ».

Celui-ci va permettre de réaliser les essais cliniques après la demande d'AMM chez l'adulte. Le PDCO suivra cependant la réalisation de ces essais cliniques pour s'assurer qu'ils soient effectivement réalisés.

Une autre solution peut être accordé au laboratoire : le « waiver ». C'est une dérogation qui permet au demandeur de ne pas réaliser de PIP chez l'enfant.

Il en existe deux types:

- Le waiver total : qui s'applique à toutes les tranches d'âge.
- Le waiver partiel : qui s'applique à certaines tranches d'âge.

Ce « waiver » peut être accordé pour différentes raisons :

- Le manque de bénéfice thérapeutique significatif.
- Le fait que la pathologie ne touche pas la population pédiatrique.
- Le fait que le médicament soit indiqué dans une certaine classe thérapeutique.

c. Le PDCO

Le PDCO fait partie intégrante de l'EMA depuis 2007.

C'est un organisme composé :

- D'experts faisant partie des autorités nationales compétentes de l'Union Européenne et de l'Espace Economique Européen,
- De membres du CHMP.
- De représentants de patients.
- De professionnels de santé.

Ce comité va donc veiller au respect de la réglementation pédiatrique. Ses missions sont les suivantes :

- Veiller au respect de l'application du PIP adopté.
- Répondre aux questions sur les médicaments pédiatriques sur demande du directeur exécutif de l'EMA ou de la Commission Européenne.
- Évaluer le contenu du PIP et répondre positivement ou non aux demandes de « waiver » / « deferal ».

Il est important de se rappeler que le PDCO ne va pas évaluer lui-même les produits à usage pédiatrique. Cette tâche est réalisée par le CHMP.

Ce dernier peut cependant éventuellement demander une opinion du PDCO concernant la qualité, la sécurité et l'efficacité d'un des produits qu'il évalue.

d. La soumission du PIP

Le PIP Européen doit être soumis dès le début de la phase II des essais cliniques chez l'adulte. Le PDCO va donner son opinion et proposer des modifications de ce contenu en fonction des nouvelles connaissances et données qui seront apportées tout au long des essais cliniques chez l'adulte.

Lors de la soumission de la demande d'AMM, il faut fournir les informations suivantes :

- Les résultats des études de PIP. Le PIP compliance check devra être réalisé avant la soumission par le PDCO qui s'assurera que toutes les études ont été réalisées et que les mesures ont été prises en concordance avec le PIP.
- Le « waiver » si le demandeur est exempté de ces études.
- Le « deferal » si le demandeur a demandé un report.

2. Notre PIP

Dans le contexte de notre produit, nous pourrions demander un « waiver », c'est-à-dire une possibilité d'exemption des études dans certaines tranches d'âge pour se concentrer sur l'adolescent (tranche d'âge à laquelle la choroïdérémie se déclare).

Nous pourrions donc réaliser notre PIP sur la population pédiatrique de 14 à 18 ans. La symptomatologie clinique est sensiblement la même que chez l'adulte, car la choroïdérémie est une pathologie qui se développe lentement.

La population cible étant restreinte (du fait qu'il s'agit d'une maladie orpheline), il semble plus judicieux de réaliser une étude de PIP une fois les données chez les patients adultes bien établies.

L'étude que nous pourrions réaliser est la suivante :

Tableau 5 : Design de l'étude PIP

Design de l'étude	 Etude ouverte Unicentrique Non-randomisée Tous les patients (volontaires malades) reçoivent le même traitement (AAV2-REP1) dans un œil, l'autre servant de contrôle.
Nombre de patients	 14 patients de sexe masculin, recevant une injection unique dans l'espace sub-rétinien de 0,1 mL de suspension. Bras 1 : « Faible dose » (6 : L1-5 + C1) : 1 ère administration chez l'homme 1× 10¹º particules de génome d'AAV2-REP1 Bras 2 : « Haute dose » (8 : H1-7 + C2) : 1 x 10 11 particules de génome d'AAV2-REP1
Critère de jugement	Meilleure Acuité Visuelle Corrigée (à 6 mois)

principal	
Critères de jugement secondaires	 Micropérimétrie, OCT, autofluorescence du fond d'œil (à 24mois) Corrélation fonction-structure en marge de la dégénérescence rétinienne
Critères d'inclusion	 Participant ainsi que son représentant légal aptes et disposés à donner son consentement éclairé pour participer à l'étude, Garçon âgé de 14 à 18 ans, Choroïdérémie diagnostiquée, et bonne santé générale. La maladie est déclarée et des modifications de la région de la Macula sont observables en ophtalmoscopie laser à balayage (SLO) Participant ainsi que son représentant légal disposés à informer son médecin généraliste de sa participation l'étude, Vision d'au moins 6/60 ou mieux dans l'œil étudié.

Pour réaliser ces études, nous devrons adapter la formulation de notre médicament mais nous garderons l'administration intra-vitréale car c'est l'administration la plus pertinente et efficace.

Le recrutement des patients étant délicat au vue de la tranche d'âge et de l'épidémiologie de la maladie, nous demandons également un « deferal » (ou un report de ces études) pour ne pas retarder la mise sur le marché de notre produit.

Afin d'étayer notre argumentation, nous avançons que des données plus complètes sur la sécurité et l'efficacité de notre médicament à long terme chez l'adulte seront bénéfiques à la réalisation de ces essais chez l'adolescent.

3. La soumission du PIP

Le PIP serait soumis au PDCO dès le début de la phase II des essais cliniques.

Dans un premier temps, il faudra établir une « letter of intent » un mois avant la soumission pour expliquer notre intention de soumettre un PIP à l'EMA.

Pour accéder à notre évaluation de PIP, un rapporteur et un « Peer reviewer » du PDCO seront désignés. Une première phase d'évaluation de 60 jours permettra au PDCO d'évaluer le PIP et de proposer d'éventuelles modifications à apporter. Comme notre médicament est le premier à traiter la pathologie que nous étudions, le PDCO nous demandera de prendre en compte les données disponibles sur Luxturna® afin d'avoir une première idée des résultats que nous pourrions obtenir.

Après cette première évaluation, une période de 3 mois sera accordée pour apporter des modifications dans le but de passer à la deuxième phase d'évaluation de 60 jours.

Après ce délai, notre PIP recevra ou non une opinion positive du PDCO et l'EMA confirmera cette opinion pour accepter le PIP. Le recrutement débutera dès l'accord de l'EMA.

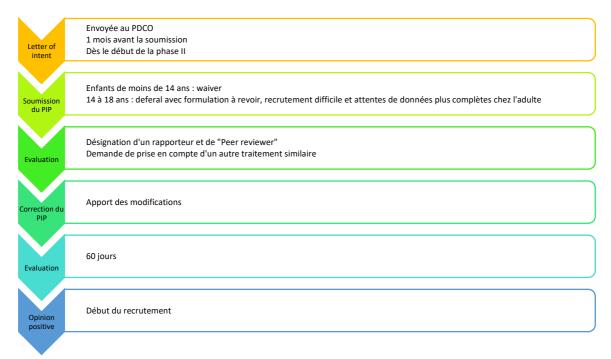


Figure 33 : Procédure d'approbation du PIP en Europe

C.Le PSP aux États-Unis

Nous allons maintenant nous concentrer sur ce qu'est un Paediatric Study Plan (PSP), équivalent de notre PIP européen aux États-Unis en rappelant la réglementation relative à ces études (1) et le déroulement de la potentielle soumission d'un PSP pour notre médicament (2).

1. Ce que dit la réglementation

L'équivalent du PIP aux États-Unis est appelé « Peadiatric Study Plan » (PSP)⁽²²⁾. Il est réglementé par deux notions :

- Le « Best Pharmaceuticals for Children Act » (BPCA): Basé sur le volontariat avec des récompenses accordées par la FDA comme une extension d'exclusivité de marché de 6 mois. Le BPCA autorise la réalisation d'essais cliniques chez l'enfant dans d'autres indications que celle de l'adulte.
- Le « Paediatric Research Equity Act » (PREA): Il fait des essais sur l'enfant un requis obligatoire, exception faite du « waiver » et du « deferal » (comme pour l'EMA). Les études chez l'enfant doivent être réalisées pour les mêmes indications que chez l'adulte. De même, les données sur l'enfant doivent être présentées au moment de la soumission de l'AMM.

2. La soumission du PSP

Même si la désignation orpheline dans le traitement de la choroïdérémie est accordée, nous ne serions pas exemptés de réaliser un PSP dans le cadre du PREA.

Comme pour l'Europe, nous avons demandé un « waiver » pour les enfants de moins de 14 ans et un deferal pour réaliser des essais pédiatriques sur des enfants de 14 à 21 ans.

Nous soumettrons notre PSP dans les 60 jours après la réunion de la fin de la phase II (comme requis dans la guideline « Peadiatric Study Plan »).

Notre PSP comprend des objectifs, un design, une population et des critères de jugement des études réalisées (qui sont les mêmes que celles qui seront faites pour les autorités européennes).

Le « waiver » et le « deferal » ont été accepté par la FDA.

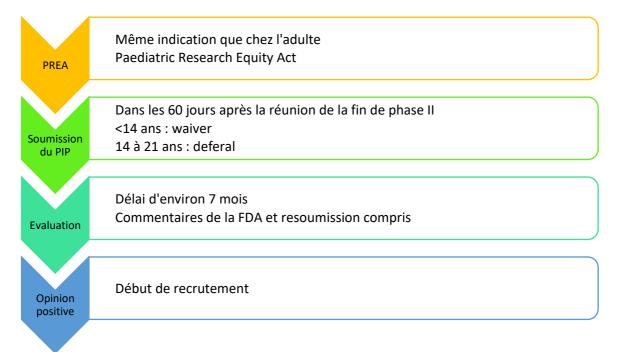


Figure 34 : Procédure d'approbation du PSP aux États-Unis

Partie V. Stratégie d'enregistrement globale

Dans cette partie finale, nous allons focaliser nos efforts sur la stratégie d'enregistrement globale et sur tout ce qu'elle implique pour notre potentiel médicament. Pour ce faire, nous allons nous concentrer sur la désignation orpheline (A), sur l'analyse du marché en vue d'un potentiel enregistrement de nos thérapies (B) et enfin sur l'enregistrement de notre thérapie dans les zones géographiques qui nous intéressent (C).

A. La désignation orpheline

Pour préciser ce qu'est la désignation orpheline, nous allons tout d'abord nous intéresser à ce qu'est une maladie orpheline en général (1), pour ensuite développer ce qu'est un médicament orphelin en Europe (2), aux États-Unis (3) et dans le reste du monde (4).

1. Généralités

La choroïdérémie est une maladie rare. La définition de maladie rare varie selon la réglementation de chaque pays.

Tableau 6 : Définition d'une maladie rare selon les régions du monde

Région	Prévalence de la maladie
Europe, Suisse, Australie, Canada	< 5 / 10 000
Etats-Unis	< 200 000
Japon	< 50 000
Brésil, Russie	< 1 / 10 000
Taiwan	< 1 / 10 000 + origine génétique + difficile à diagnostiquer et traiter
Inde	< 72,6 millions

Les laboratoires pharmaceutiques rencontrent des difficultés pour commercialiser les médicaments orphelins. Le coût et la complexité du développement sont très élevés. Les essais cliniques sont longs du fait de la difficulté de recruter un nombre suffisant de patients et des connaissances limitées de la maladie.

Le faible nombre de patients à traiter induit une rentabilité faible du médicament et ne permet pas nécessairement de compenser les coûts engendrés par son développement.

Les patients n'ont donc pas accès à des thérapies spécifiques et sont traités la plupart du temps de manière symptomatique.

Les agences sont sensibilisées à cette problématique et ont créé des programmes ayant pour objectif d'inciter les laboratoires au développement de produits orphelins. Des réglementations sont apparues dans les différentes régions du monde :

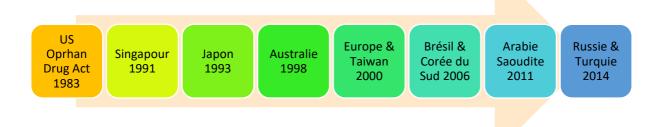


Figure 35 : Chronologie de la mise en place de la réglementation des médicaments orphelins dans le monde

Le but de la mise en place de ces réglementations et de ces programmes est d'inciter les laboratoires pharmaceutiques à développer des médicaments orphelins et de combler un besoin médical.

Différents types d'incitations ont été proposées comme l'allongement de l'exclusivité de marché ou même la suppression de certaines redevances appelées « fees ».

Pour développer un médicament orphelin, il est nécessaire d'obtenir une « désignation orpheline ». Celle-ci va permettre au médicament d'obtenir le « statut de médicament orphelin » pour une indication orpheline particulière.

Le médicament intégrera un programme ou sera attaché à un certain nombre d'avantages / de récompenses pour le laboratoire.

2. Médicaments orphelins en Europe

Pour étudier ce qu'est un médicament orphelin en Europe, nous allons examiner le contexte réglementaire qui régit cette désignation (a) pour ensuite voir les programmes que propose l'EMA (b). Nous nous focaliserons ensuite sur le processus de désignation et de décision par la Commission Européenne dans le cas de notre produit (c) ainsi que sur la Reconnaissance mutuelle en Suisse (d).

a. Contexte réglementaire

C'est le **Règlement CE** n°141/2000 du parlement européen et du comité des médicaments orphelins du 16 décembre 1999 qui encadre les médicaments orphelins.

D'autres réglementations ont ensuite suivi :

- N°847/2000.
- N°726/2004.
- N°507/2006.
- N°1901/2006.
- N°2049/2005.

Ces règlements prévoient des incitations afin de développer un médicament orphelin dont le soutien spécifique pour des moyennes et petites entreprises tout au long du développement jusqu'à l'obtention de l'AMM voire même après.

Il existe d'autre types de gratification :

- Lors du développement : Éligibilité pour un protocole d'assistance, aide financière, gratifications comme la « désignation orpheline ».
- Pendant la demande d'AMM: Evaluation accélérée pour une mise sur le marché plus rapide.
- En post-AMM: Exclusivité de marché de 10 ans pouvant être renouvelable pour une période de 2 ans, si un PIP e a été réalisé.

b. Les programmes proposés par l'EMA.

La désignation orpheline(23).

La désignation orpheline fait l'objet d'une demande auprès de l'EMA, elle peut être faite à n'importe quel moment du développement du médicament mais doit impérativement se faire avant la demande d'AMM.

Certaines données préliminaires de préclinique et de clinique sont demandées et le médicament doit remplir 3 critères :

- Il doit être destiné au diagnostic, à la prévention ou au traitement d'une affection entraînant une menace du pronostic vital ou une invalidité chronique.
- La prévalence de la maladie pour laquelle le médicament est indiqué doit être inférieure à 5 cas sur 10 000 en Europe au moment de la demande.
- Il n'existe aucune méthode satisfaisante de diagnostic, prévention ou traitement de la maladie, ou si une telle méthode existe, le médicament doit présenter un bénéfice significatif.

La composante qui évaluera la demande est le **Committee for Orphan Medicinal Product (COMP)**. Il est composé d'experts et l'évaluation a une durée de 90 jours à compter de la validation de la demande.

Une fois cette évaluation faite, l'EMA envoie l'opinion du COMP à la Commission Européenne qui prendra la décision finale dans les 30 jours.

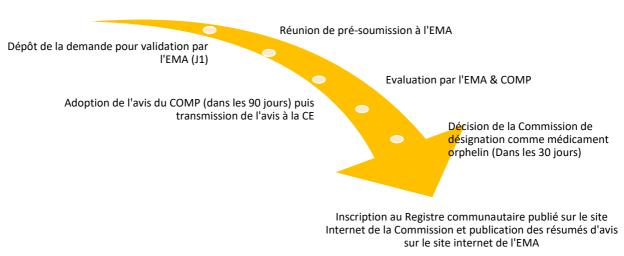


Figure 36 : Procédure de désignation des médicaments orphelins en Europe

Avec l'obtention d'une **Orphan Drug Designation (ODD)** vient un certain nombre de gratifications.

- Le sponsor bénéficie d'une assistance de protocole : une forme spéciale d'avis scientifique.
- Le sponsor bénéficie de conseils sur le développement du médicament à n'importe quel stade du développement et de réponses à diverses questions relatives à l'autorisation d'un médicament orphelin.
- Une exclusivité du marché de 10 ans, renouvelable pour une période de 2 ans si un PIP est réalisé avant la demande d'AMM. L'EMA n'acceptera aucune autre demande d'AMM relative à cette pathologie sauf si une preuve de supériorité clinique est apportée par le demandeur.
- Éligibilité à une AMM conditionnelle, valable 1 an et renouvelable.

Le détenteur de l'ODD est tenu de fournir tous les ans un rapport annuel à l'EMA. Il décrit l'évolution des études cliniques et toutes les informations concernant le Médicament et son développement qui pourraient avoir un impact sur l'ODD.

Il est important de noter que l'ODD peut être retirée à tout moment par l'autorité compétente.

La désignation orpheline sera réévaluée au moment de la demande d'AMM.

PRIME⁽²⁴⁾

Le **PRI**ority **ME**dicines ou PRIME est un programme mis en place par l'EMA qui permet d'inciter au développement de médicaments pour des besoins médicaux non couverts. Il est basé sur une interaction entre le laboratoire et l'EMA plus avantageuse ainsi qu'un dialogue plus précoce.

L'obtention d'un PRIME permet une optimisation des plans de développement ainsi qu'une accélération de l'évaluation du médicament.

L'EMA apporte une aide relative au design des essais cliniques et des avis scientifiques tout au long du développement.

Un médicament pourra prétendre au PRIME s'il prouve un bénéfice potentiel pour des patients atteints d'une pathologie pour laquelle il n'existe pas de traitement approprié, et ce en fournissant des données préliminaires cliniques.

Dans le cas où un médicament bénéficie du programme PRIME, un rapporteur du CHMP ou du CAT (Committee on Advanced Therapies) sera désigné pour fournir une aide pour la construction du dossier d'AMM.

L'EMA organisera un meeting avec le rapporteur ainsi qu'un groupe d'experts multidisciplinaires dans un but de conseiller le développeur sur la stratégie de développement et réglementaire.

c. Processus de désignation et décision de la Commission Européenne dans le cas de notre produit.

Pour notre produit, nous pourrions choisir de faire une demande de désignation orpheline et de PRIME.

Comme il est le seul traitement disponible dans la choroïdérémie, cette demande pourrait être légitime.

La demande de désignation orpheline

Pour notre demande de désignation orpheline, notre produit remplit les critères d'éligibilité suivants :

- Destiné au traitement d'une affection entraînant une menace du pronostic vital ou d'une invalidité chronique : La choroïdérémie est en effet une pathologie chronique menant à terme à la cécité.
- La prévalence est inférieure à 5/10 000 cas.
- Il n'existe aucune méthode satisfaisante de diagnostic, de prévention ou de traitement de la maladie.

La demande d'ODD pourrait se faire après l'obtention des résultats de la phase I. Comme celle-ci doit être réalisée à des moments précis de l'année, il faut être attentif aux dates mensuelles limites fixées par l'EMA.

Cette demande doit être faite via le portail de l'EMA IRIS.

Nous demanderons donc une réunion de pré-soumission à l'EMA (2 mois avant la soumission de la demande) pour présenter notre projet, l'objet de notre demande et la description de notre produit :

- Substance active.
- Mécanisme d'action.
- Données générées en préclinique et phase I
- Description de la pathologie.

Nous informerons également l'EMA de notre volonté de soumettre une demande d'ODD dans d'autres zones géographique (Etats-Unis).

A l'issue de cette réunion de pré-soumission, nous recevrons (ou non) un avis positif nous confortant dans l'idée de faire cette demande de désignation orpheline.

Après avoir soumis notre demande dans les délais, la procédure d'évaluation par le COMP commencera 30 jours plus tard.

Au 60^{ème} jour d'évaluation, nous serons questionnés sur le mécanisme d'action de notre produit et son réel bénéfice dans la choroïdérémie et nous donnerons des informations supplémentaires sur ces points.

Au bout des 90 jours, le COMP a apportera une opinion positive (ou négative) à notre demande d'ODD. Cette dernière sera confirmée par la Commission Européenne et notre désignation orpheline sera publiée par l'EMA.

La demande de PRIME.

Pour notre demande de PRIME, notre produit répond bien à un besoin médical non couvert. En effet, les patients atteints de choroïdérémie ne bénéficient pour le moment pas de thérapies traitant la cause de la pathologie.

Nous soumettrons donc notre demande et nous la justifierons grâce à des données d'épidémiologie et au fait que des traitements sont inexistants.

L'examen des demandes d'éligibilité PRIME sera effectué par le biais du **Specific Advice Working Party (SAWP)**, avec des recommandations transmises au CHMP pour adoption finale.

En cas de médicaments de thérapie innovante (ATMP), le comité des thérapies innovantes (CAT) examinera également les demandes et fournira ses recommandations au CHMP.

Un examinateur du SWAT et un responsable scientifique de l'EMA seront nommés pour examiner chaque demande d'admissibilité. En cas d'ATMP, un réviseur CAT est également nommé.

À la réception de la demande, un examinateur du SWAP et un responsable scientifique de l'EMA seront nommés pour la procédure à suivre conformément aux horaires publiés, comme suit :

Jour 1 : Début de la procédure d'évaluation de notre demande (réunion SAWP 1).

- Jour 30 : Discussion et recommandation lors de la plénière du SAWP (réunion SAWP 2).
- Jour 40 : La recommandation finale du CHMP est adoptée lors de la réunion plénière.

Le résultat, y compris les raisons qui ont conduit à la décision du CHMP, seront envoyés par l'EMA au demandeur.

Lorsque l'accès au système est recommandé par le CHMP, l'éligibilité à la procédure centralisée pourra également être confirmée en même temps.

Nous aurons ainsi un soutien fourni par le biais du programme qui sera adapté pour répondre à nos besoins à différents stades de développement et jusqu'à la présentation de la demande d'AMM.

d. La reconnaissance mutuelle en Suisse

Nous souhaitons également enregistrer notre produit en Suisse afin de couvrir au maximum la région européenne.

La prévalence de la maladie rare en Suisse est inférieure à 5/10 000.

En 2015, l'EMA, la FDA, la Commission Européenne et SwissMedic (autorité de santé Suisse) ont signé un accord confidentiel qui concerne, entre autres, les médicaments orphelins.

Il est possible de prétendre à une désignation orpheline via une reconnaissance mutuelle de la désignation orpheline obtenue en Europe.

Elle nous exemptera de toute redevance lors de la demande d'AMM. Nous sommes également éligibles à une exclusivité de marché de 15 ans. Il faudra toutefois en faire la demande lors de la soumission d'AMM.

Si le statut de médicament orphelin est retiré en Europe, il faudra informer Swissmedic.

3. Médicaments orphelins aux Etats-Unis.

Nous allons maintenant développer ce qu'est un médicament orphelins aux États Unis en nous focalisant sur le contexte réglementaire de ce statut (a), et sur le processus de développement que nous pourrions emprunter (b).

a. Contexte réglementaire

Les médicaments orphelins sont régis par l'Orphan Drug Act.

L'obtention de la désignation permet au laboratoire d'avoir accès à certains avantages⁽²⁵⁾:

• Eligibilité pour des gratifications spécifiques : comme des procédures d'enregistrement accélérées (Fast Track Designation, Priority Review, Breakthrough Therapy, Accelerated Approval)

- Réduction des frais de développement : 50% de réduction sur des crédits d'impôts des essais cliniques, réduction sur la demande d'AMM.
- Un « waiver » concernant le PSP soumis à la réglementation du PREA.
- Une exclusivité commerciale de 7 ans à partir de l'obtention de l'AMM.
- La mise à disposition du produit avant l'obtention de l'AMM (ou usage compassionnel).

Il y a différentes conditions à remplir pour pouvoir accéder à cette désignation :

- Prévalence : < 200 000 aux Etats-Unis.
- Si la prévalence est supérieure, le médicament n'est pas rentable suivant l'obtention de l'AMM (les dépenses relatives au médicament sont supérieures au profit réalisé).
- Si un médicament est déjà approuvé dans la même indication, une supériorité clinique du médicament candidat est prouvée.

L'organisme qui est responsable de l'évaluation de la demande d'ODD est **l'Office of Orphan Products Development (l'OOPD)**.

Un laboratoire étranger qui veut soumettre une demande de désignation orpheline aux États-Unis ou qui veut prétendre à tout autre procédure réglementaire doit être représenté par un agent.

Cet agent, résident permanent aux États-Unis, effectue la demande qu'il aura luimême signé au nom du laboratoire.

Une fois la demande effectuée, le laboratoire reçoit un accusé de réception qui va témoigner du début de l'évaluation par l'OOPD.

Un numéro est assigné à la demande et est intégré dans la base de données de l'organisme. Une lettre est envoyée au sponsor ou à son agent.

Un « reviewer » est assigné à la demande et va aider à l'évaluation. Ce dernier va donner une opinion qui sera transmise au directeur de l'Orphan Drug Designation Program et une seconde évaluation va être faite.

Après cette seconde évaluation, une lettre contenant le verdict sera envoyée au sponsor. Elle sera de différents types :

- Une « designation letter » : le médicament obtient l'ODD.
- Une « **deficiency letter** » : il faudra envoyer des informations complémentaires à la FDA.
- Une « denial letter » : la désignation orpheline est refusée.

b. Processus de désignation

La choroïdérémie est considérée comme une maladie orpheline aux Etats-Unis.

Concernant notre médicament, nous ferons le choix de soumettre une demande de désignation orpheline comme il s'agit du seul traitement disponible dans la choroïdérémie.

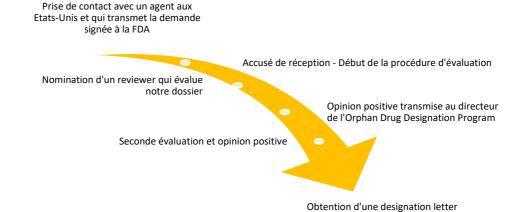


Figure 37 : Procédure d'obtention de l'ODD pour notre médicament aux Etats-Unis.

Grâce aux données transmises à la FDA et à la situation de notre molécule dans le contexte de la choroïdérémie, la désignation orpheline nous sera certainement accordée et nous pourrons donc prétendre aux différents avantages proposés par la FDA.

B. Analyse de marché

Nous avons décidé de baser notre stratégie d'enregistrement sur deux critères :

- La prévalence de la choroïdérémie dans le monde.
- L'état d'avancement des réglementations dans les différents pays visés.

Nous avons donc prévu d'enregistrer notre produit dans les pays qui ont recensés des patients souffrant de cette pathologie.

En ce qui concerne l'ordre des pays dans lesquels nous allons enregistrer, nous avons décidé d'enregistrer dans les pays où la réglementation sur les médicaments orphelins sont les mieux établies : Europe et États-Unis.

C. Enregistrement global de notre potentiel médicament.

Comme nous l'avons annoncé précédemment, il serait judicieux d'enregistrer dans un premier temps dans les régions où les réglementations autour du médicament orphelin sont les mieux établies et qui ont du poids dans le domaine de la réglementation du médicament avant d'envisager, ultérieurement, d'étendre ces enregistrements à d'autres régions du monde. Nous nous focaliserons dont sur l'Europe (1) et les États-Unis (2).

1. Enregistrement en Union Européenne

Nous demanderons dans un premier temps la désignation orpheline en Europe après nos études de phase I.

Cette désignation nous donne accès aux avantages suivants :

- Obtention de crédits en faveur de la recherche et du développement de notre produit.
- Accès à la procédure centralisée.
- Exonération des redevances.
- Assistance pour l'élaboration des protocoles.
- Exclusivité de marché pendant 12 ans (due au dépôt du PIP).

Nous avons donc fait une demande de procédure centralisée.

Cette procédure va nécessiter que nous nous rendions à une réunion d'assistance à l'élaboration des protocoles (a) pour ensuite entrer en phase de pré-soumission (b), en phase de soumission de notre dossier (c) et enfin à l'évaluation concrète de notre médicament (d).

a. Réunion d'assistance à l'élaboration des protocoles.

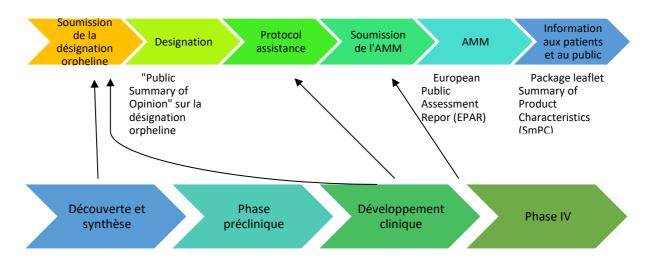
Nous avons donc assisté à une réunion appelée « Protocol assistance ».

Partant du principe que notre médicament a reçu la désignation orpheline, nous accéderons à une réduction des redevances de cette « Protocol Assistance » de 100%.

Nous aurons donc accès à un certain nombre de conseils scientifiques pour optimiser notre développement et des conseils sur la stratégie de développement et les enjeux scientifiques. Tout ceci nous aiguillera sur la préparation de notre dossier de demande d'AMM au niveau des modules de qualité, préclinique, clinique et le suivi de notre produit au long terme.

Cette réunion nous permettra d'optimiser nos chances d'obtenir une AMM et d'avoir une vision plus claire sur l'organisation de notre procédure d'enregistrement :

EMA



SPONSOR

Figure 38 : Étape de la procédure européenne d'enregistrement pour un médicament orphelin

b. Phase de pré-soumission

Au début de la phase de pré-soumission, nous assisterons à une réunion de présoumission. Les documents suivant nous serons demandés :

- La demande d'éligibilité que nous avons effectuée 8 mois avant la soumission de notre dossier.
- Le formulaire de demande d'une réunion de pré-soumission.
- Nous ferons valider notre nom « Chororepair® » par le Groupe de Revue des Noms inventés (Name Review Group – NRG).

Sept mois avant la soumission de notre demande d'AMM, nous notifierons à l'EMA notre souhait de leur soumettre notre candidature.

Nous avons également précisé le mois prévu pour cette soumission.

Nous soumettrons une demande de désignation des rapporteurs, choisis par le CHMP en fonction de leurs expertises scientifiques mais aussi de leurs ressources disponibles. Ils effectueront l'évaluation scientifique de notre dossier, prépareront le rapport et nous clarifieront certaines questions pour ensuite discuter des réponses que nous leur apporterons.

Nous assisterons donc à une réunion de pré-soumission avec l'EMA à Amsterdam. Plusieurs thèmes y seront abordés :

- La qualité.
- Les données non-cliniques et cliniques.
- La pédiatrie.
- Le médicament orphelin.
- La pharmacovigilance et le plan de gestion de risque.

- Le réglementaire.
- La transparence.
- L'administratif.

Cette réunion nous permettra de commencer à interagir avec le manager du processus de l'EMA et le responsable de notre produit dans le but de présenter le dossier et de discuter des spécificités de celui-ci.

Nous assisterons également à une réunion de pré-soumission avec nos rapporteurs. Lors de cette réunion, nous présenterons notre dossier et évoquerons nos données scientifiques obtenues, ce que nous comptons mettre en place pour les études post-commercialisation, le plan de gestion de risque et notre étiquetage.

Cette réunion leur servira aussi à vérifier que notre PIP est bien conforme.

c. Soumission du dossier

Nous soumettrons donc une demande d'AMM et notre intention de passer par une procédure centralisée pour Chororepair® dans le traitement de la choroïdérémie.

Pour rappel, la procédure centralisée concerne les médicaments destinés à tous les États membres. L'AMM est délivrée par la Commission européenne et est valable pour l'ensemble ou un certain nombre d'États membres. Cette procédure est obligatoire pour les médicaments de thérapie innovante, les médicaments issus des biotechnologies, les médicaments innovants contenant une nouvelle substance active et ceux permettant de traiter certaines affections (VIH, cancer, maladies neurodégénératives, diabète, maladies auto-immunes et maladies virales) ainsi que pour les médicaments orphelins indiqués dans le traitement des maladies rares. Notre thérapie s'inscrit donc dans ce type d'enregistrement.

La procédure de demande d'autorisation pour la procédure centralisée est la suivante :

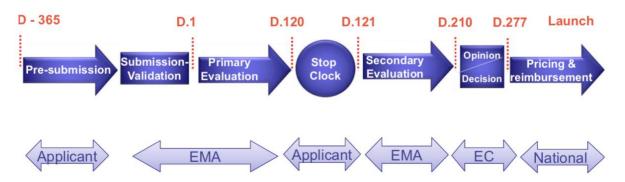


Figure 39: Procédure de soumission en Europe

d. Après la soumission du dossier

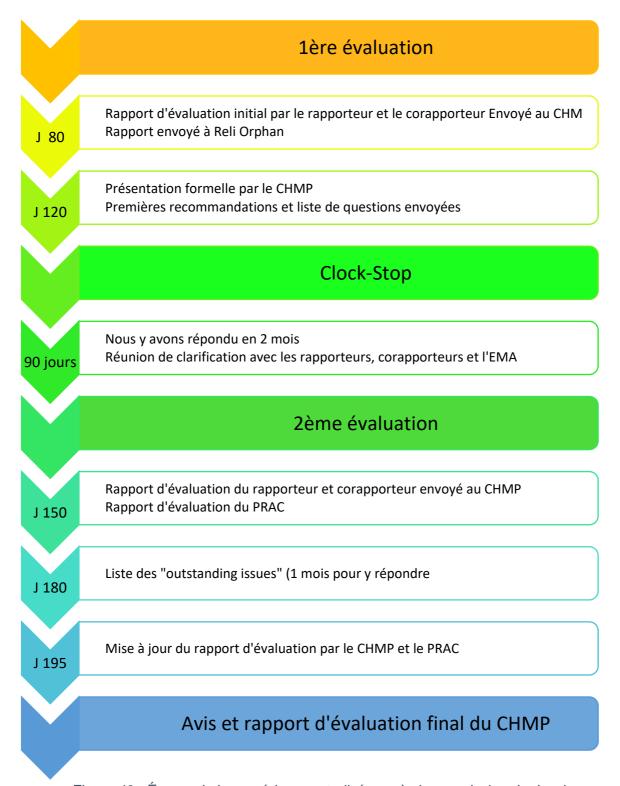


Figure 40 : Étapes de la procédure centralisée après la soumission du dossier

Le CHMP nous donnera ensuite un avis positif ou négatif pour notre demande d'AMM. La publication d'un EPAR sera effectuée et sera rédigée en consultation avec le rapporteur et le co-rapporteur.

C'est la Commission Européenne qui se chargera ensuite de prendre la décision d'octroi ou de refus de l'AMM.

Le médicament pourra être commercialisé dans tous les pays membre de l'Union Européenne avec la Norvège et l'Islande. Un seul résumé des caractéristiques du produit (SmPC), conditionnement, étiquetage et notice pour tous ces pays sera alors édité.

2. Enregistrement aux Etats-Unis

Partons du principe que la demande de désignation orpheline a été approuvée aux États-Unis.

Différentes procédures d'enregistrement sont proposées par la FDA et sont définies par le Code of Federal Regulations Totle 21 Part 312.80.

La FDA est donc habilitée à accélérer le développement, l'évaluation et la commercialisation de nouvelles thérapies destinées à traiter les personnes présentant une maladie mettant en jeu le pronostic vital, gravement handicapante, en particulier s'il n'existe pas de traitement alternatif satisfaisant.

4 programmes sont donc disponibles⁽²⁶⁾:

- La Fast Track Designation (FTD): destiné à faciliter le développement et à accélérer l'évaluation des médicaments indiqués dans des maladies graves et présentant un besoin médical non satisfait.
- L'Accelerated Approval: Approbation de nouveaux médicaments indiqués dans le traitement de maladies graves ou mettant en jeu le pronostic vital lorsque l'essai clinique est basé sur un critère de substitution « qui est raisonnablement susceptible de prédire un bénéfice clinique, ou sur un critère clinique pouvant être mesuré plus rapidement que la morbidité ou la mortalité irréversible et qui est raisonnable susceptible de prédire un effet sur cette morbidité ou mortalité irréversible ou sur tout autre bénéfice clinique. » Pour l'Accelerated Approval, la gravité, la rareté ou la prévalence de la maladie et la disponibilité/absence de traitements alternatifs sont pris en compte.
- Le Priority Review (PR): Le médicament approuvé est défini comme apportant une amélioration significative par rapport aux produits commercialisés dans le traitement, le diagnostic ou la prévention d'une maladie. Le PR définit un délai pour que la FDA traite une « demande d'évaluation prioritaire » de 6 mois comparément au 10 mois de l'évaluation standard.
- Le Breakthrough Therapies: médicaments destinés, seuls ou en combinaison avec un ou plusieurs autres médicaments, à traiter un trouble grave ou une maladie/ affection mettant en jeu le pronostic vital et pour lesquels les preuves cliniques préliminaires indiquent que le médicament peut présenter une amélioration substantielle par rapport aux traitements existants dans un ou plusieurs des essais cliniques, et ce sur la base de critères de jugement significatifs, telsque des effets thérapeutiques importants observés au début du développement clinique. Le produit incitera ainsi la FDA à prendre des mesures pour accélérer son développement.

Nous pourrions faire le choix de soumettre une demande de **Breakthrough Therapies** pour Chororepair® indiqué dans le traitement de la choroïdérémie.

Dans cette partie, nous allons donc développer les principes des Breakthrough Therapies (a), de la Fast Tack Designation (b), les critères de soumission à la Fast Track Designation (c) et enfin la soumision à la New Drug Application (d).

a. Breakthrough Therapies: Principe

La désignation Breakthrough Therapies est un processus conçu pour accélérer la mise au point et l'examen de médicaments destinés à traiter une affection grave. Les preuves cliniques préliminaires doivent indiquer que le médicament peut présenter une amélioration substantielle par rapport au traitement disponible sur un ou des critères d'effet cliniquement significatifs.

Déterminer si l'amélioration par rapport au traitement disponible est substantielle est une question de jugement et dépend à la fois de l'ampleur de l'effet du traitement, qui pourrait inclure la durée de l'effet, et de l'importance du résultat clinique observé. En général, les preuves cliniques préliminaires devraient montrer un net avantage sur le traitement disponible.

Aux fins de la désignation Breakthrough Therapies, un critère d'effet cliniquement significatif se réfère généralement à un critère d'effet qui mesure :

- Un effet sur la morbidité ou la mortalité irréversible (IMM)
- Ou sur les symptômes qui représentent des conséquences graves de la maladie.

Un critère d'effet cliniquement significatif peut également se référer à des résultats qui suggèrent un effet sur l'IMM ou des symptômes graves, notamment :

- Un effet sur un critère de substitution établi
- Un effet sur un critère d'évaluation de substitution ou un critère d'évaluation clinique intermédiaire considéré comme raisonnablement susceptible de prédire un avantage clinique (c.-à-d. La norme d'approbation accélérée)
- Un effet sur un ou plusieurs biomarqueurs pharmacodynamiques qui ne remplit pas les critères d'un critère de substitution acceptable, mais suggère fortement la possibilité d'un effet cliniquement significatif sur la maladie sous-jacente
- Un profil d'innocuité significativement amélioré par rapport au traitement disponible (par exemple, moins de toxicité limitant la dose pour un agent d'oncologie), avec des preuves d'efficacité similaire

Un médicament qui reçoit la désignation Breakthrough Therapies est admissible à ce qui suit :

- Toutes les fonctionnalités de désignation Fast Track
- Conseils intensifs sur un programme de développement de médicaments efficace, dès la phase I
- Engagement organisationnel impliquant les cadres supérieurs

La désignation Breakthrough Therapies est demandée par la société pharmaceutique. Si un promoteur n'a pas demandé de désignation de traitement révolutionnaire, la FDA peut suggérer au promoteur d'envisager de soumettre une demande si :

- Après avoir examiné les données et informations soumises (y compris les preuves cliniques préliminaires), l'Agence pense que le programme de développement de médicaments peut répondre aux critères de La désignation Breakthrough et
- Le programme de développement de médicaments restant peut bénéficier de la désignation.

Idéalement, une demande de désignation Breakthrough Therapies doit être reçue par la FDA au plus tard lors des réunions de fin de phase 2 si l'une des caractéristiques de la désignation doit être obtenue.

Parce que l'objectif principal de cette désignation est de développer les preuves nécessaires pour soutenir l'approbation aussi efficacement que possible, la FDA ne prévoit pas que les demandes de désignation Breakthrough Therapies seront faites après la soumission d'un BLA ou NDA original ou d'un supplément. La FDA répondra aux demandes de désignation de Breakthrough Therapy dans les soixante jours suivant la réception de la demande.

Nous ferons donc cette demande de désignation et aux vues des caractéristiques fondamentales, précliniques et cliniques de notre médicament, la FDA pourrait approuver cette demande qui nous donnera donc accès à la procédure de **Fast Track Designation**.

b. Fast-Track Designation: Principe

La procédure accélérée est un processus conçu pour faciliter le développement et accélérer l'examen des médicaments pour traiter des affections graves et répondre à un besoin médical non satisfait. Le but est de fournir plus tôt de nouveaux médicaments importants au patient. Fast Track traite un large éventail de conditions graves.

Déterminer si une affection est grave est une question de jugement, mais repose généralement sur la question de savoir si le médicament aura un impact sur des facteurs tels que la survie, le fonctionnement au jour le jour ou la probabilité que l'affection, si elle n'est pas traitée, évolue d'un état moins grave à un état plus grave.

Le sida, la maladie d'Alzheimer, l'insuffisance cardiaque et le cancer sont des exemples évidents de maladies graves. Cependant, des maladies telles que l'épilepsie, la dépression et le diabète sont également considérées comme des affections graves.

Répondre à un besoin médical non satisfait est défini comme la fourniture d'une thérapie là où il n'en existe pas ou la fourniture d'une thérapie qui peut être potentiellement meilleure qu'une thérapie disponible.

Tout médicament mis au point pour traiter ou prévenir une affection sans traitement actuel vise manifestement un besoin non satisfait. S'il existe des thérapies disponibles, un médicament accéléré doit montrer un certain avantage par rapport à la thérapie disponible, comme :

- Montrant une efficacité supérieure, un effet sur les résultats graves ou un effet amélioré sur les résultats graves.
- Éviter les effets secondaires graves d'une thérapie disponible.
- Améliorer le diagnostic d'une maladie grave où un diagnostic précoce entraîne une amélioration des résultats.
- **Diminution d'une toxicité clinique significative** d'un traitement disponible qui est courante et provoque l'arrêt du traitement.
- Capacité à répondre aux besoins de santé publique émergents ou prévus.

Un médicament qui reçoit la désignation Fast Track est admissible à tout ou partie des éléments suivants :

- Réunions plus fréquentes avec la FDA pour discuter du plan de développement du médicament et assurer la collecte des données appropriées nécessaires pour appuyer l'approbation du médicament.
- Communication écrite plus fréquente de la FDA sur des sujets tels que la conception des essais cliniques proposés et l'utilisation des biomarqueurs.
- Admissibilité à l'approbation accélérée et à l'examen prioritaire, si les critères pertinents sont remplis.
- Examen continu, ce qui signifie qu'une entreprise pharmaceutique peut soumettre des sections remplies de sa demande de licence biologique (BLA) ou de sa nouvelle demande de médicament (NDA) pour examen par la FDA, plutôt que d'attendre que chaque section de la NDA soit terminée avant que la demande entière puisse être revu. L'examen BLA ou NDA ne commence généralement pas tant que la société pharmaceutique n'a pas soumis la demande complète à la FDA.

La désignation Fast Track doit être demandée par la compagnie pharmaceutique. La demande peut être initiée à tout moment au cours du processus de développement du médicament. La FDA examinera la demande et prendra une décision dans les soixante jours selon que le médicament répond à un besoin médical non satisfait dans un état grave.

Une fois qu'un médicament reçoit la désignation Fast Track, une communication précoce et fréquente entre la FDA et une société pharmaceutique est encouragée tout au long du processus de développement et d'examen du médicament. La fréquence des communications garantit que les questions et les problèmes sont résolus rapidement, ce qui conduit souvent à une approbation plus rapide des médicaments et à l'accès des patients.

c. Fast Track Designation : Soumission

La « FDA Guidance for Industry : Fast Track Drug Development Programs – Designation, Dévelopment, and Application Review » réglemente l'accès d'un médicament avec les critères suivants :

• Maladie grave ou mettant en jeu le pronostic vital ;

- Pour qu'une affection soit jugée grave, elle doit être associée à une morbidité entraînant un impact substantiel sur la vie quotidienne du patient. Une morbidité de courte durée et spontanément résolutive n'est généralement pas suffisante mais la morbidité ne doit pas nécessairement être irréversible, à condition qu'elle soit persistante ou récurrente.
- Pour qu'un médicament bénéficie d'une FTD, il ne doit pas uniquement être utilisé chez les patients présentant une maladie grave, il doit être destiné à traiter un aspect grave de cette maladie. Ainsi, la FDA évaluera si le programme de développement est efficace et conçu pour démontrer un effet sur un aspect grave de la maladie.

• Le médicament répond potentiellement aux besoins médicaux non satisfaits :

- En l'absence de traitement, il existe un besoin médical non satisfait évident. Un nouveau traitement efficace répondrait donc à ce critère de la FTD.
- Lorsque des traitements existent, le candidat médicament répondrait à un besoin médical non satisfait s'il présente :
 - Une amélioration des effets sur les complications graves de la maladie
 - Des effets sur les complications graves de la maladie et sur lesquels le traitement standard n'a aucun effet;
 - Des bénéfices chez les patients qui ne tolèrent pas ou ne répondent pas aux autres traitements;
 - Des bénéfices similaires à ceux des traitements disponibles tout en évitant une toxicité grave présente dans les thérapies existantes, ou éviter la toxicité moins grave et plus commune mais provoque un arrêt du traitement de référence;
 - Des bénéfices semblables à la thérapie disponible, mais avec une amélioration de certains facteurs, tels que l'observance ou le confort d'utilisation, qui s'avère conduire à de meilleurs effets sur les complications graves.

Au vu de la potentielle approbation de la FDA quant à notre désignation Breakthrough Therapies, nous pourrions profiter de la procédure FTD. Nous recevrions donc une « Designation Letter » qui contiendrait les informations suivantes :

- La FTD nous a été accordé dans l'indication « traitement de la choroïdérémie ».
- Le sponsor devra concevoir et réaliser des études pouvant montrer si le produit répond à des besoins médicaux non-satisfait.
- Alerte pour sponsor disant que le programme de développement devrait continuer à répondre aux critères de FTD.

Nous aurions donc accès à :

- Des réunions plus fréquentes avec la FDA pour discuter du plan de développement du médicament et assurer la collecte des données appropriées nécessaires à l'approbation du médicament.
- De la communication écrite plus fréquente de la part de la FDA sur des éléments tels que la conception des essais cliniques proposés et l'utilisation de biomarqueurs.
- L'éligibilité à la procédure d'Accelerated Approval et à la Priority Review.
- L'évaluation continue ou Rolling Review.

d. New Drug Application

La Prescription Drug User Act (PDUFA) convient d'objectifs spécifiques pour améliorer le délai d'évaluation des médicaments et a créé 2 niveaux d'évaluation :

- L'évaluation standard : qui donne suite à une demande d'évaluation dans un délai de 10 mois.
- L'évaluation prioritaire (Priority Review): qui donne suite à une demande d'évaluation dans un délai de 6 mois. Cette PR est possible dans le cas où le médicament constitue une amélioration significative de la sécurité ou de l'efficacité du traitement, du diagnostic ou de la prévention d'affections graves par rapport aux traitements standards.

L'amélioration significative peut être démontrée par :

- Une augmentation de l'efficacité du produit dans le traitement, la prévention ou le diagnostic de la maladie.
- Une élimination ou réduction substantielle d'un effet indésirables au médicament limitant le traitement.
- Une amélioration documentée de l'observance du patient susceptible d'entraîner une amélioration des résultats.
- Des preuves de sécurité et d'efficacité dans une nouvelle sous-population.

Avant toute demande de PR, il faudra prendre en compte les éléments suivants :

• La fabrication: un programme de développement de la fabrication doit rapidement être mis en œuvre. Les équipes CMC et Qualité doivent communiquer avec la FDA le plus tôt possible pour s'assurer que la soumission du plan de développement de fabrication soit conforme aux exigences de la FDA au moment de la soumission du NDA. Le produit devra être disponible sur le marché au moment de l'approbation de l'AMM. Une analyse de marché sera donc faite et doit être accompagnée des capacités de production du médicament. Il faudra prendre en compte les futures inspections des sites de fabrication. La FDA pourra donc apporter une certaine souplesse quant au type d'informations contenues dans le dossier CMC.

Nous envisagerons donc de soumettre une demande de PR pour notre demande d'AMM aux Etats-Unis, dans l'indication du traitement de la choroïdérémie.

Elle sera faite au moment du dépôt de la NDA et sera envoyée au même moment au CDER.

Notre demande contiendra:

- Une identification de la demande de PR: « REQUEST FOR PRIORITY REVIEW DESIGNATION ».
- Cover letter : nom du sponsor, adresse, email, numéro de téléphone, fax.
- L'indication : « Traitement de la choroïdérémie ».
- Un résumé de l'argumentaire :
 - Traitement d'une maladie orpheline.
 - Amélioration dans l'efficacité du traitement et la sécurité.

La FDA disposera d'un délai de 60 jours pour évaluer notre demande. Le processus d'évaluation PR s'organise de la manière suivante :

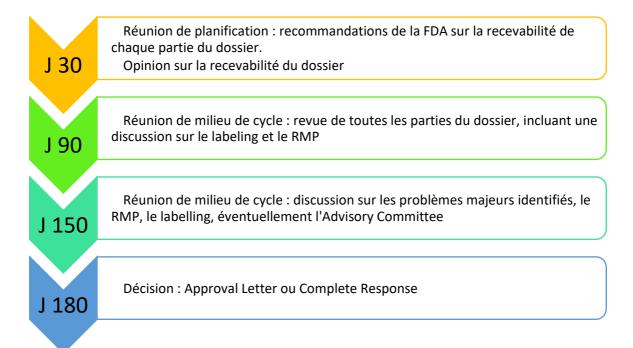


Figure 41 : Procédure d'évaluation prioritaire de la FDA

Conclusion

Nous avons, tout au long de cette thèse, mis en lumière les enjeux du développement d'un médicament orphelin. Ce cas pratique nous montre les difficultés techniques que pourrait rencontrer un laboratoire pharmaceutique lors du développement d'un tel traitement.

Il est à noter que c'est un défi scientifique et financier pour les laboratoires qui s'y attèlent.

Le statut de médicament orphelin de notre potentiel médicament dans certains pays et la réglementation avancée (en Europe et aux États-Unis) des procédures d'enregistrement faciliterai cependant, comme nous venons de le voir, sa mise sur le marché.

En effet, les réglementations internationales ont été faites pour encourager l'industrie pharmaceutique à s'engager dans de telles procédures et nous ne pouvons qu'espérer que cela permettra à des patients souffrant de maladies orphelines de pouvoir bénéficier d'un traitement rapidement.

Il est toutefois important de noter la difficulté de développement scientifique d'un médicament orphelin du fait du peu de patients touchés par les maladies rares et que cet enjeux peut malheureusement être un frein à l'avancée scientifique.

Bibliographie

- 1. Vasireddy V, Mills JA, Gaddameedi R, Basner-Tschakarjan E, Kohnke M, Black AD, et al. AAV-Mediated Gene Therapy for Choroideremia: Preclinical Studies in Personalized Models. Lewin A, éditeur. PLoS ONE [Internet]. 7 mai 2013 [cité 27 sept 2022];8(5):e61396. Disponible sur: https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0061396
- 2. Hamel C, Sahel JA. La choroïdérémie [Internet]. Orphanet; 2013 [cité 28 sept 2022]. Disponible sur: https://www.orpha.net/data/patho/Pub/fr/choro-d-r-mie-frfrpub921v01.pdf
- 3. Collège des ophtalmologistes universitaires de France, éditeur. Ophtalmologie. 5e éd. Issy-les-Moulineaux: Elsevier Masson; 2021. (Les référentiels des collèges).
- 4. Seitz I, Fischer M. Der natürliche Verlauf der Choroideremie. Klin Monatsblätter Für Augenheilkd [Internet]. mars 2019 [cité 28 sept 2022];236(03):236-43. Disponible sur: http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/a-0841-3417
- 5. Zinkernagel M, MacLaren R. Recent advances and future prospects in choroideremia. Clin Ophthalmol [Internet]. nov 2015 [cité 28 sept 2022];2195. Disponible sur: https://www.dovepress.com/recent-advances-and-future-prospects-in-choroideremia-peer-reviewed-article-OPTH
- 6. Moosajee M, Ramsden SC, Black GC, Seabra MC, Webster AR. Clinical utility gene card for: Choroideremia. Eur J Hum Genet [Internet]. avr 2014 [cité 28 sept 2022];22(4):572-572. Disponible sur: http://www.nature.com/articles/ejhg2013183
- 7. Cehajic Kapetanovic J, Barnard AR, MacLaren RE. Molecular Therapies for Choroideremia. Genes [Internet]. 23 sept 2019 [cité 11 oct 2022];10(10):738. Disponible sur: https://www.mdpi.com/2073-4425/10/10/738
- 8. MacDonald IM, Hume S, Zhai Y, Xu M. Choroideremia. In: Adam MP, Everman DB, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, et al., éditeurs. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [cité 27 sept 2022]. Disponible sur: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1337/
- 9. Fahim AT, Daiger SP, Weleber RG. Nonsyndromic Retinitis Pigmentosa Overview. In: Adam MP, Everman DB, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, et al., éditeurs. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [cité 11 oct 2022]. Disponible sur: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1417/
- 10. Schwartz SG, Wang X, Chavis P, Kuriyan AE, Abariga SA. Vitamin A and fish oils for preventing the progression of retinitis pigmentosa. Cochrane Eyes and Vision Group, éditeur. Cochrane Database Syst Rev [Internet]. 23 juin 2020 [cité 7 juin 2023];2022(1). Disponible sur: http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD008428.pub3
- 11. Barnard AR, Groppe M, MacLaren R. Gene Therapy for Choroideremia Using an Adeno-Associated Viral (AAV) Vector. Cold Spring Harb Perspect Med [Internet]. Eric A. Pierce, Richard H. Masland, and Joan W. Miller. 2015; Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4355255/pdf/cshperspectmed-RET-a017293.pdf
- 12. Jacobson SG, Boye SL, Aleman TS, Conlon TJ, Zeiss CJ, Roman AJ, et al. Safety in

- Nonhuman Primates of Ocular AAV2- *RPE65*, a Candidate Treatment for Blindness in Leber Congenital Amaurosis. Hum Gene Ther [Internet]. août 2006 [cité 11 oct 2022];17(8):845-58. Disponible sur: http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/hum.2006.17.845
- 13. Fischer MD, Ochakovski GA, Beier B, Seitz IP, Vaheb Y, Kortuem C, et al. Efficacy and Safety of Retinal Gene Therapy Using Adeno-Associated Virus Vector for Patients With Choroideremia: A Randomized Clinical Trial. JAMA Ophthalmol [Internet]. 1 nov 2019 [cité 11 oct 2022];137(11):1247. Disponible sur:

https://jamanetwork.com/journals/jamaophthalmology/fullarticle/2748910

- 14. Kaplitt MG, Feigin A, Tang C, Fitzsimons HL, Mattis P, Lawlor PA, et al. Safety and tolerability of gene therapy with an adeno-associated virus (AAV) borne GAD gene for Parkinson's disease: an open label, phase I trial. Lancet Lond Engl. 23 juin 2007;369(9579):2097-105.
- 15. Xue K, Groppe M, Salvetti AP, MacLaren RE. Technique of retinal gene therapy: delivery of viral vector into the subretinal space. Eye Lond Engl. sept 2017;31(9):1308-16.
- 16. World Health Organization. WHO Drug Information [Internet]. 2005 [cité 11 oct 2022]. Disponible sur: WHO Drug Information World Health Organization (WHO)https://apps.who.int > iris > handle > 19 2 2005
- 17. Propriété des inventions et des connaissances techniques [Internet]. Code de la propriété intellectuelle nov 8, 2022. Disponible sur: https://www.legifrance.gouv.fr/codes/section_lc/LEGITEXT000006069414/LEGISCTA000006179050/#LEGISCTA000006179050
- 18. Les étapes clés du dépôt de marque [Internet]. Institut National de la Propriété Intellectuelle; Disponible sur: https://www.inpi.fr/proteger-vos-creations/proteger-votre-marque/les-etapes-cles-du-depot-de-marque
- 19. European Medicine Agency. Guideline on quality, non-clinical and clinical aspects of medicinal products containing genetically modified cells [Internet]. 2021. Disponible sur: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-quality-non-clinical-clinical-aspects-medicinal-products-containing-genetically-modified_en-0.pdf
- 20. Pignard J, Bernard L, Chennell P, Sautou V. Gestion pharmaceutique des études cliniques de thérapie génique en France. Pharm Hosp Clin [Internet]. déc 2015 [cité 27 nov 2022];50(4):434-43. Disponible sur:

https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2211104215000910

- 21. EMA. Paediatric Investigation Plan [Internet]. 2012. Disponible sur: https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/research-development/paediatric-medicines/paediatric-investigation-plans
- 22. FDA. Pediatric Study Plans: Content of and Process for Submitting Initial Pediatric Study Plans and Amended Initial Pediatric Study Plans Guidance for Industry [Internet]. 2020. Disponible sur: https://www.fda.gov/media/86340/download
- 23. EMA. Orphan Designation [Internet]. Disponible sur: https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/overview/orphan-designation-overview
- 24. EMA. PRIME: Priority Medicines [Internet]. 2016. Disponible sur: https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/research-development/prime-priority-medicines
- 25. FDA. Designating an Orphan Product: Drugs and Biological products [Internet].

Disponible sur: https://www.fda.gov/industry/medical-products-rare-diseases-and-conditions/designating-orphan-product-drugs-and-biological-products

26. FDA. Fast Track, Breakthrough Therapy, Accelerated Approval, Priority Review
[Internet]. 2018. Disponible sur: https://www.fda.gov/patients/learn-about-drug-and-device-approvals/fast-track-breakthrough-therapy-accelerated-approval-priority-review

Université de Lille FACULTE DE PHARMACIE DE LILLE

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Année Universitaire 2022/2023

Nom: RAYMACKERS

Prénom : Emilie

Titre de la thèse : Le développement et l'enregistrement du médicament orphelin au

travers d'un exemple : La Choroïdérémie.

Mots-clés: Enregistrement; médicament orphelin; Développement; Choroïdérémie

Résumé :

L'objectif de cette thèse est d'imaginer la stratégie de développement et d'enregistrement du médicament dit « orphelin » en prenant un exemple concret d'une pathologie orpheline qui n'a pas encore de thérapie disponible sur le marché.

Cette thèse portera sur les aspects techniques et réglementaires du développement d'un médicament orphelin. Une partie se basera sur des données scientifiques publiées concernant le médicament que nous allons étudier et une autre sera donc fictive, imaginant ce que pourrait être les potentielles étapes de mise sur le marché d'un tel traitement au niveau européen et international.

Membres du jury:

Président : Eric Sergheraert, Professeur des Universités, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

Assesseur(s):

Anne-Catherine PERROY, Professeure des Universités, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

Vasily Smirnov, Praticien hospitalo-universitaire, Chef du service d'Extrapolation de la vision et de Neuro-Ophtalmologie