

**223ème séminaire international ENMC**  
**Thérapie génique AAV (Adeno-Associated Virus)-Microdystrophine :**  
**Un essai prêt pour la Dystrophie Musculaire de Duchenne (DMD) ?**

**Organisateurs :**

Diana Ribeiro (Londres, GB), Caroline Le Guiner (Nantes, France), Fulvio Mavilio (Evry, France), George Dickson (Londres, GB).

**Présentation du séminaire :**

Le 223ème séminaire de l'ENMC intitulé « Thérapie génique AAV (Adeno-Associated Virus)-Microdystrophine : un essai prêt pour la Dystrophie Musculaire de Duchenne (DMD) ? » a eu lieu du 16 au 18 septembre 2016 à Naarden, Pays-Bas. Un groupe multidisciplinaire de 21 personnes issues de 7 pays (Royaume-Uni, États-Unis, Allemagne, France, Pays-Bas, Islande et Irlande) a participé à ce séminaire, dont 12 chercheurs cliniciens ou scientifiques, 3 industriels, 2 patients et des représentants des associations de patients suivantes : *AFM*, *MDUK*, *Action Duchenne*, *Join our Boys* et *Living with Duchenne*. Ce séminaire ENMC était le tout premier organisé sur la thématique de la thérapie génique pour DMD. Les discussions ont été divisées en 4 sessions, balayant les sujets suivants: l'état de l'art et les autres exemples de thérapie génique AAV; les études précliniques avec les vecteurs AAV-microdystrophine; la production GMP des vecteurs AAV et leur toxicité/immuno-toxicité ; la conception et la mise en place des essais cliniques de thérapie génique pour la DMD. Le but du séminaire était de partager et de compiler en un rapport les opinions des experts du domaine sur: (i) les essais de thérapie génique AAV en cours ou prévus, (ii) le développement des vecteurs AAV-microdystrophine, (iii) la production et la toxicité des vecteurs AAV, (iv) l'immunogénicité des vecteurs AAV et des transgènes, et (v) la conception et la mise en place des essais cliniques de thérapie génique pour la DMD.

**Déroulé et conclusions du séminaire :**

La thérapie génique basée sur l'utilisation de vecteurs viraux permettant de restaurer une expression de la dystrophine est considérée par beaucoup comme une approche prometteuse pour traiter directement la cause génétique de la DMD. De nombreux vecteurs viraux différents existent, chacun ayant des propriétés spécifiques. Les Virus Adéno-Associés (AAV) ont la caractéristique d'être naturellement non pathogènes. Ils ont été utilisés et bien caractérisés lors d'études précliniques, et récemment même dans des essais cliniques de thérapie génique, par exemple pour l'amyotrophie spinale et l'hémophilie. De nombreux challenges sont à relever pour la thérapie génique AAV, que ce soit en général ou plus particulièrement pour le traitement de la DMD. Le gène codant pour la protéine dystrophine complète est trop grand pour pouvoir être inséré dans un vecteur de thérapie génique AAV. Pour cette raison, de nombreux gènes appelés microdystrophines ont été artificiellement conçus, afin d'être assez petits pour s'adapter à un vecteur AAV, tout en gardant la plupart, si ce n'est toutes, des fonctions de la dystrophine naturelle qui contient des domaines dits « indispensables ». Les différentes approches pour le développement de ces microdystrophines ont été discutées en détail. Le mode d'administration des vecteurs viraux, pour délivrer le gène thérapeutique et exprimer la microdystrophine dans les muscles squelettiques, le diaphragme et le cœur, a également été discuté en détails. Deux types de vecteurs AAV (AAV8 et AAV9) ont été décrits pour l'administration de la microdystrophine, et semblent être aujourd'hui les plus adaptés et développés pour la thérapie génique de la DMD. Ces deux types de vecteurs ont été étudiés dans les modèles animaux de la DMD (souris, rat, chien) avec des résultats significativement positifs, en termes de réduction de la dégénérescence du muscle, de la fibrose et d'amélioration de la fonction musculaire, avec des paramètres cliniques (mouvements, démarches, respiration) stabilisés voire améliorés. Une expression durable de la microdystrophine ainsi que des améliorations cliniques ont été observées pendant au moins 2 ans après l'administration unique du vecteur de thérapie génique AAV. L'efficacité de cette thérapie génique ciblant des territoires musculaires larges requiert l'injection de doses relativement élevées de vecteurs AAV, ce qui challenge le développement des méthodes de production et pourrait limiter le nombre de patients qui pourrait être recrutés dans les essais cliniques. Le transfert de la production des vecteurs AAV du niveau des laboratoires au grade pharmaceutique semi-industriel demande des investissements significatifs pour s'ajuster aux contraintes liées à la pureté, l'efficacité et la biosécurité qui sont requis pour les essais cliniques chez l'Homme. Les différentes méthodes pour générer les quantités nécessaires de produit purifié pour les essais cliniques DMD, et qui sont actuellement évaluées, ont été discutées en termes d'efficacité et de faisabilité de la production. La biosécurité et les réponses immunes liées aux vecteurs AAV et aux produits microdystrophine ont été discutés de manière exhaustive. Alors qu'aucune réponse immunitaire indésirable n'est généralement observée dans les études chez l'animal, les essais cliniques passés et en cours chez l'Homme ont montré que des élévations faibles et transitoires des transaminases sériques, le plus vraisemblablement liées à des réponses immunitaires contre la surface du vecteur AAV (appelée la capsid), peuvent avoir lieu. De telles réponses chez l'Homme ont toujours été asymptomatiques (sous des niveaux pouvant générer des effets indésirables graves), mais ont tout de même été traitées par une

immunosuppression légère et transitoire à base de stéroïdes (glucocorticoïdes). Il a été évoqué le fait que les patients DMD qui seraient recrutés dans les essais cliniques AAV-microdystrophine seront tous très probablement déjà sous traitement stéroïde, ce qui est considéré comme une situation avantageuse, même si les doses de stéroïdes auront sans doute à être temporairement ajustées. Il a aussi été discuté que soit à cause d'une exposition aux AAV, préalable à la thérapie génique, ou soit à cause d'un premier traitement de thérapie génique AAV, la présence d'anticorps contre l'AAV chez les patients reste aujourd'hui une barrière à une administration (ou à une ré-administration d'une seconde dose) efficace. Il a été noté que des approches pour prévenir ou contourner ces effets sont en cours de développement, mais seront probablement compliqués. La discussion autour de la conception des essais cliniques a indiqué que ces essais devraient suivre des approches standardisées dans la spécialité avec des petites études initiales de biosécurité et d'escalade de dose (Phase I et Phase II), soit avec des objectifs initiaux centrés sur la biosécurité et la tolérance au traitement, et des objectifs secondaires permettant de suivre l'expression de la microdystrophine, les paramètres immunitaires, les profils IRM musculaires et la fonction musculaire du point de vue clinique. En raison des aspects particuliers des essais de thérapie génique AAV où une première administration empêcherait une seconde administration à une dose plus forte, il a été noté et discuté que dans les études d'escalade de dose, une considération particulière sera requise pour la définition de la dose initiale et le recrutement des patients dont il faudra obtenir le consentement éthique. Un rapport complet de ce séminaire ENMC sera publié dans *Neuromuscular Disorder* durant le premier semestre 2017

### **Participants :**

Eduard Ayuso (Nantes, France), Anna Buj-Bello (Evry, France), Serge Braun (Paris, France), Jeff Chamberlain (Seattle, USA), Marinee Chuah (Brixelles, Belgique), George Dickson (Londres, GB), Dongsheng Duan (Missouri, USA), Ward Greve (Pays Bas), Caroline Le Guiner (Nantes, France), Michael Linden (Londres, GB), Fulvio Mavilio (Evry, France), Anna Mayhew (Newcastle, GB), Francesco Muntoni (Londres, GB), Paula Naughton (Dublin, Irlande), Guðjón Reykdal Óskarsson (Islande), Diana Ribeiro (Londres, GB), Jude Samulski (Floride, USA), Laurent Servais (Paris, France), Volker Straub (Newcastle, GN), Thierry VandenDriessche (Brussels, Belgium), Jenny Versnel (Londres, GB), Jim Wilson (Philadelphie, USA).  
A rapport complet sera publié dans *Neuromuscular Disorders*.