

Rencontre Patients-Chercheurs à l'Unité INSERM 1176
Vendredi 4 Novembre 2016

Grands thèmes de recherche sur l'hémophilie

Olivier Christophe



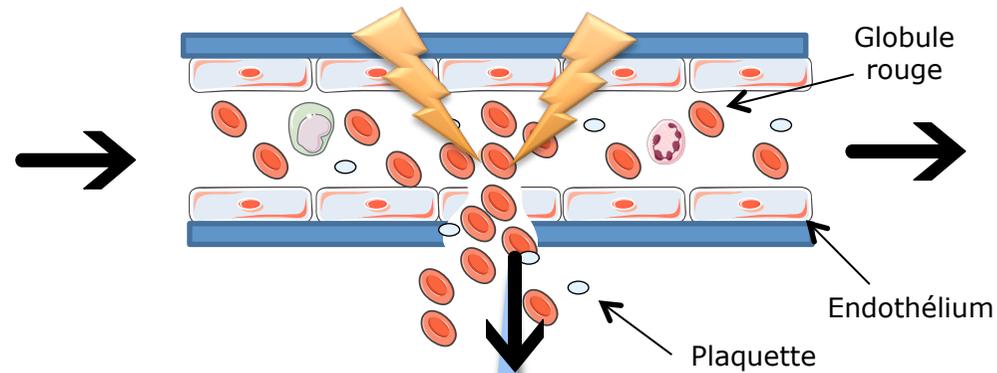
Comprendre le monde,
construire l'avenir®



La Coagulation Sanguine:

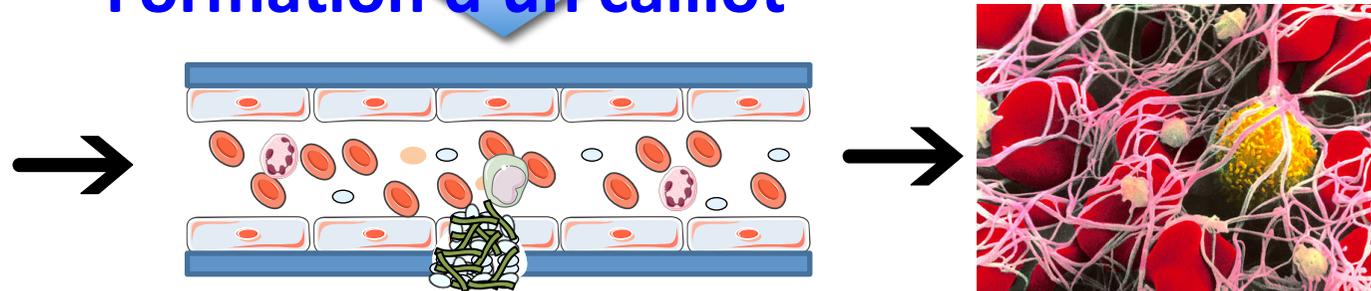
Une cascade de réactions enzymatiques solidifiant le clou plaquettaire

Blessure Vasculaire



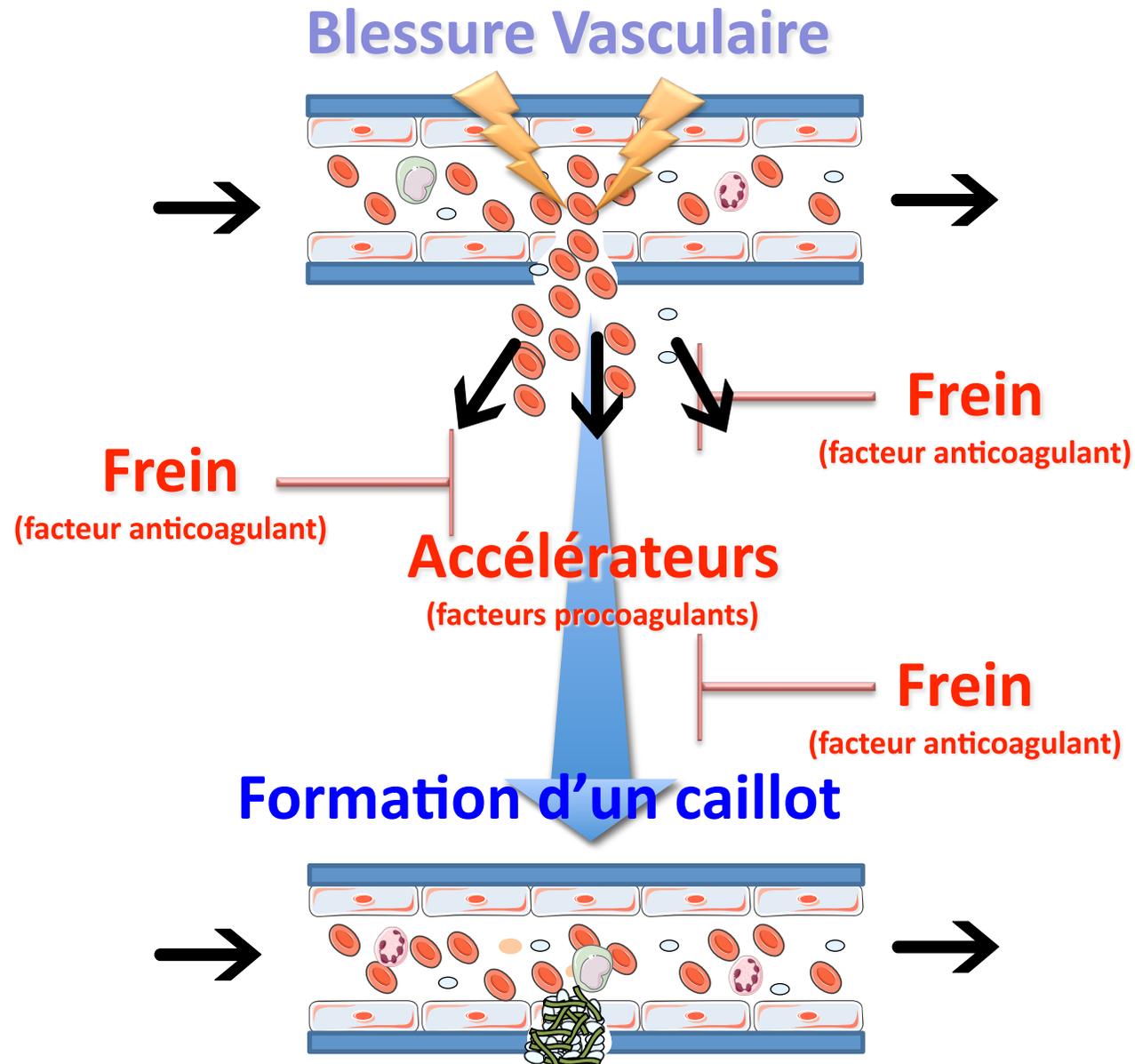
Cascade de réactions enzymatiques
Protéines -> enzymes -> **gel protéique cimentant les plaquettes**

Formation d'un caillot



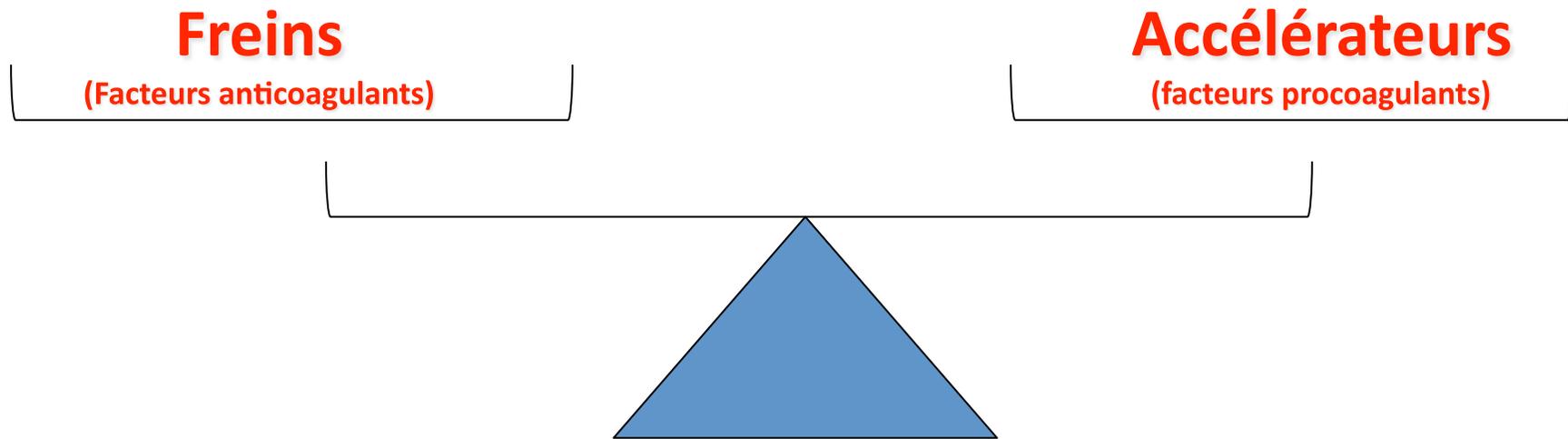
La Coagulation Sanguine:

Une cascade de réactions avec des accélérateurs et des freins

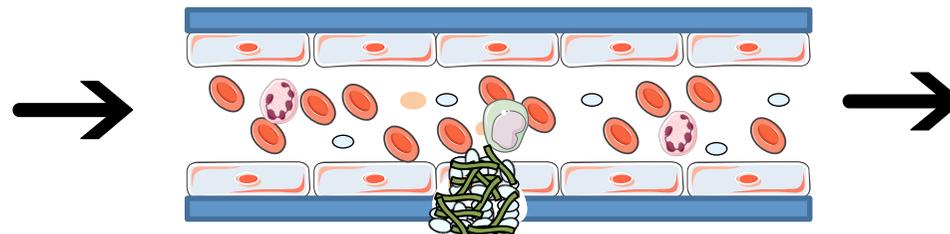


La Coagulation Sanguine:

Un équilibre entre l'action d'accélérateurs et de freins

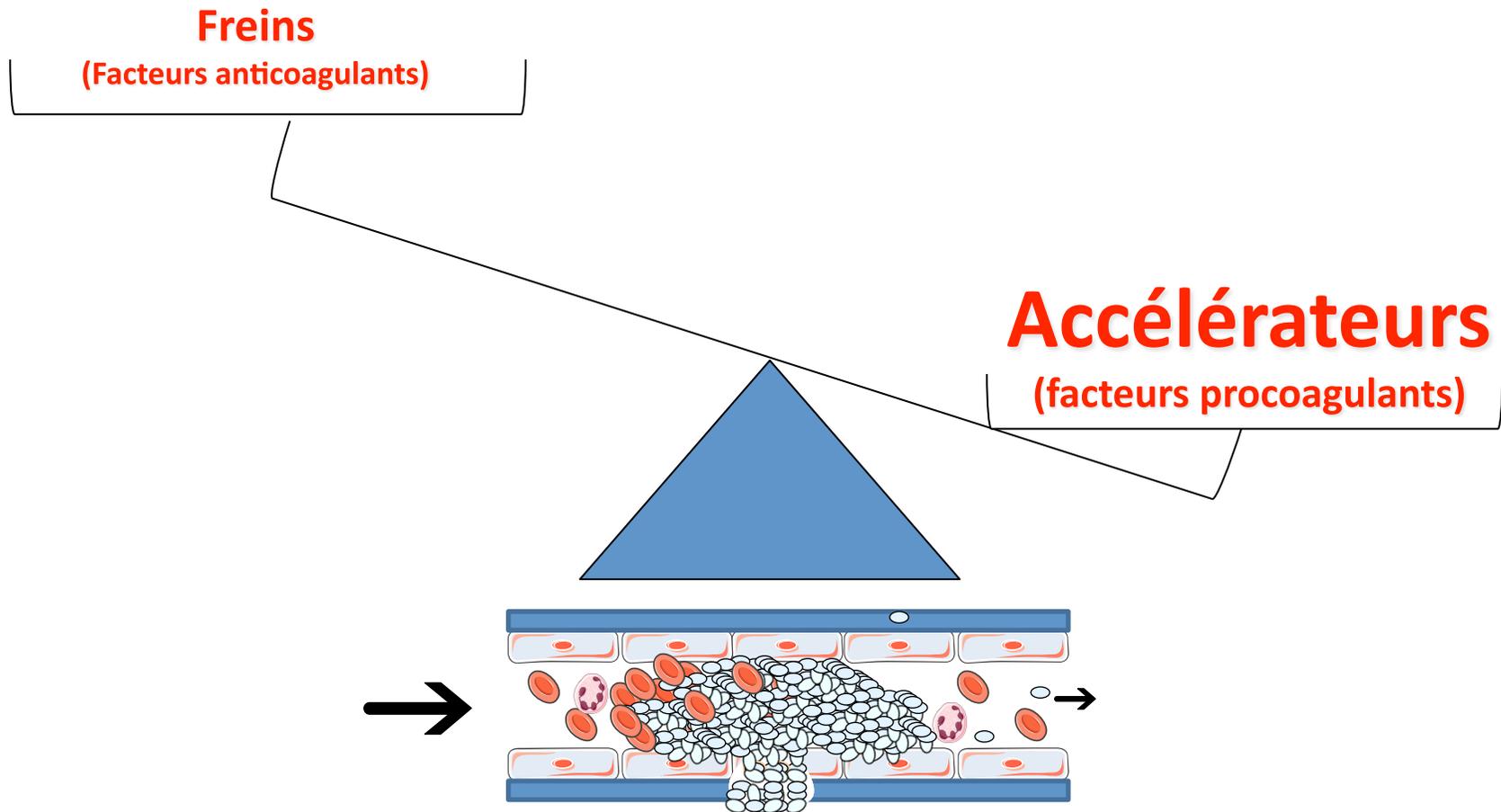


Formation d'un caillot



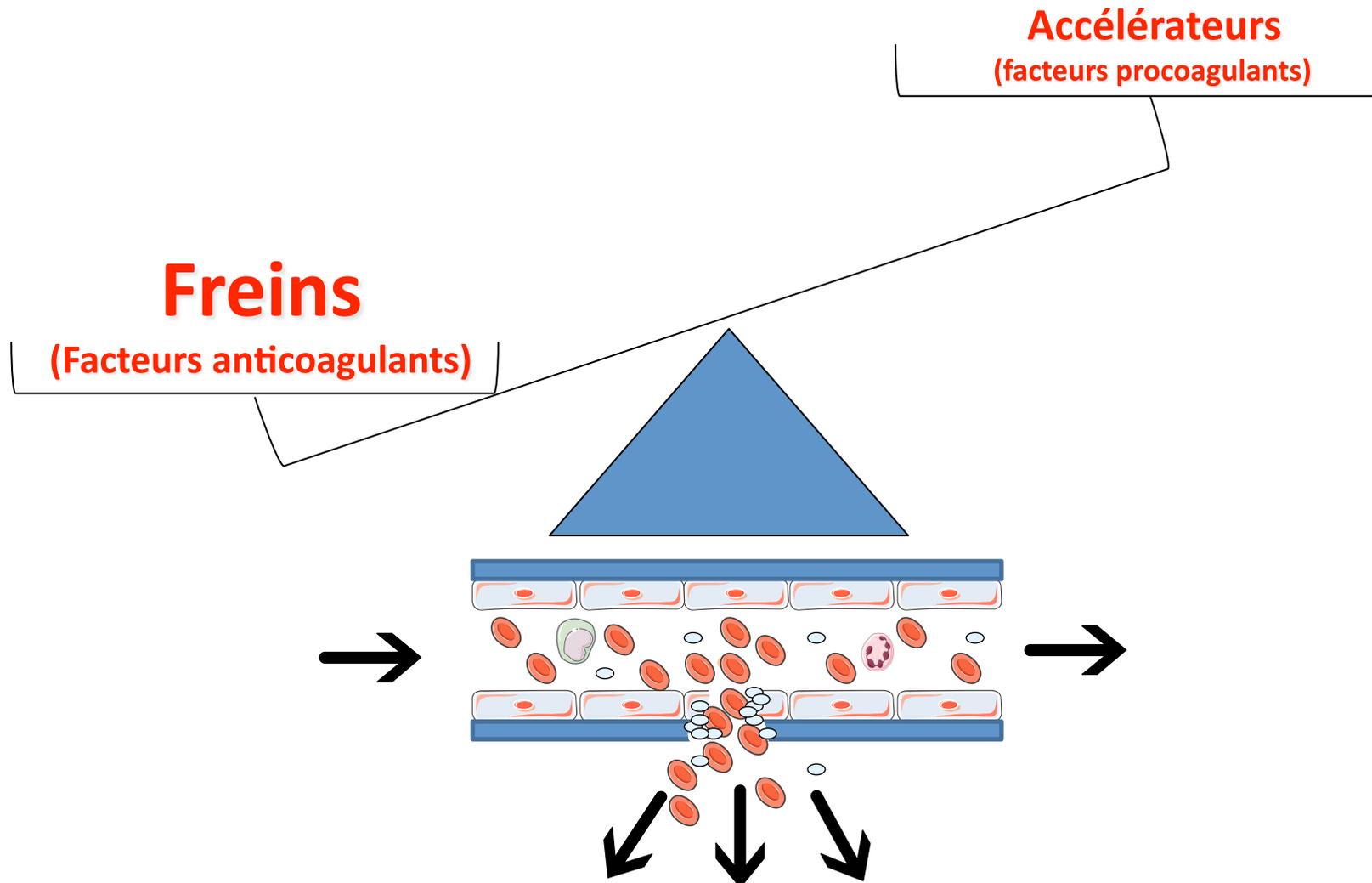
La Thrombose:

Un déséquilibre de l'action d'accélérateurs et de freins



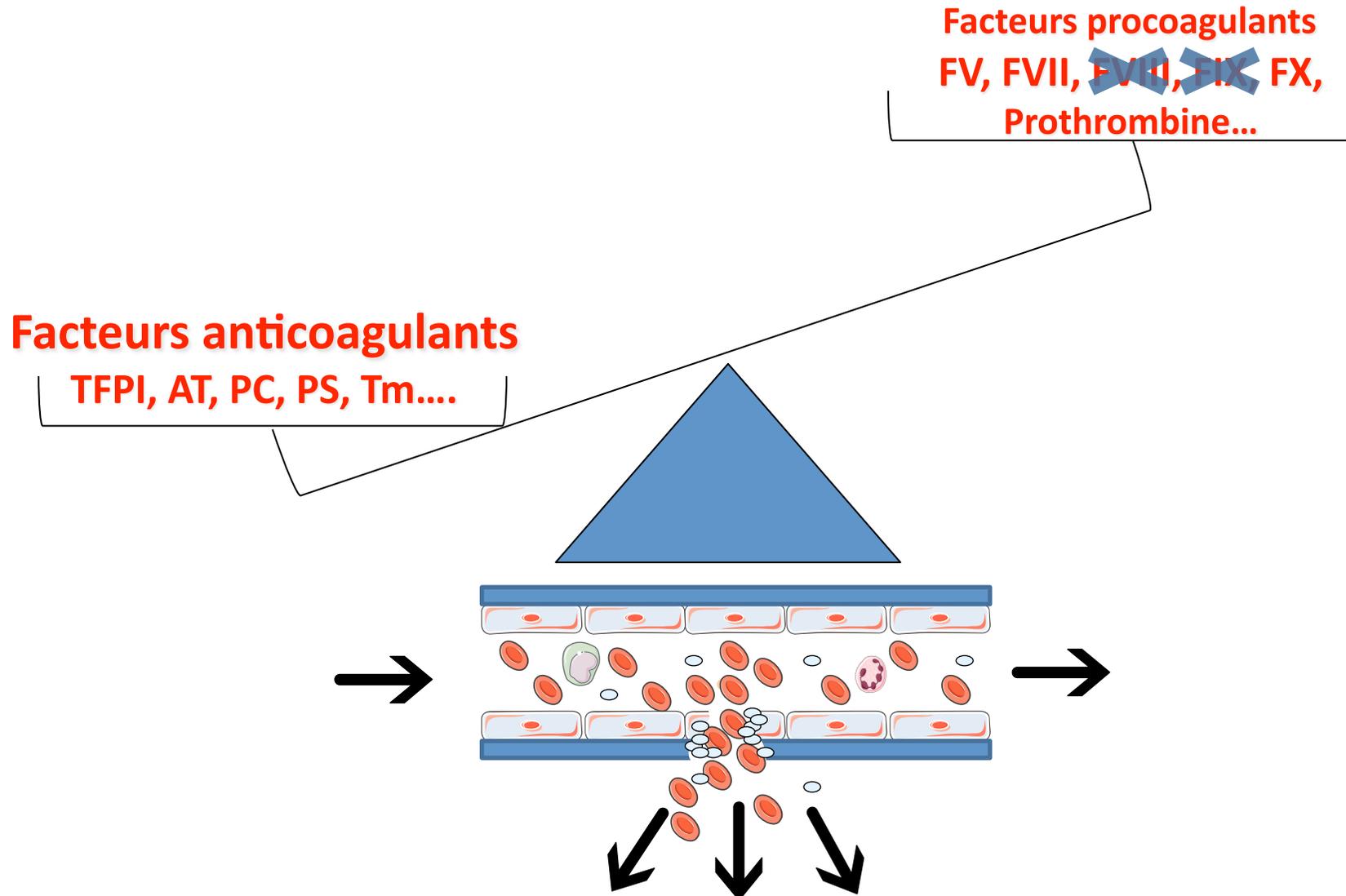
L'hémorragie:

Un déséquilibre de l'action d'accélérateurs et de freins

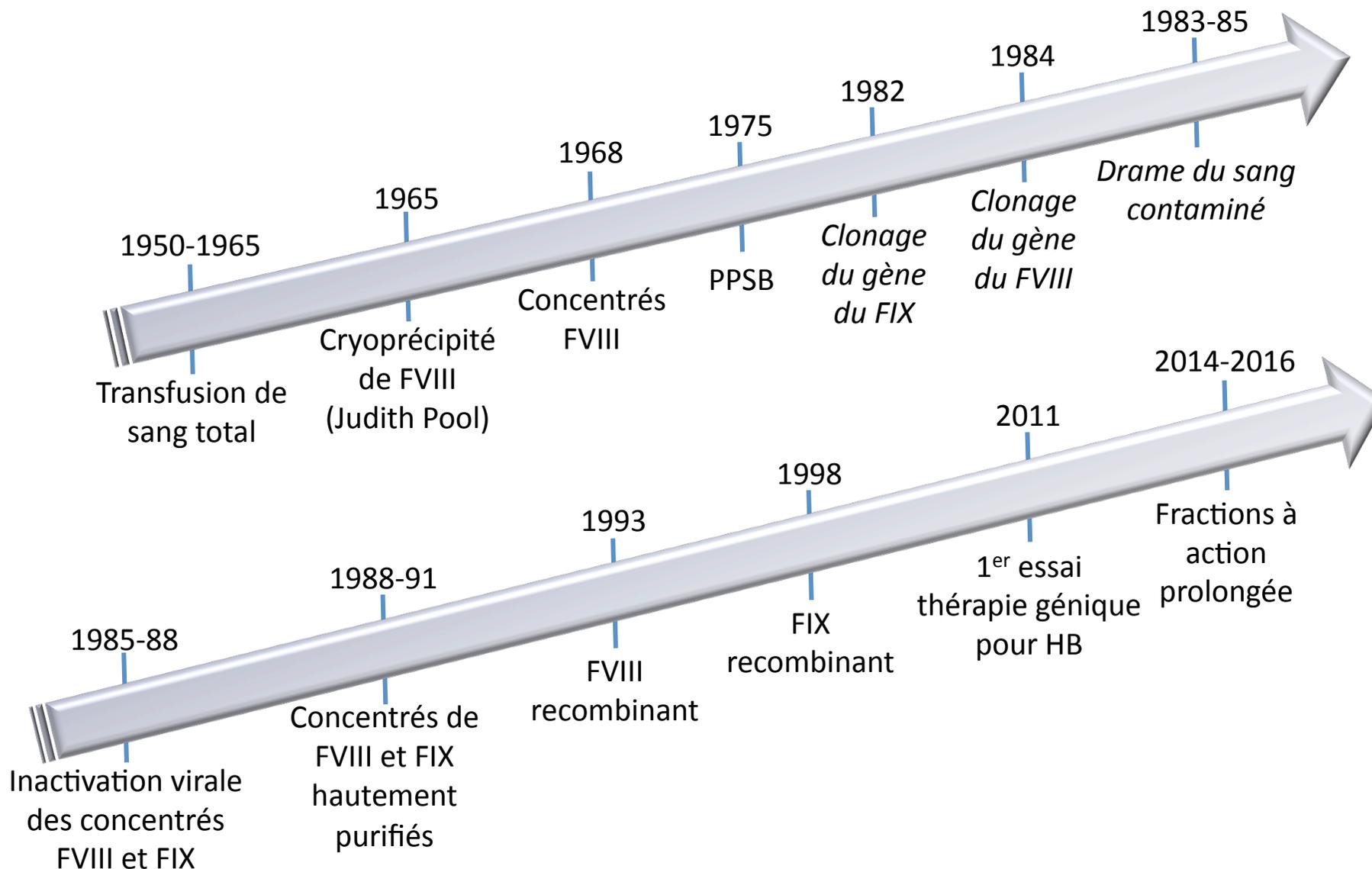


L'hémophilie:

Un déficit en FVIII (hémophilie A) ou en FIX (hémophilie B)

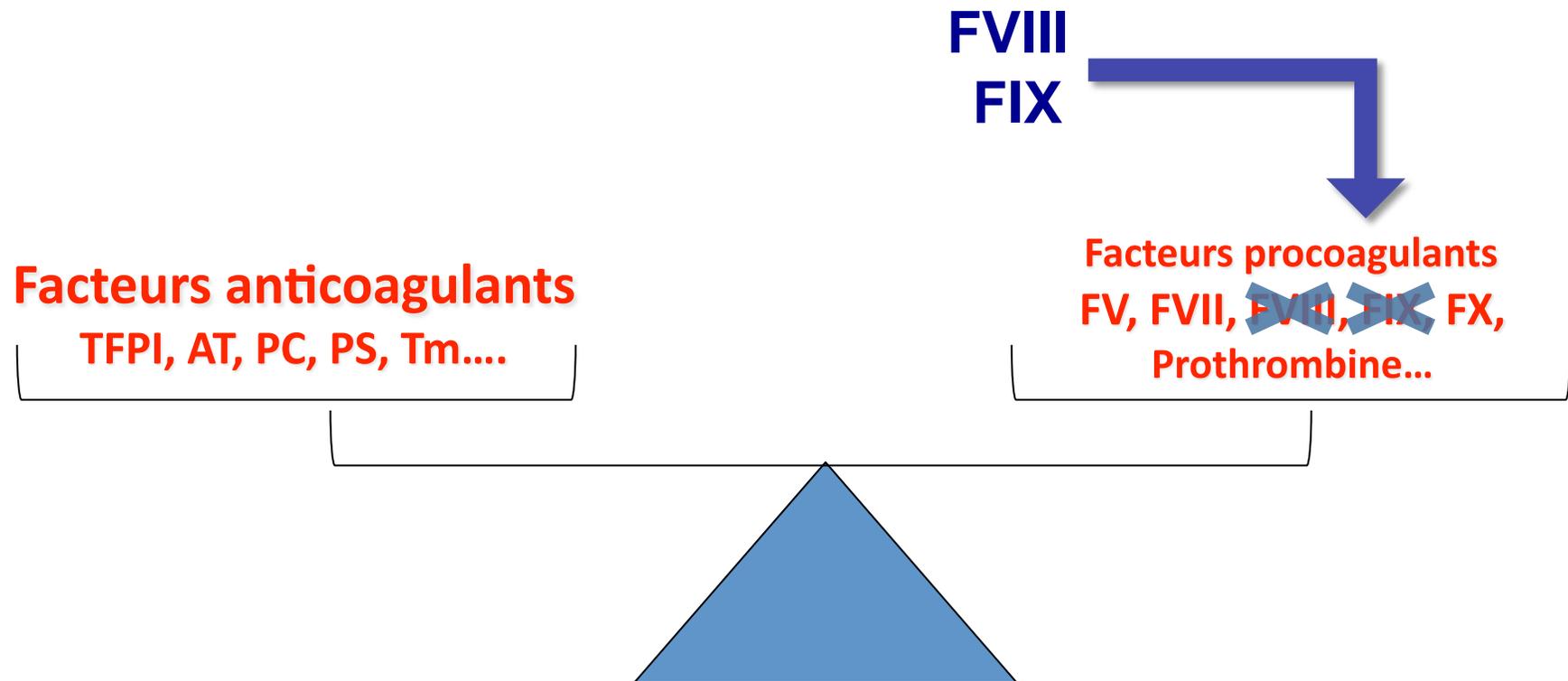


La recherche: processus continu d'amélioration des traitements

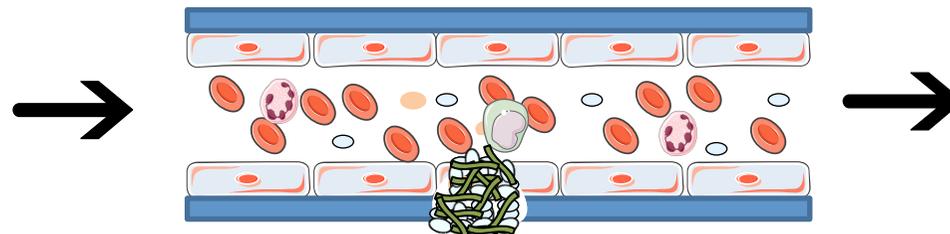


Traitement actuel de l'hémophilie:

Le traitement substitutif en Facteurs VIII ou IX hautement purifiés



Restauration coagulation normale



Les limites du traitement substitutif:

Risque d'apparition d'inhibiteurs

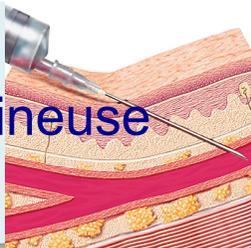
*15-30% hemophilie A
1-5% hemophilie B*



Plusieurs injections par semaine



Injection par intraveineuse



Coût du traitement



*-> coût moyen d'un traitement
prophylactique : 100-120 k€/an
(1 g FVIII \approx 7.5 million €)*

*-> 65-75% de la population mondiale
n'a pas accès aux traitements*

Solutions et limites des solutions actuellement proposées aux patients:

Risque d'apparition d'inhibiteurs



Induction de tolérance Immune :
Facteurs de contournement :

- FVIIa recombinant
 - Concentrés d'activateurs de la Prothr.
- Demi-vies courtes, pas tjs succès, coût*

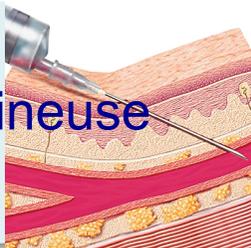
Plusieurs injections par semaine



FVIII et FIX à durée de vie allongée

- FIX-Fc, (FIX-Alb, FIX-PEG) :
2 injections/semaine -> 2 injections/mois
- FVIII-Fc (FVIII-Alb, FVIII-PEG) :
3 injections -> 2 injections/semaine

Injection par intraveineuse



Coût du traitement



Les objectifs des nouvelles recherches:

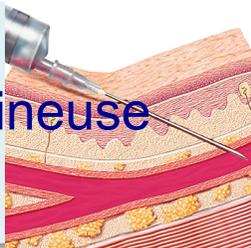
Risque d'apparition d'inhibiteurs



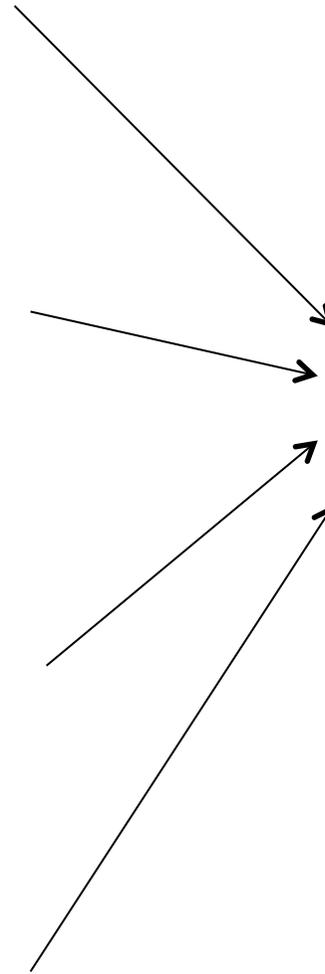
Plusieurs injections par semaine



Injection par intraveineuse



Coût du traitement



Les challenges à relever pour les nouvelles thérapies de l'hémophilie

Plus grande innocuité
&
Immunogenicité réduite

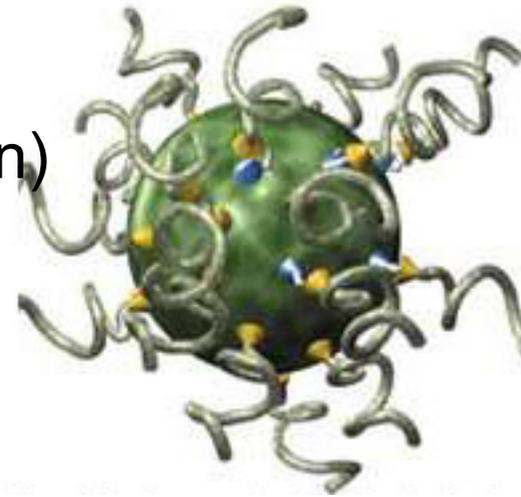
faible coût
&
meilleure prestation

efficacité accrue
&
demi-vie augmentée

plus grande et plus
large disponibilité

Les options pour de nouveaux traitements :

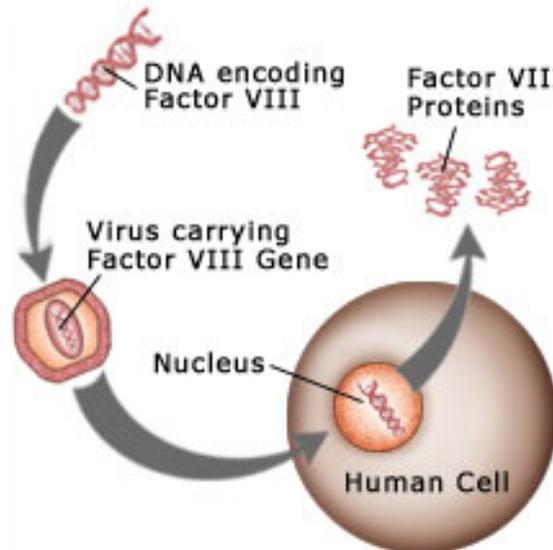
- Protéines à durée de vie allongée (PEGylation, Fc-fusion, Albumin-fusion)



- Des nouveaux agents contournant le défaut FIX-FVIII (FX & FVIIa variants, TFPI, AT-inhibiteurs, traitements s.c, oraux)



- Thérapie génique



Les options pour de nouveaux traitements :

- Protéines à durée de vie allongée
- Des nouveaux agents contournant le défaut FIX-FVIII

Emergence de l'ingénierie
des protéines au cours des
années 1980.



Aujourd'hui, > 200 protéines thérapeutiques
ont été approuvées par la FDA

(Walsh G, Nature Biotechnology 2010; 28:924)

Augmentation de la
demi-vie des protéines

```
graph TD; A[Augmentation de la demi-vie des protéines] --- B[PEGylation]; A --- C[Fc fusion]; A --- D[Albumine fusion];
```

PEGylation

Fc fusion

Albumine fusion

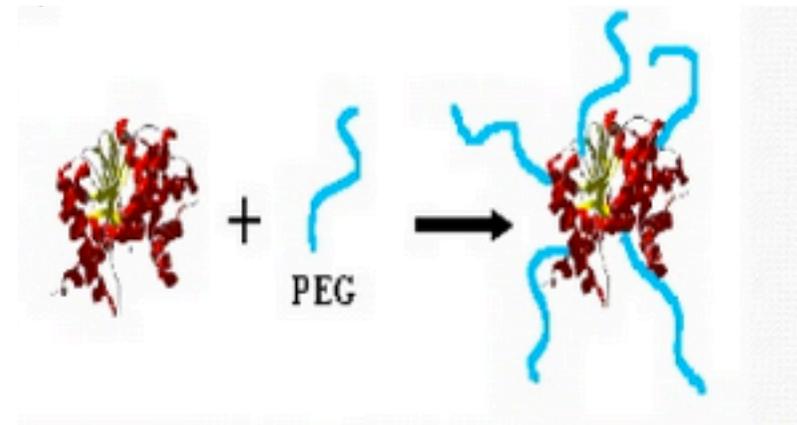
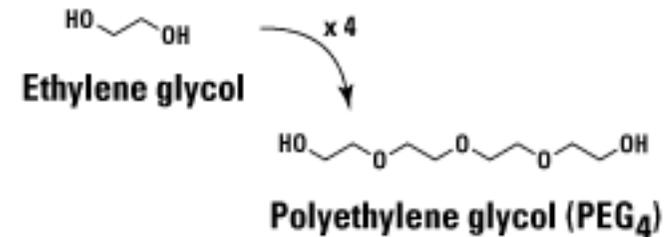
Augmentation de la demi-vie des protéines

PEGylation

Définition : *Couplage chimique covalent de polyéthylène glycol (PEG), substance hydrophile non-toxique à une molécule pharmaceutique active.*

Principales propriétés

- Augmente stabilité et solubilité
- Réduit immunogénicité et protéolyse
- Réduit la clairance des petites molécules par les reins en augmentant leur volume



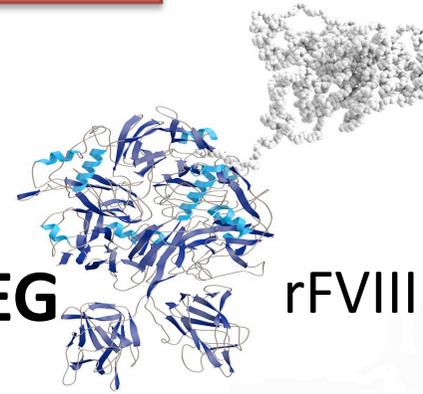
Augmentation de la
demi-vie des protéines

PEGylation

rFVIII-PEG

rFVIII

PEG

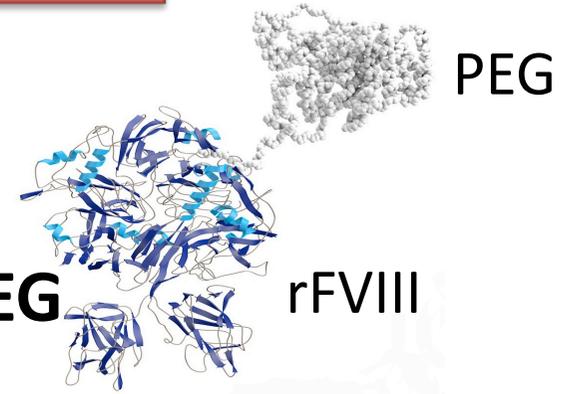


Augmentation de la
demi-vie des protéines

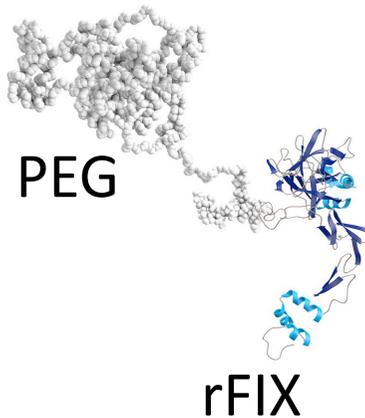
PEGylation

rFVIII-PEG

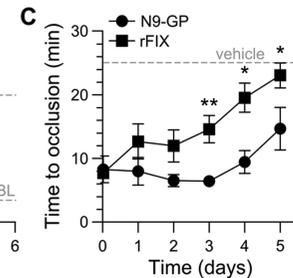
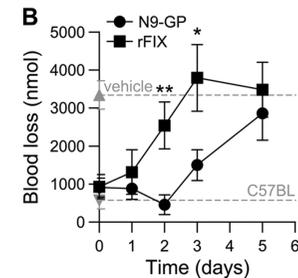
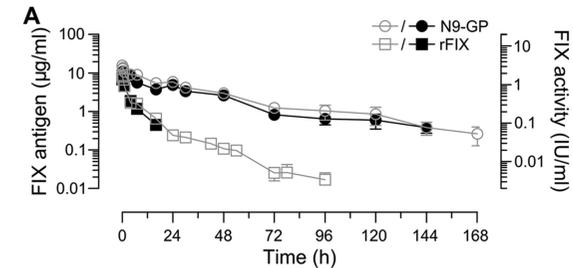
rFVIII



rFIX-GP



Pharmacokinetics and duration of N9-GP
effect in hemophilia B mice.

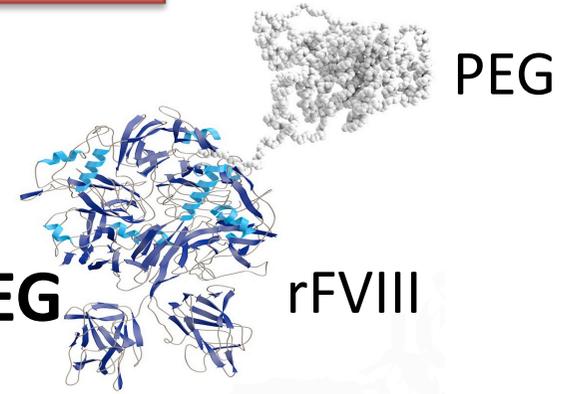


Augmentation de la demi-vie des protéines

PEGylation

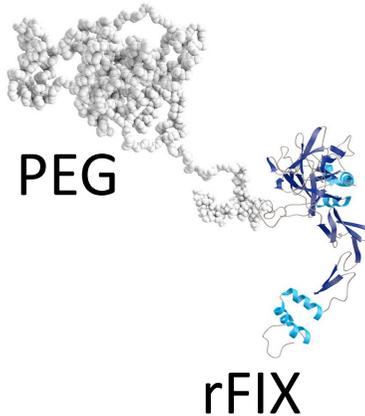
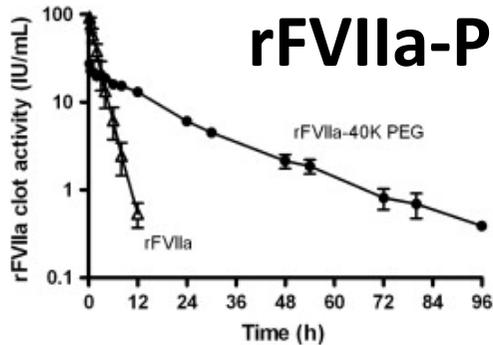
rFVIII-PEG

rFVIII

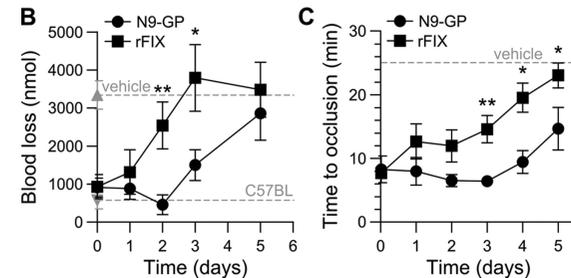
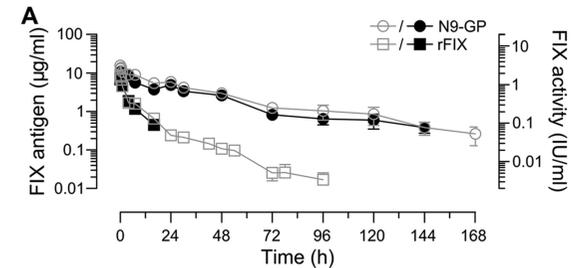


rFVIIa-PEG

rFIX-GP



Pharmacokinetics and duration of N9-GP effect in hemophilia B mice.



Karpf M et al, Thrombosis Research, 2011; 128, 191-195

Henrik Østergaard et al. Blood 2011;118:2333-2341

Augmentation de la
demi-vie des protéines

```
graph TD; A[Augmentation de la demi-vie des protéines] --> B[Fc fusion]; A --> C[Albumine fusion];
```

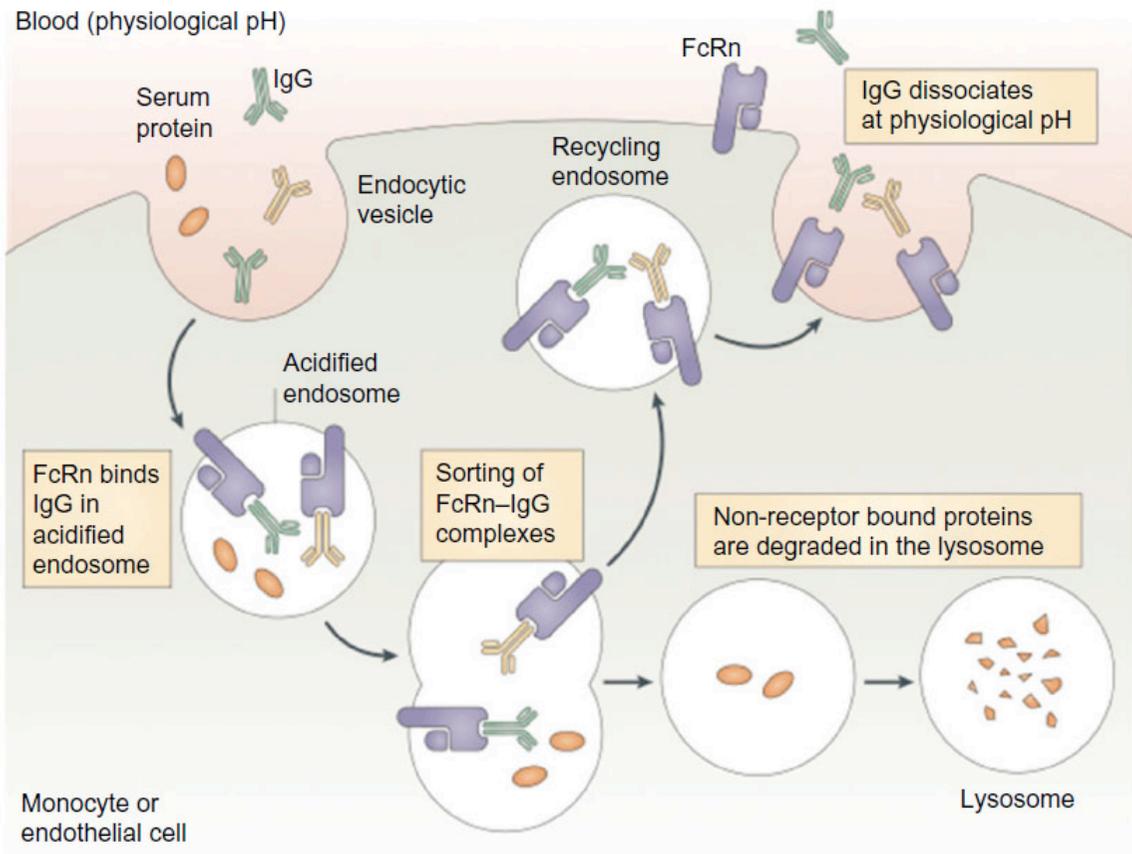
Fc fusion

Albumine fusion

Augmentation de la demi-vie des protéines

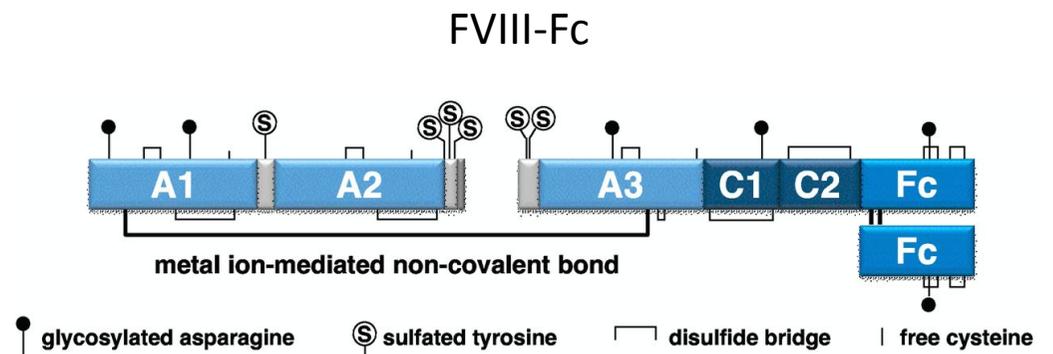
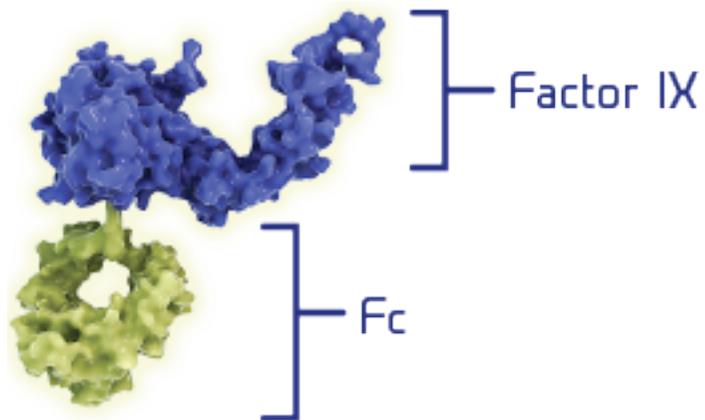
Fc fusion

Albumine fusion



Augmentation de la demi-vie des protéines

Fc fusion

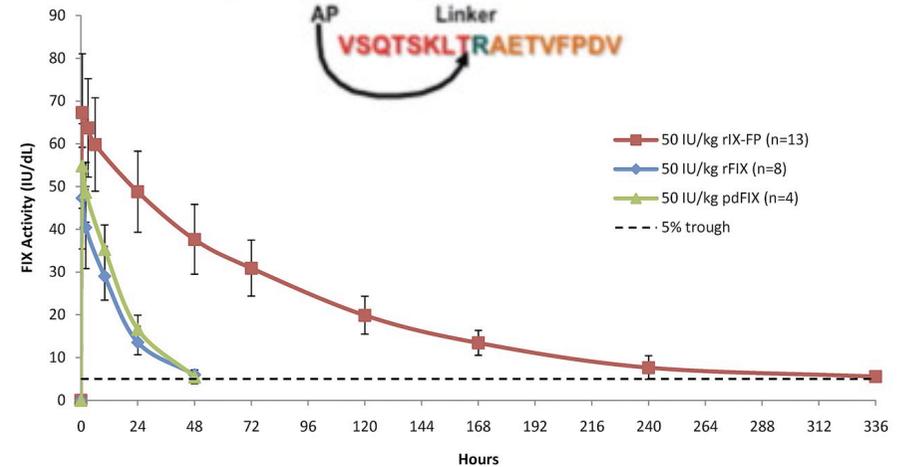
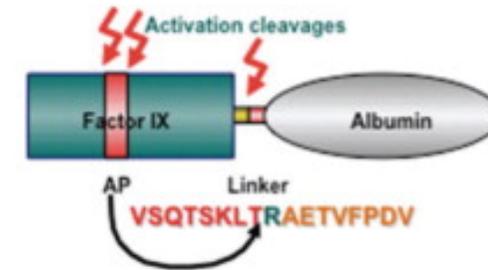
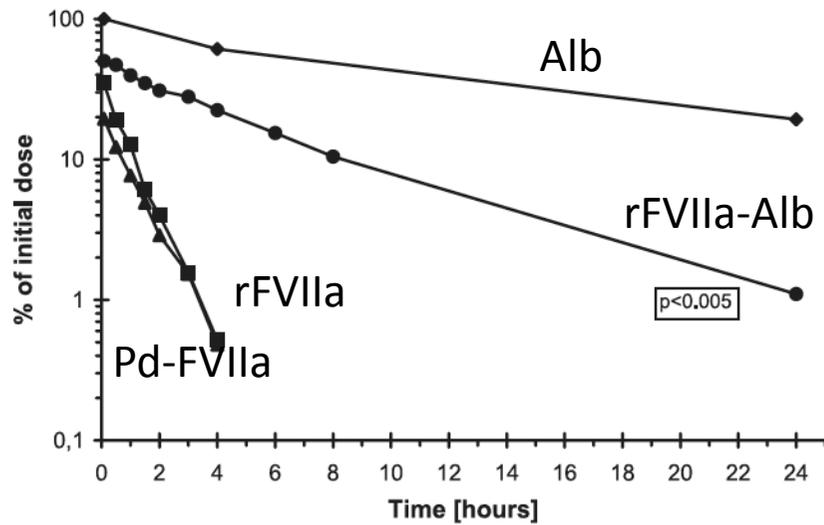


Jennifer A. Dumont et al. Blood 2012;119:3024-3030

Augmentation de la demi-vie des protéines



Albumine fusion

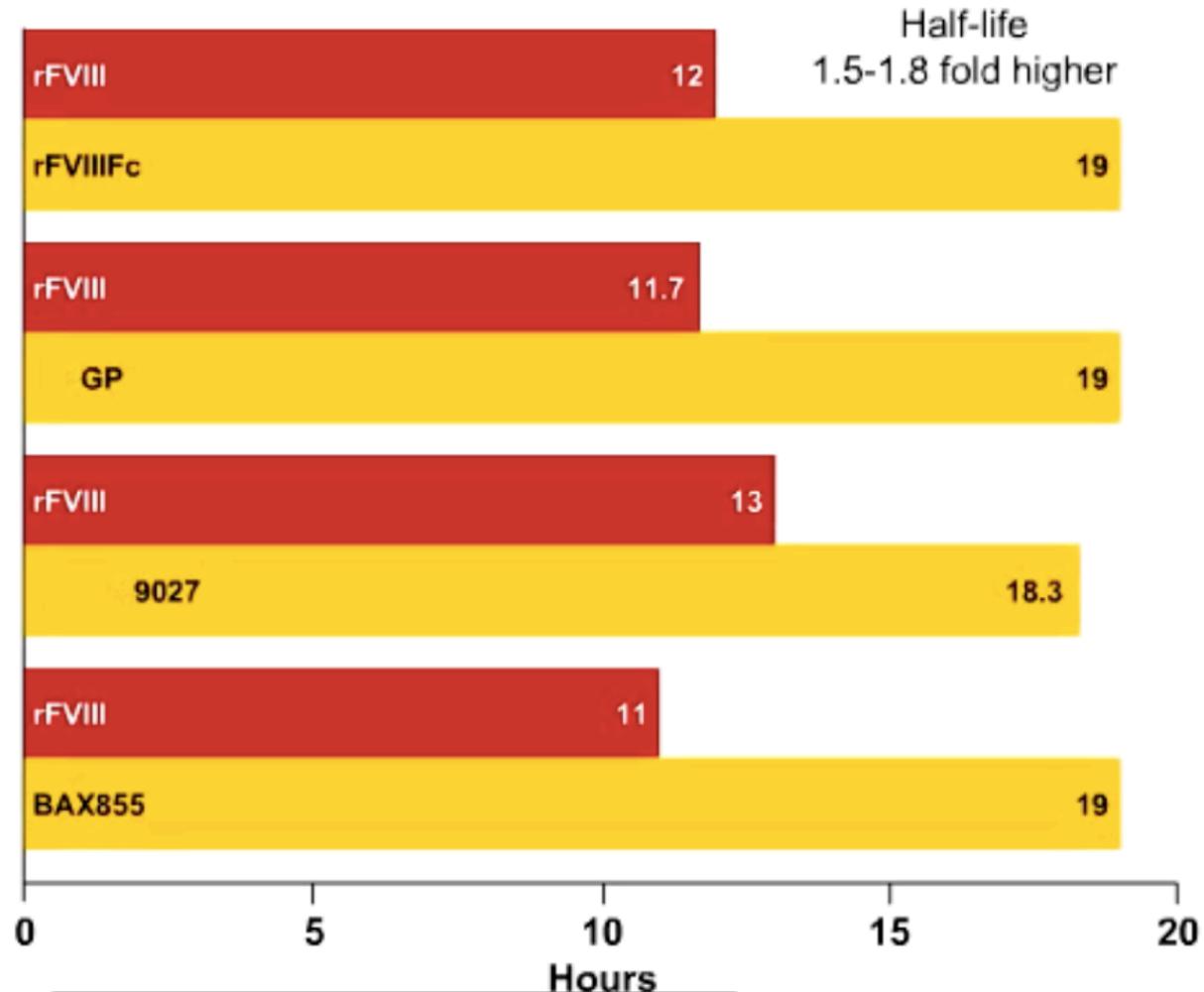


Weimer T et al. Thromb Haemost 2008

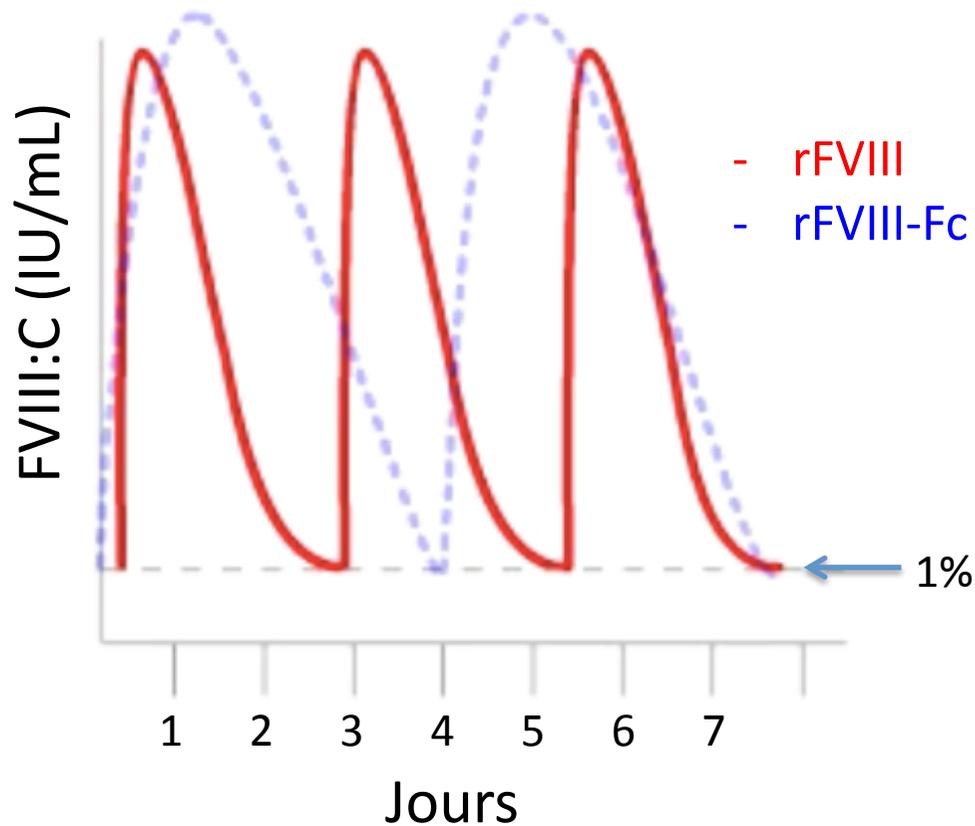
Etudes Cliniques sur les FVIII recombinant à durée de vie allongée :

Produits	Protéine Recombinante	Modification		Status
N8-GP (Turoctologalfa pegol)	rFVIII BDD (Ser750-Gln1638)	PEGylation (sites spécifiques, PEG 40 kDa)	III	Complétée (1 inhibiteur/185 patients))
BAY94-9027	rFVIII BDD (Ser743-Gln1638)	PEGylation (sites spécifiques, PEG 60 kDa)	III	En cours
BAX855 (Adynovate)	rFVIII FL	PEGylation (Nektar Therapeutics)	III	Complétée
rFVIII-Fc (ELOCATE ou ELOCTA)	rFVIII BDD (Ser743-Gln1638)	Fc fusion	III	Complétée

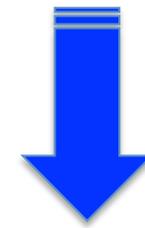
Extension de la demi-vie du FVIII obtenue avec les FVIII recombinant à durée de vie allongée :



Traitement prophylactique amélioré avec les FVIII recombinant à durée de vie allongée



**Prophylaxie actuelle:
2-3 injections par semaine**



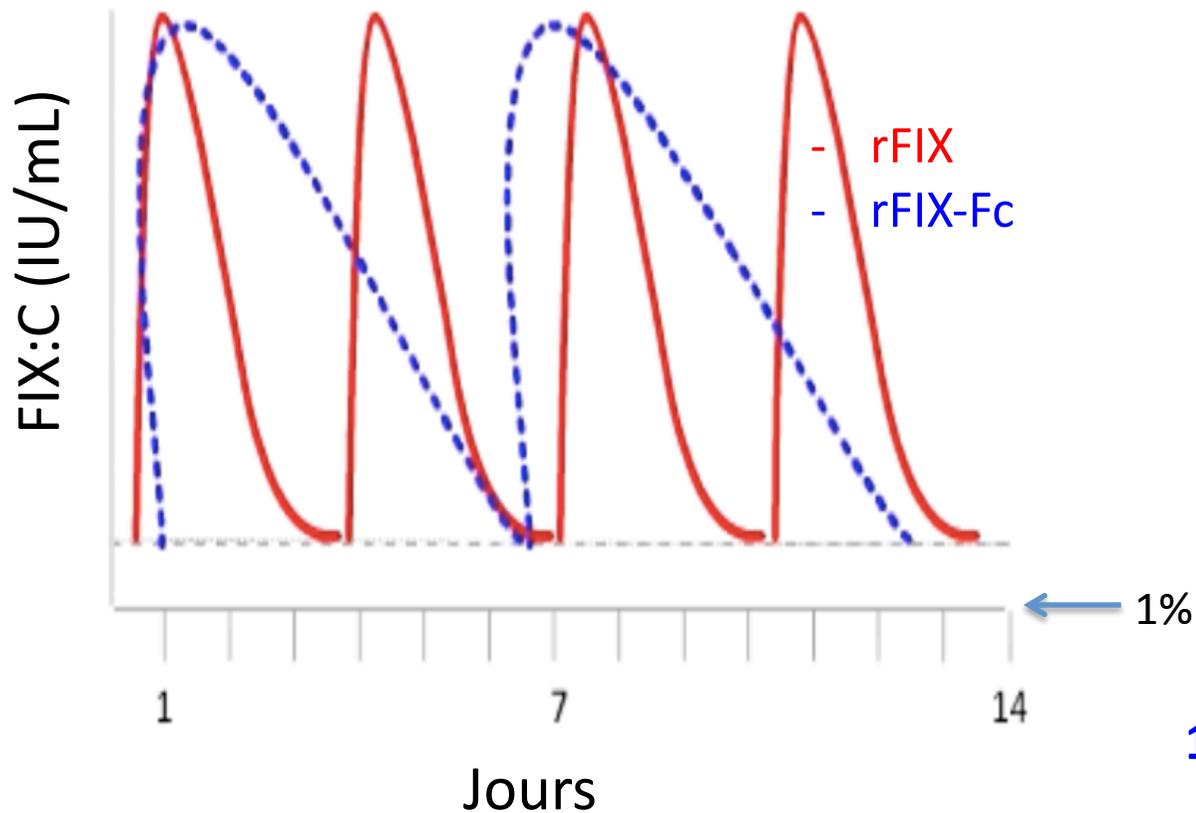
**Prophylaxie future:
1-2 injections par semaine**

**Temps moyen pour maintenir
une activité de FVIII (FVIII:C) > 1%**

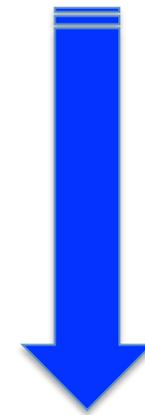
Etudes Cliniques sur les FIX recombinant à durée de vie allongée

Produits	Modification		Status
N8-GP (Turoctologalfa pegol)	PEGylation (sites spécifiques, PEG 40 kDa)	III	Complétée
rFIX-FP IDELVION (Albutrepenonacog alfa)	Fusion avec Albumine	III	Complétée
rFIX-Fc APROLIX (efraloctocog alfa)	Fusion avec fragment Fc	III	Complétée

Traitement prophylactique amélioré avec les FIX recombinant à durée de vie allongée



**Prophylaxie actuelle:
2 injections par semaine**



**Prophylaxie future:
1 injection pour 1-2 semaines**

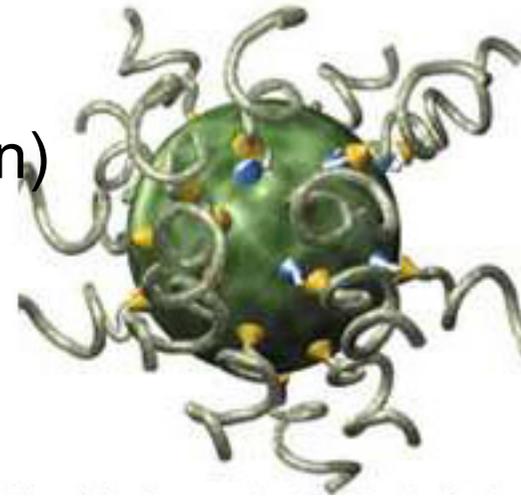
**Temps moyen pour maintenir
une activité de FIX (FIX:C) > 1%**

Etudes Cliniques sur les FVIIa recombinant à durée de vie allongée

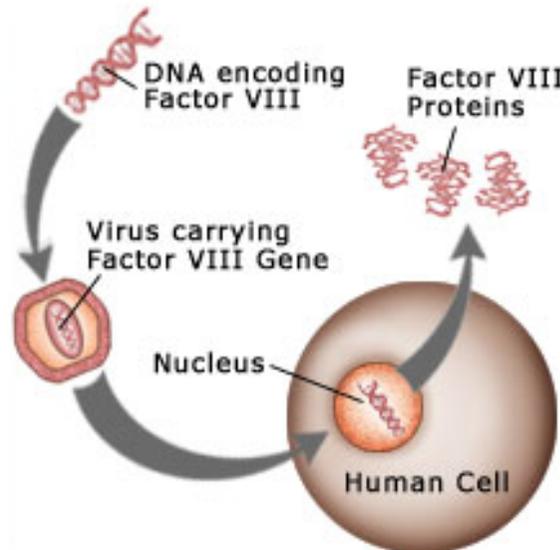
Produits	Modification	Demi-vie		Status
N7-GP	PEGylation (sites spécifiques, PEG 40 kDa)	5 fois augmentée	II/III	Arrêtée
rFVIIa (CSL689)	Fusion avec Albumine	8 fois augmentée	II/III	En cours
BAY86-6150	N-glycosylations	3 fois augmentée	III	Arrêtée

Les options pour de nouveaux traitements :

- Protéines à durée de vie allongée (PEGylation, Fc-fusion, Albumin-fusion)

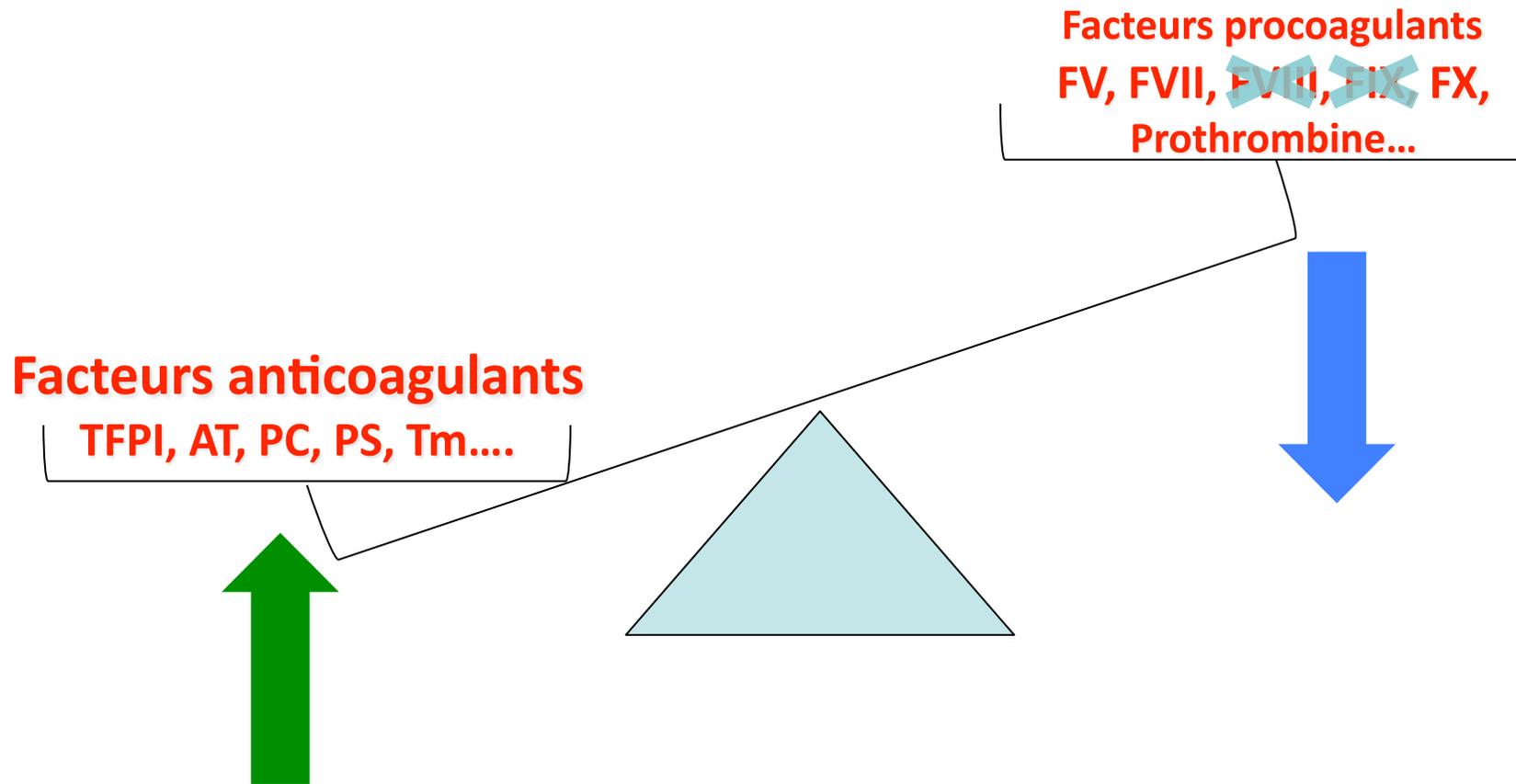


- Des nouveaux agents contournant le défaut FIX-FVIII (FX & FVIIa variants, TFPI, AT-inhibiteurs, traitements s.c, oraux)



- Thérapie génique

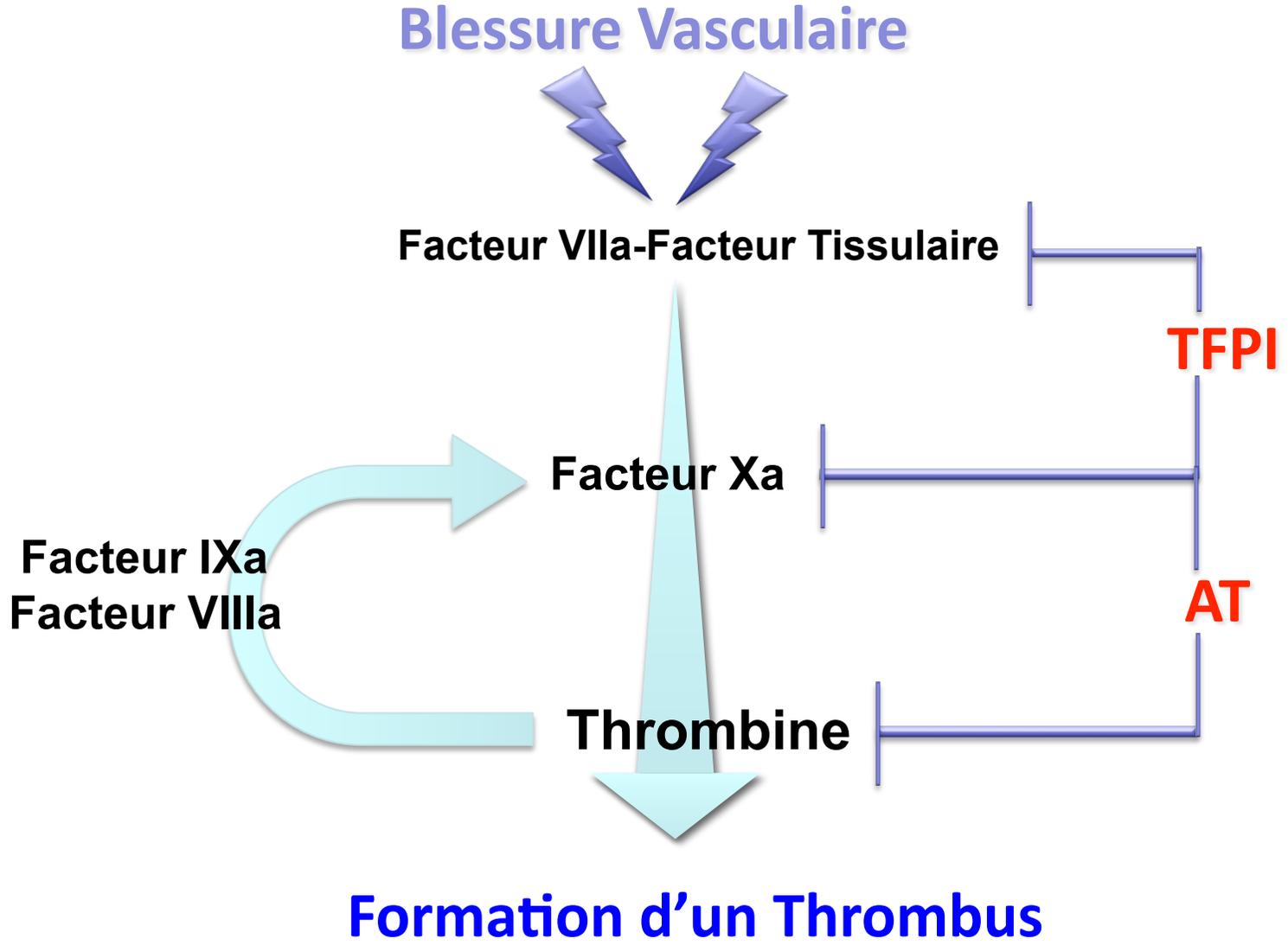
Nouvelles options de traitement de l'hémophilie: Molécules agissant sur l'équilibre facteurs procoagulants/anticoagulants



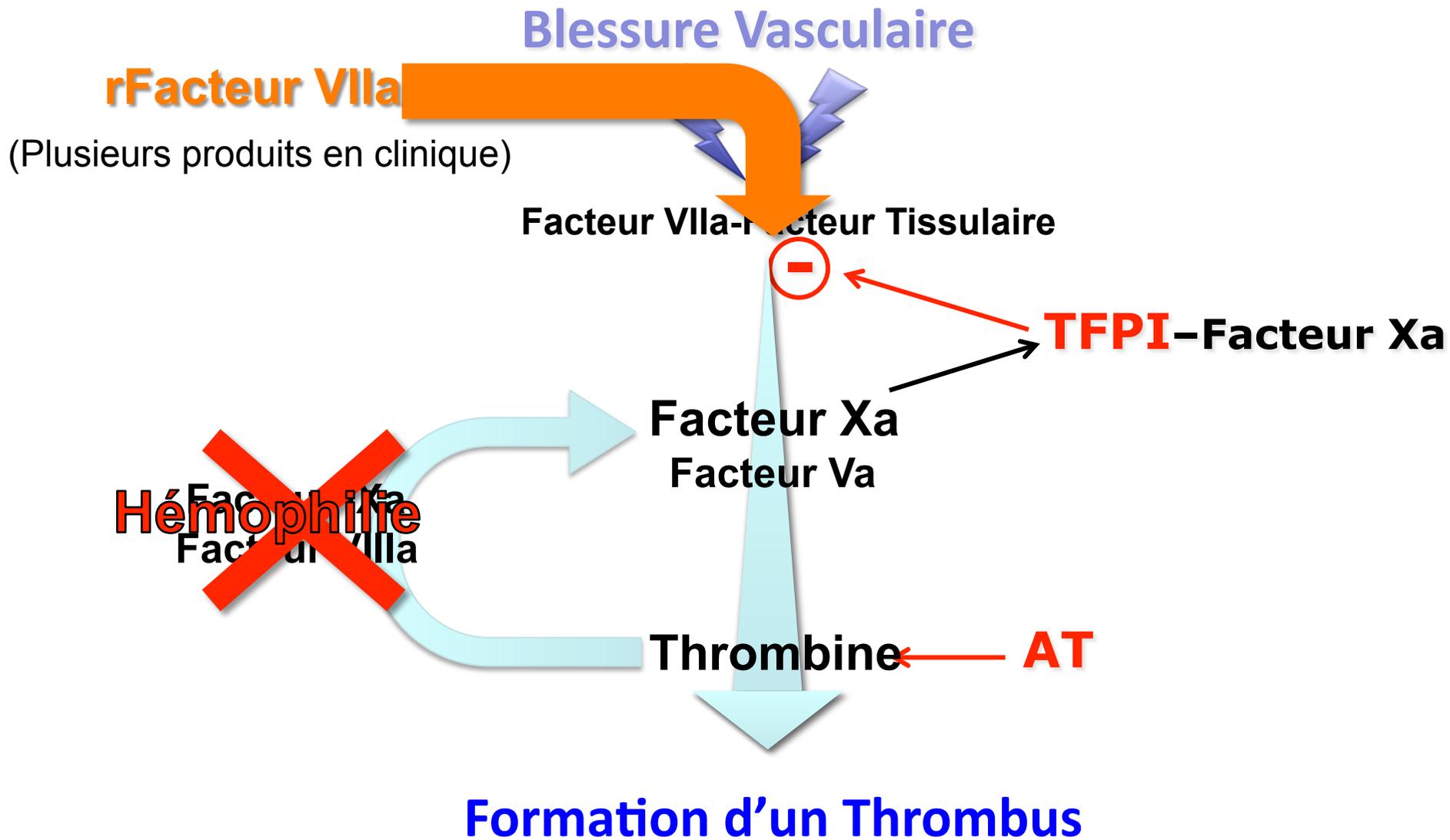
Approche 1 : ajouter des molécules pro-coagulantes

Approche 2 : cibler les inhibiteurs de la coagulation

La coagulation sanguine : phase d'amplification



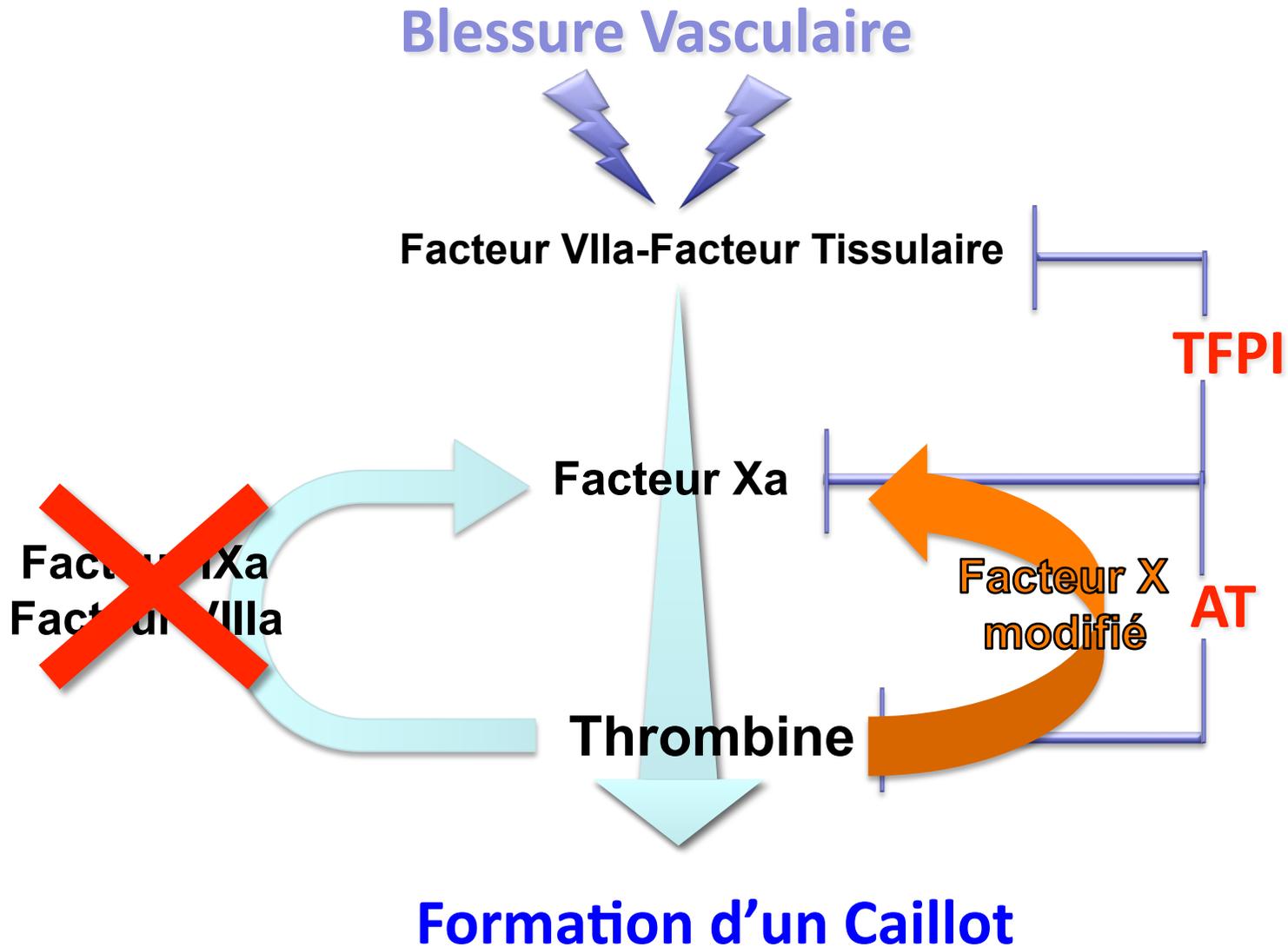
Injecter du FVIIa: restaurer la génération de thrombine



Avantages/Inconvénients du facteur VIIa

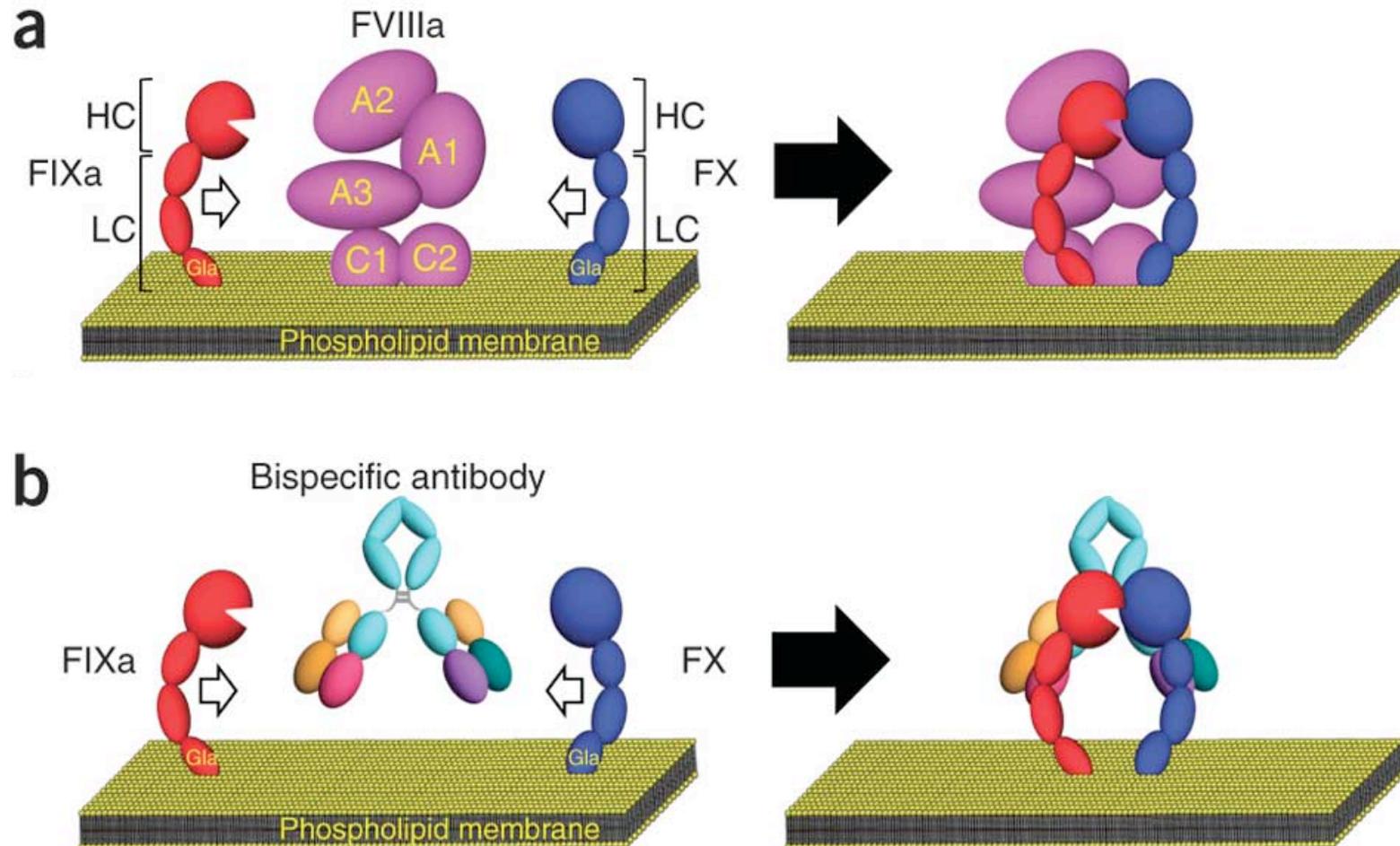
- *Protéine présente chez les hémophiles*
-> risque d'apparition d'inhibiteurs diminuée
- *On peut prolonger sa demi-vie (PEGylation, FC γ 1, huAlb)*
-> réduction du nombre d'injection
- *Permettrait de traiter tous les hémophiles, +/- inhibiteurs*
-> diminution des coûts de production
- *Gène relativement petit,*
-> facilité d'utilisation en thérapie génique
- *Protéine activée,*
-> risque d'évènements thrombotiques???
- *Administration I.V.*
- > traitement reste pénible

Injecter un Facteur X modifié: restaurer l'accélération



Concept démontré chez l'animal (souris Hémophiles A et B +/- inhibiteurs)

Injecter un anticorps bispécifique remplaçant le FVIIIa: ***Emicizumab (ACE910) Roche***



Les réponses apportées par l'Ac bispécifique (Phase clinique III initiée Déc 2015) et le Facteur X modifié (phase pré-clinique)

Risque d'apparition d'inhibiteurs



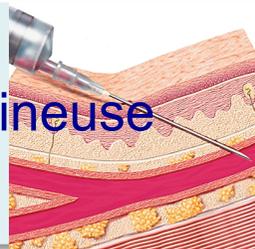
- **Protéines humaines présentent chez les hémophiles**
-> **risque d'apparition d'inhibiteurs diminué**

Plusieurs injections par semaine



- **Possèdent une demi-vie longue (20 jours pour l'Ac bispécifique)**
-> **réduction du nombre d'injection**

Injection par intraveineuse



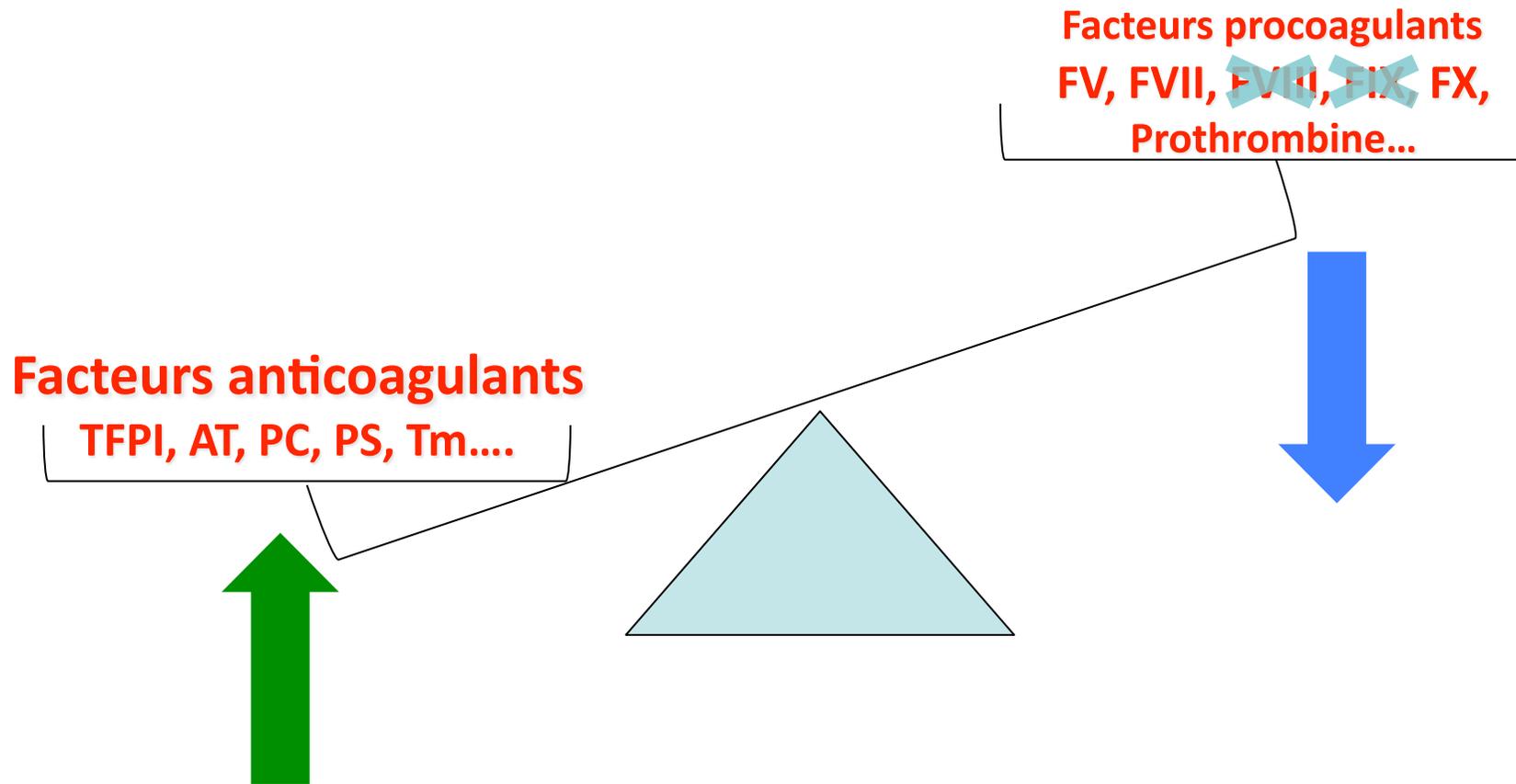
- **Possibilité d'administration sous-cutanée pour l'Ac**
-> **amélioration de la prise du traitement**

Coût du traitement



- **Permettrait de traiter les hémophiles A et B (A uniquement pour l'Ac bispé), +/- inhibiteurs**
-> **diminution des coûts de production**

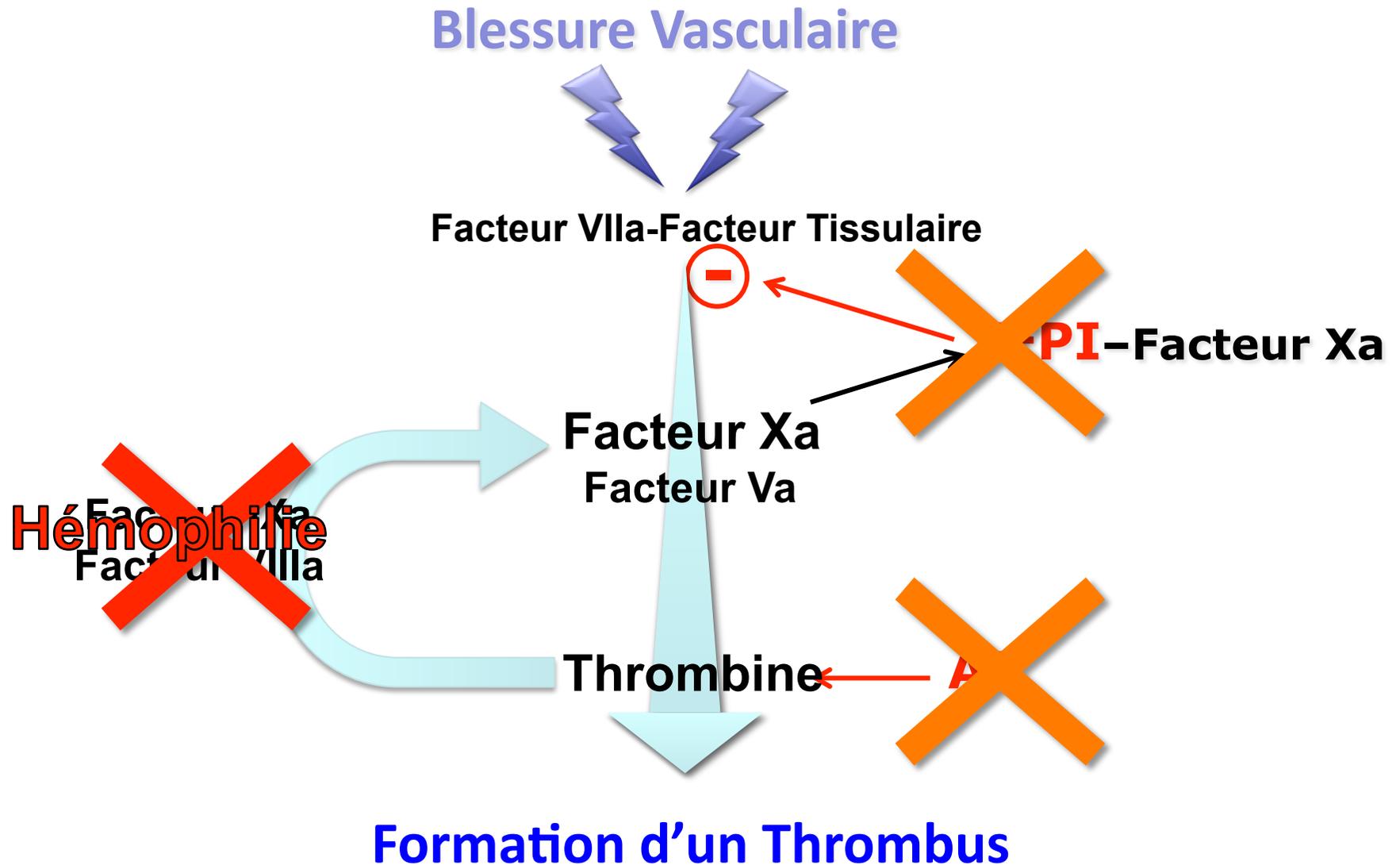
Nouvelles options de traitement de l'hémophilie: Molécules agissant sur l'équilibre facteurs procoagulants/anticoagulants



Approche 1 : ajouter des molécules pro-coagulantes

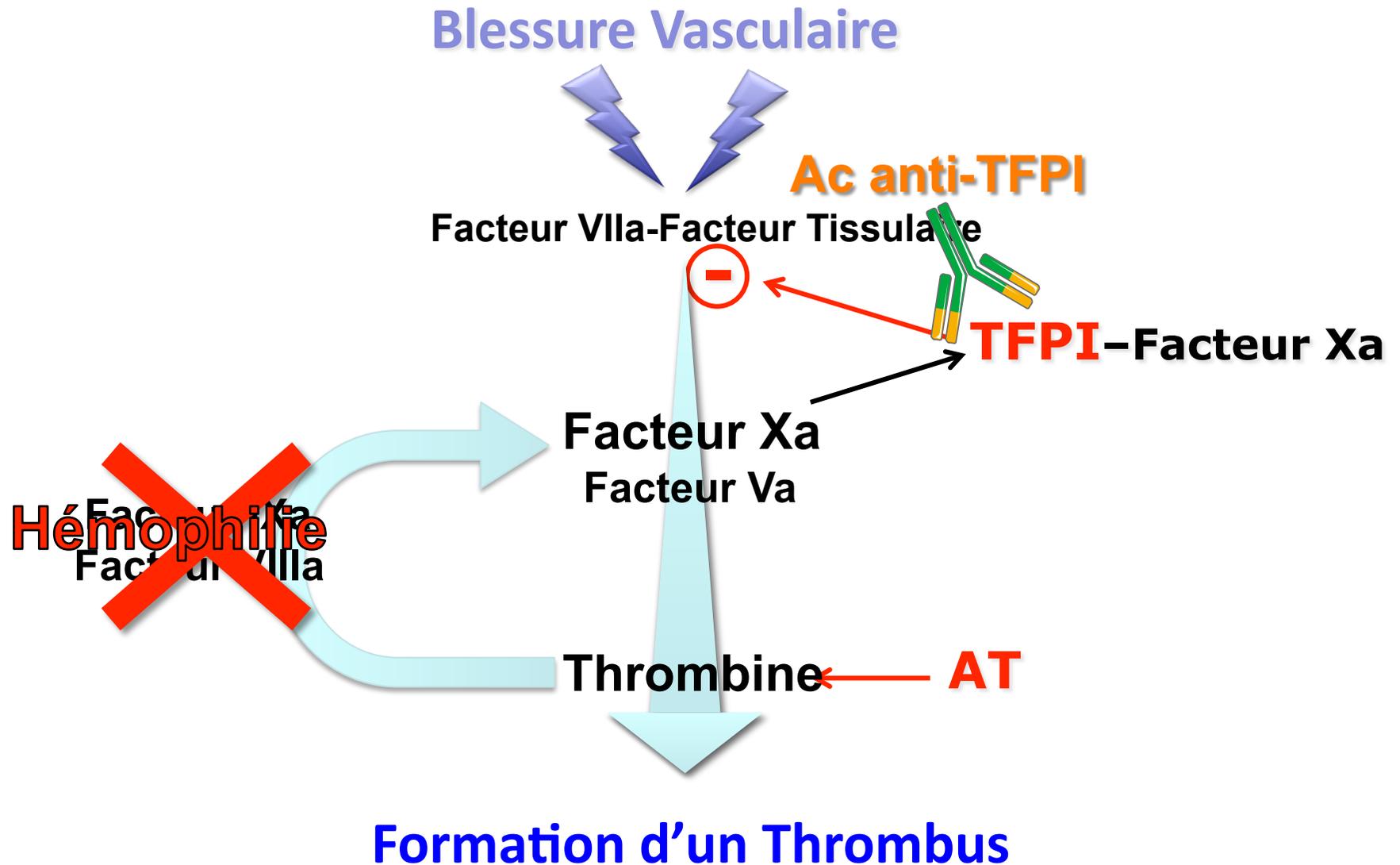
Approche 2 : cibler les inhibiteurs de la coagulation

Approche 2 : cibler les inhibiteurs de la coagulation



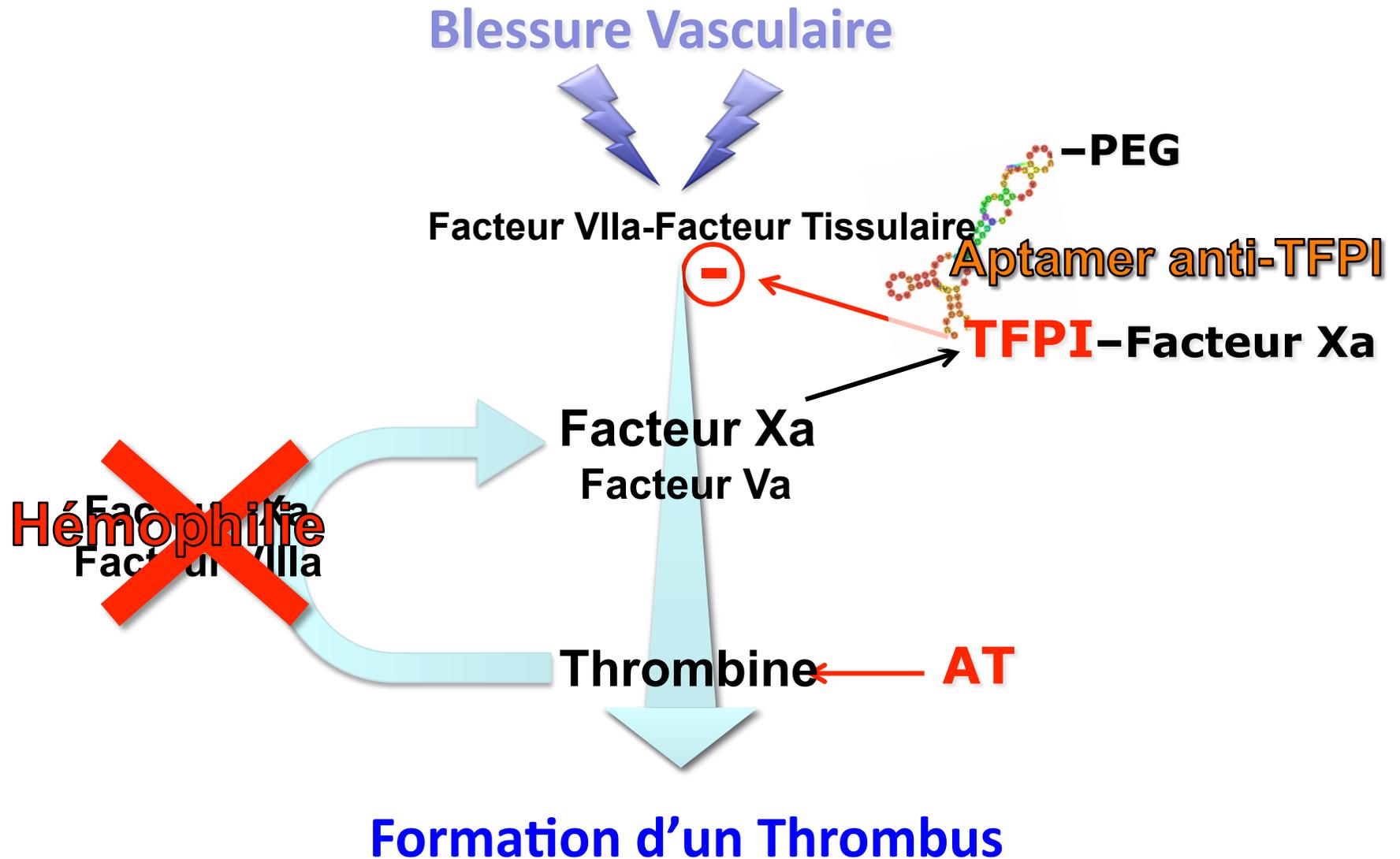
Bloquer l'action du TFPI par un Ac: bloquer un frein naturel

NN7415, Novo Nordisk A/S, Anti-TFPI, phase clinique I/II



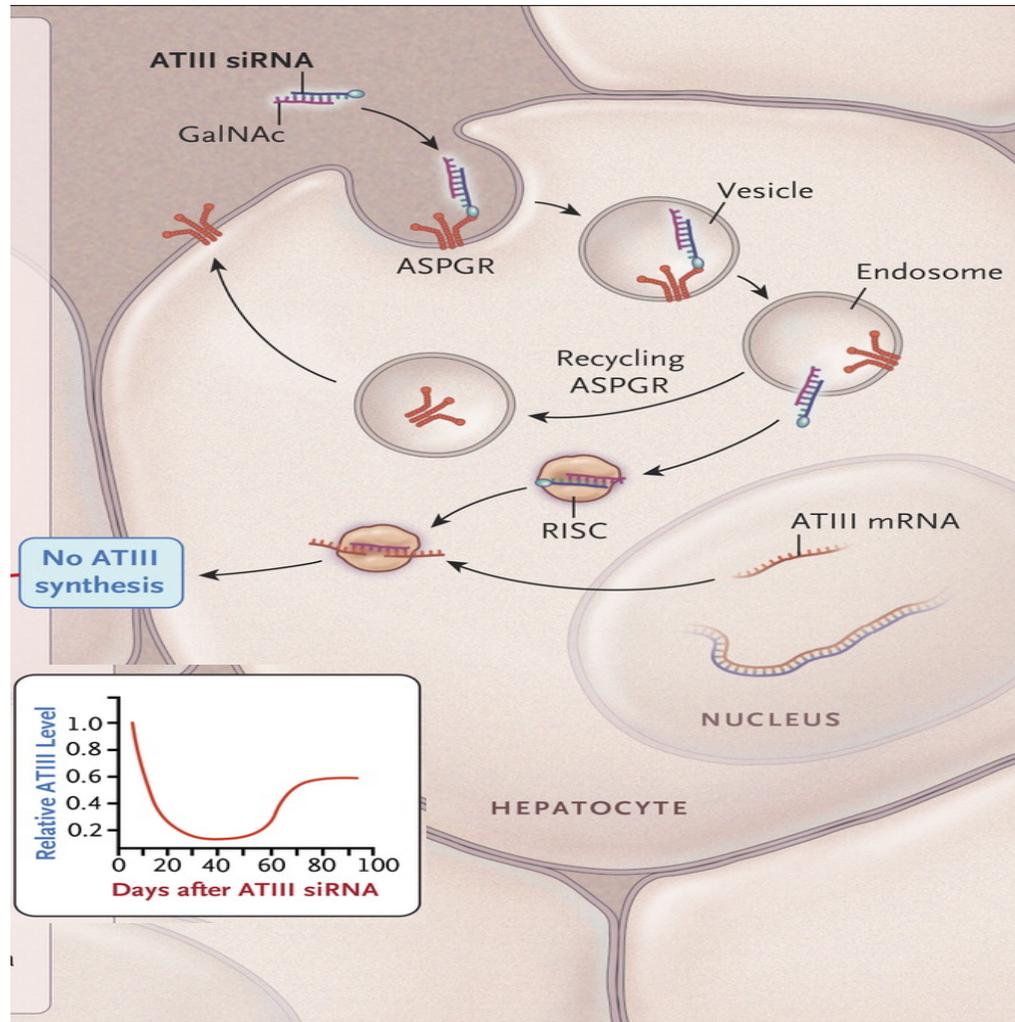
Bloquer l'action du TFPI par un aptamère: bloquer un frein naturel

BAX-499, Baxter, phase clinique I/II arrêtée



Bloquer l'action de l'Antithrombine par un siRNA

(ALN-AT3, Alnylam Pharmaceuticals, phase III programmée)



Ragni MV. *N Engl J Med* 2015;373:389-391.



Les réponses apportées par le siRNA bloquant l'AT et l'Ac anti-TFPI

Risque d'apparition d'inhibiteurs



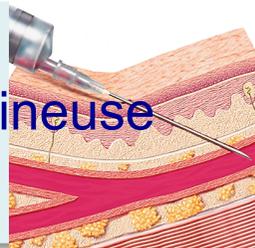
- Molécules bien tolérées par l'organisme
- > risque d'apparition d'inhibiteurs diminuée

Plusieurs injections par semaine



- Possèdent une demi-vie longue (20-30 jours)
- > réduction du nombre d'injection

Injection par intraveineuse



- Possibilité d'administration sous-cutanée
- > amélioration de la prise du traitement

Coût du traitement



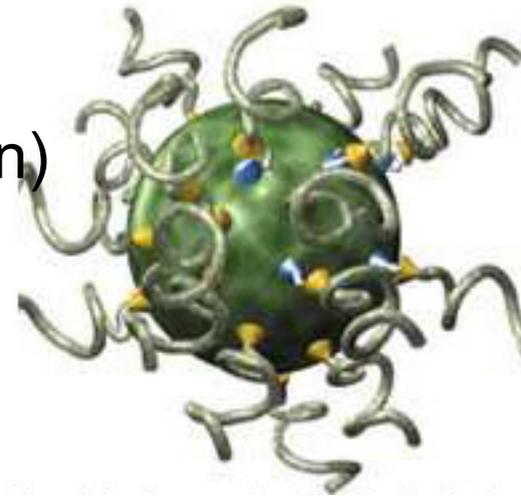
- Permettrait de traiter les hémophiles A et B, +/- inhibiteurs
- > diminution des coûts

Vers quels développements?

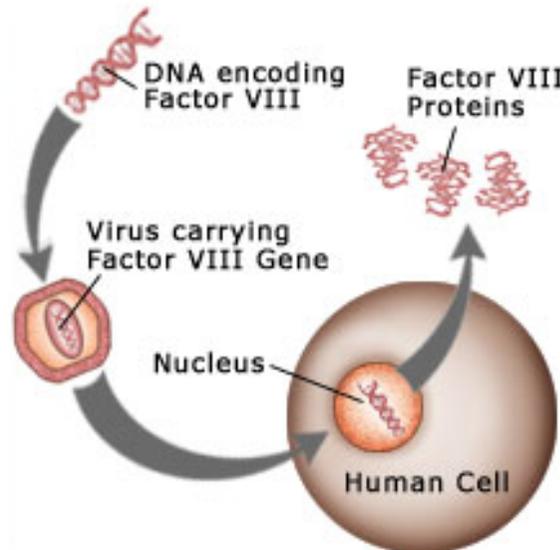
- ***Molécule bien tolérée par l'organisme***
-> **risque d'apparition d'inhibiteurs diminuée**
- ***Possède une demi-vie longue***
-> **réduction du nombre d'injection**
- ***Traitement pour les hémophiles A et B, +/- inhibiteurs***
-> **diminution des coûts de production**
- ***Facilité de développer une antidote si nécessaire au mode d'action***
-> **diminution des risques de thrombose ou autre effet délétère**
- ***Administration sous-cutanée, pourquoi pas orale?***
-> **amélioration de la prise du traitement**
- ***Utilisable en thérapie génique***
-> **possibilité de cure indirecte de la maladie**

Les options pour de nouveaux traitements :

- Protéines à durée de vie allongée (PEGylation, Fc-fusion, Albumin-fusion)

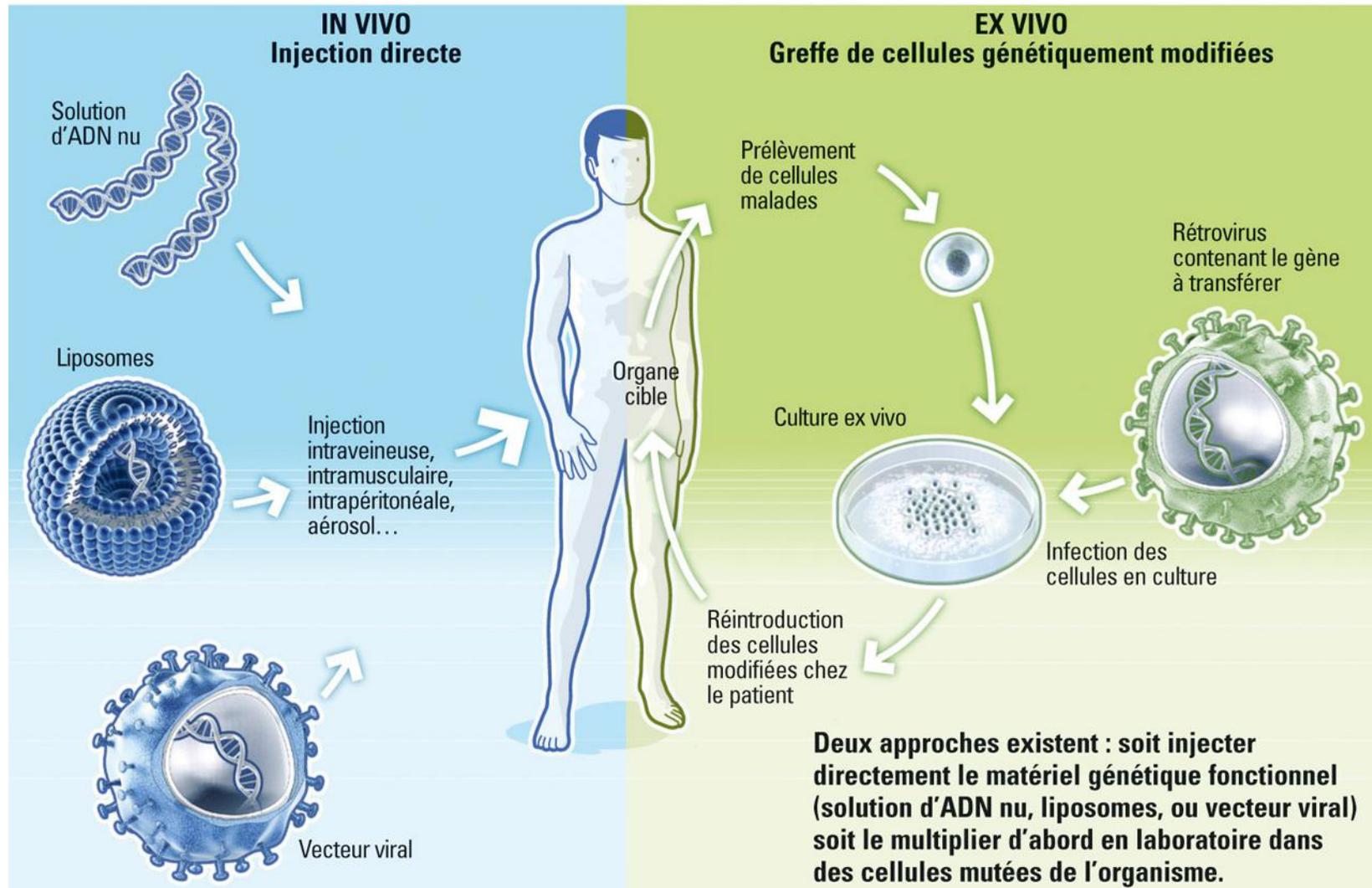


- Des nouveaux agents contournant le défaut FIX-FVIII (FX & FVIIa variants, TFPI, AT-inhibiteurs, traitements s.c, oraux)



- **Thérapie génique**

Deux stratégies principales de thérapie génique pour les patients hémophiles:



Pourquoi la thérapie génique pour l'hémophilie?

- *Les taux modestes de facteur de la coagulation requis pour un effet thérapeutique*
- *Latitude dans le choix du tissu cible*
- *La régulation précise de l'expression n'est pas nécessaire*
- *Le gène du facteur IX est petit et se glisse facilement dans la plupart des vecteurs viraux*
- *Il existe des modèles animaux*

Etudes cliniques et pré cliniques de thérapie génique pour traiter l'hémophilie

Compagnies	Substance active	Description	Indication	Statut (Phase de développement)
Baxter / Chatham Therapeutics LLC	AAV modifié	AAV codant pour le Facteur VIII délété de son domaine B ou le FIX « Padua »	Hémophilie A Hémophilie B	Phase préclinique Phase clinique I/II arrêtée 2016
BioMarin Pharmaceutical/	AAV (BMN 270)	AAV codant pour le Facteur VIII délété de son domaine B	Hémophilie A	Phase clinique I/II, ap.12-28 semaines, 1 patient 10%, 6 patients >50% (2 à 200%)
Dimension Therapeutics Bayer et RENGEX Biosciences	AAV8	AAV-8 codant pour le Facteur VIII délété de son domaine B	Hémophilie A	
Spark Therapeutics (Philadelphia, Etats-Unis)	AAV-8 (SPK-9001)	AAV-8 codant pour le Facteur VIII délété de son domaine B ou le FIX « Padua »	Hémophilie A Hémophilie B	Phase préclinique Phase clinique I/II Après 12-31 semaines 4 patients 21-42%
UniQure (Amsterdam, Pays-Bas)	AAV-5 (AMT-060)	AAV-8 codant pour le Facteur VIII délété de son domaine B ou le FIX « Padua »	Hémophilie A Hémophilie B	Phase préclinique Phase clinique I/II Après 36 semaines 5 patients 2-7%
Shire / Sangamo Biosciences	zZnc finger DNA-binding proteins (ZFPs))	Correction spécifique du gène F8 ou F9	Hémophilie A Ou Hémophilie B	Essai préclinique dans un modèle murin Phase clinique I/II 2016-2017
Biogen Idec/ Fondazione Telethon (Milano, Italy) /Ospedale San Raffaele (Milano, Italy)	Lentivirus	a) permet d'intégrer de plus long gènes, b) expression plus stable des protéines dans le foie (intégration du génome).	Hémophilie A et B	Phase préclinique
REGENX Biosciences	AAV7, AAV8, AAV9, AAVrh10 etc...	AAV contenant le gène F8 ou F9	Hémophilie	Recherche et développement pour thérapie génique utilisant des nouveaux AAV recombi.

