



ACADÉMIE NATIONALE DE PHARMACIE

SANTE PUBLIQUE - MEDICAMENT - PRODUITS DE SANTE - BIOLOGIE - SANTE ET ENVIRONNEMENT

Fondée le 3 août 1803 sous le nom de Société de Pharmacie de Paris

Reconnue d'utilité publique le 5 octobre 1877

VEILLE SCIENTIFIQUE

LETTRE n° 28

éditée sous l'égide de la *Commission Prospective scientifique et Programmation*

Ce document résulte d'une veille prospective de l'Académie nationale de Pharmacie réalisée périodiquement dans le domaine de la santé et de l'innovation thérapeutique ainsi que dans le domaine de l'environnement/santé. Elle cherche également à mettre en relief les start-ups ou Biotechs impliquées dans ces mêmes domaines.

Pour faciliter la lecture, les informations sont signalées par des lettres : F pour recherche fondamentale ; P pour recherche préclinique ; C pour recherche clinique.

SOMMAIRE

Des généralités sur l'innovation ou des mesures pour l'innovation

1. Les nouvelles AMM en Europe en 2014
2. L'emploi scientifique en France (1^{re} partie)

Innovations scientifiques et thérapeutiques

3. Des cellules souches humaines pour tester de nouveaux candidats médicaments (P)
4. L'innovation thérapeutique : à quel prix ? (C)
5. L'arglabine, un inhibiteur de l'« inflammasome », pour lutter contre les maladies cardiovasculaires (F)
6. Hnf1b, un gène-clé dans la formation du pancréas pour le traitement du diabète et du cancer (F)
7. Abaisser le LDL-cholestérol sanguin, c'est bon, mais jusqu'où peut-on aller ? (C)
8. Chlorure de lithium et myasthénies congénitales (F)
9. Un nouveau concept en oncologie : les biopsies liquides (F)
10. Des antiagrégants plaquettaires pour limiter la sévérité de la grippe (F)
11. Toxicité chronique du paracétamol (C)
12. Cancer de l'ovaire, les traitements hormonaux de la ménopause en ligne de mire (C)

Santé & Environnement

13. Une signature épigénétique de l'obésité (C)

Biotechs

1. Les nouvelles AMM en Europe en 2014

En 2014, 43 nouveaux médicaments, ou associations de médicaments, ont été autorisés par la commission européenne. Ce bilan atteste d'une part que le dynamisme de la recherche pharmaceutique en Europe ne faiblit pas (49 médicaments autorisés en 2013) et d'autre part qu'il est l'exacte symétrie des nouveaux médicaments autorisés par la FDA pour la même période (47 en 2014 contre 44 en 2013) (voir l'article consacré à ce bilan dans la Lettre de veille scientifique n° 26).

Plusieurs remarques sont à faire à propos de ce bilan. Au premier plan, on notera que l'innovation porte surtout sur des médicaments orphelins (12 des 43), une tendance amorcée depuis 2011 et qui s'accroît de bilan en bilan, et un nombre croissant de médicaments pédiatriques (8 des 43). Comme dans le bilan FDA c'est dans les domaines de l'infectiologie (médicaments contre hépatite C et HIV) puis la cancérologie qui dominent le classement de ces innovations par aires thérapeutiques. Les médicaments destinés au traitement du diabète de type 2 (6 des 43) suivent de près en troisième position suivies des médicaments de la « neuropsychiatrie » (traitements des formes récurrentes de sclérose en plaques) et de la pneumologie (surtout contre la bronchopneumopathie chronique obstructive) avec respectivement 5 et 4 innovations. Comme pour le classement FDA, les médicaments innovants en cardiologie et en néphrologie ferment la marche de ce classement. 11 de ces innovations ont fait l'objet d'une ATU (Autorisation transitoire d'utilisation) de cohorte (contre 3 en 2013), essentiellement en infectiologie (hépatite C et tuberculose multirésistante) et en oncologie. 7 sont des médicaments issus des biothérapies pour le traitement de maladies métaboliques et inflammatoires rares. Enfin, 6 de ces AMM ont été délivrées en Europe (5 aux États-Unis) pour des médicaments ayant un biomarqueur (exemple de la mutation non-sens dans le gène de la dystrophine pour l'ataluren, TRANSLARNA®) (voir Lettre de veille scientifique n° 25).

Il est à remarquer que depuis la mise en place des réglementations sur les médicaments orphelins (1983 aux États-Unis, 1999 en Europe) plus de 4600 autorisations ont été accordées et ce rythme soutenu ne cesse de s'accroître de part et d'autre de l'Atlantique. Sont concernées de nombreuses pathologies dont les plus fréquemment visées sont les maladies génétiques, métaboliques, neuromusculaires, les maladies infectieuses et l'oncologie (notamment le cancer du pancréas). Les produits issus des biotechnologies occupent une place de choix parmi ces médicaments orphelins avec de très loin les anticorps de tous types (monoclonaux, polyclonaux, bispécifiques, conjugués, chimériques, radio-marqués, etc.), les inhibiteurs de protéines (tyrosine kinase, multikinases, histone déacétylase, protéasome, etc.). Les produits de thérapie cellulaire et génique font également leur percée.

Parmi les produits ayant obtenu le statut de médicaments orphelins il faut remarquer qu'un très grand nombre d'entre eux émanent de sociétés et de laboratoires du monde académique, moins de 10 % d'entre eux étant issus des grandes firmes pharmaceutiques... qui les commercialisent au final. Il faut aussi se rappeler que les durées nécessaires pour le développement en phase III d'un médicament orphelin et d'un médicament classique sont globalement identiques, mais leur temps d'enregistrement respectif est légèrement plus court pour les médicaments orphelins.

Source : www.ema.europa.eu

2. L'emploi scientifique en France (1^{re} partie)

Les services du Ministère de l'Éducation nationale, de l'Enseignement supérieur et de la Recherche (MENESR) viennent de publier (décembre 2014) un rapport très intéressant sur l'emploi scientifique en France (chercheurs, enseignants-chercheurs, personnel de soutien, doctorants, etc.) dans les secteurs publics (établissements publics de recherche type CNTS, Inserm, INRA [les EPST], les Universités, les Grandes Écoles) et privés (essentiellement industriels). Une synthèse de cet important document est présentée dans cette lettre de veille et dans les suivantes.

1^{re} partie : caractéristiques générales de l'emploi scientifique en France

L'emploi scientifique regroupant l'ensemble des personnes travaillant directement sur des projets de recherche et de développement (R&D), que ce soit à temps plein ou partiel, dans le secteur public ou privé est en augmentation régulière (22 % entre 2001 et 2011) dans un contexte de concurrence internationale croissant. Au niveau mondial, la France se place au 8^e rang des pays pour son nombre de chercheurs et en 3^e position au sein de l'Union européenne derrière l'Allemagne et le Royaume-Uni. Si la position respective des 5 pays qui emploient le plus de chercheurs (États-Unis, Chine, Japon, Russie, Allemagne) n'a pas changé depuis 2000, la France qui occupait la 6^e place en 2000 a été dépassée par le Royaume-Uni en 2001, puis par la Corée du Sud en 2007. Si l'on rapporte l'effectif des chercheurs au nombre d'actifs, la France avec 8,8 chercheurs pour mille actifs se place au 7^e rang mondial derrière le Japon et les États-Unis, mais devant l'Allemagne, le Royaume-Uni et l'Espagne, et son effectif est supérieur à celui de la moyenne de l'Union européenne. Il est intéressant de noter que certains pays européens ayant une population limitée occupent les premiers rangs mondiaux comme la Finlande (1^{er} !) et la Suède (5^e) avec respectivement 14,8 et 9,8 chercheurs/mille actifs.

La France est un pays d'accueil pour les jeunes chercheurs, car elle compte un nombre important de doctorants étrangers (42 %), dont un nombre significatif de ressortissants de pays asiatiques (31 % des doctorants étrangers), mais derrière les doctorants de pays africains (35 %) et 18 % des ressortissants européens. Cette capacité d'accueil se retrouve également pour les chercheurs confirmés, aussi bien pour les séjours de courte durée que de long terme. À titre d'exemple, 14 % des chercheurs permanents et titulaires des Établissements publics à caractère scientifique et technique (EPST) et 9 % des enseignants-chercheurs sont de nationalité étrangère en 2012. Dans le secteur des entreprises cette proportion est moins importante (5 % en 2011), dont près de la moitié en provenance de l'Union européenne.

Près des deux tiers de l'emploi scientifique sont concentrés dans 4 régions de France (64 % de l'effectif R&D) : Île-de-France (38 % des chercheurs), Rhône – Alpes, Midi – Pyrénées et Provence – Alpes – Côte d'Azur. Plus d'un doctorant sur 3 prépare et soutient sa thèse en région Île-de-France.

Résultat d'une croissance plus importante dans les entreprises en dix ans que dans le secteur public (29 vs 10 %), l'emploi scientifique est en 2011 plus important dans le secteur des entreprises (60 %) que dans le secteur public (hors entreprises publiques). La recherche en entreprise exécutée en France est aussi très concentrée : les grandes entreprises avec plus de 100 chercheurs, qui représentent 1 % des entreprises faisant de la R&D, regroupent 56 % des chercheurs et 62 % de la dépense de R&D. Ces chercheurs en entreprises sont aussi plus jeunes que ceux du secteur public. De même, l'entrée des chercheurs en entreprise se fait plus tôt (vers 25 ans) et le plus souvent avant le doctorat, à la différence des chercheurs du secteur public. En 2011, 55 % des chercheurs en entreprise avaient un diplôme d'ingénieur comme diplôme le plus élevé et 16 % un master ou équivalent (seuls 12 % avaient un doctorat).

Les universités regroupent 43 % des personnels de R&D et 48 % des chercheurs (30 % dans les EPST). Comme écrit plus haut, leur âge pour la titularisation est plus élevé que dans le secteur privé : les moins de 35 ans représentent 8 % des effectifs et 27 % ont plus de 55 ans (7 % dans les entreprises). C'est dans le domaine des sciences de la vie que la titularisation se fait le plus tardivement (36 ans pour un Maître de Conférences), du fait de la nécessité quasi incontournable d'une (ou de plusieurs) période(s) « postdoctorale(s) ».

Enfin, et comme on pouvait s'y attendre, les femmes occupent une place le plus souvent minoritaire dans les métiers de la recherche (34,7 % des chercheurs du secteur public et moins de 30 % chez les professeurs et directeurs de recherche). Dans le secteur des entreprises, la part des femmes est encore plus faible : 20 % depuis 2000. À l'inverse, le « vivier » des chercheurs est plus favorable au progrès de la parité, la part des femmes dans l'effectif global des doctorants étant de 48 % en 2013.

À venir (Lettres n° 29 et n° 30) : les jeunes docteurs et la recherche, puis la place de la France dans l'environnement international.

Source : L'état de l'emploi scientifique en France. MENESR et Département des stratégies de ressources humaines, de la parité et lutte contre les discriminations. www.enseignementsup-recherche.gouv.fr

3. MSD AVENIR

Le groupe pharmaceutique américain Merck & Co, à travers sa filiale française MSD France, a annoncé aujourd'hui la création en France d'un fonds de dotation de 75 millions d'euros sur 3 ans, MSDAVENIR, pour accélérer sa stratégie de partenariats en matière de recherche.

MSDAVENIR aura pour objectif de faire progresser la recherche dans les sciences du vivant, tant grâce à des coopérations avec des organismes de recherche qu'avec des porteurs de projets innovants. Ce lancement se concrétise dès aujourd'hui par la signature de partenariats avec l'Institut Pasteur et l'agence de recherche ANRS (Agence nationale de Recherche sur le sida et les hépatites virales). Il vient compléter un programme important de développement en matière d'essais cliniques et de coopérations public – privé, dans les territoires.

Il comprend trois projets :

- le projet BIRDY pour les infections bactériennes et l'antibiorésistance ;
- le projet PIBnet : constituer un réseau de surveillance des épidémies et des maladies infectieuses ;
- le projet Étude pVISCONTI : malgré les avancées très importantes au cours des 20 dernières années, les traitements antirétroviraux ne permettent pas d'éradiquer le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) de l'organisme. L'étude ANRS EP47 « VISCONTI » a identifié une vingtaine de patients avec une durée de rémission pouvant aller, dans certains cas, jusqu'à 13 années après l'interruption des traitements antirétroviraux.

Le consortium ANRS RHIVIERA a pour objectif de :

- comprendre les mécanismes sous-jacents au contrôle de l'infection par le VIH dans cette population ayant initié un traitement rapidement après avoir contracté le virus ;
- identifier les biomarqueurs qui prédisent la rémission chez les différents patients infectés, afin de pouvoir programmer l'interruption de leur traitement ;
- développer de nouvelles stratégies permettant à la majorité des patients infectés par le VIH, y compris ceux qui ont initié plus tardivement leur traitement, de bénéficier de l'état de rémission de l'infection observée chez les patients de l'étude ANRS EP 47 VISCONTI.

Source : http://www.msdavenir.fr/projet_etude-pvisconti.html

Innovations scientifiques et thérapeutiques

4. Des cellules souches humaines pour tester de nouveaux candidats médicaments

La société Axiogenesis AG annonce l'autorisation par la FDA de commercialiser des préparations de cardiomyocytes différenciés à partir de cellules souches pluripotentes humaines (iPSC), pour réaliser des études précliniques *in vitro* très précoces d'électrophysiologie, afin de tester l'efficacité et la sécurité potentielles de nouveaux candidats médicaments avant de passer à des modèles plus sophistiqués et donc plus coûteux. Ces cellules (Cor.4U*) se prêtent très bien à une analyse avec des systèmes à haut débit et il est envisagé de commercialiser de telles cellules issues de malades porteurs de cardiomyopathies associées à des dysfonctions rythmiques. D'autres champs thématiques que la cardiologie sont en cours de développement et de commercialisation.

Source : www.axiogenesis.com

5. L'innovation thérapeutique : à quel prix ?

2015, 14 : 161-162. Le taux d'attrition des molécules au cours du développement pharmaceutique est un enjeu bien connu. En moyenne, il faut tester 9 molécules en phase I pour espérer en voir une commercialisée (le taux moyen d'échec des phases cliniques est de l'ordre de 90 %). Si l'on inclut également les molécules testées en développement préclinique, le taux de succès tombe à 4,1 %. Toutefois ce taux peut varier considérablement selon les pathologies ciblées par les candidats médicaments. Cet article de Calcoen *et coll.* analyse le taux d'attrition de candidats médicaments dans trois secteurs : la maladie d'Alzheimer (AD), l'hépatite causée par le virus de type C (HCV) et les infections résistantes dues à des staphylocoques dorés résistants à la méthicilline (MRSA). Les données recueillies sur la période 1995 – 2014 montrent que la maladie d'Alzheimer est un des secteurs où la réussite a été le moins au rendez-vous. Environ 1120 molécules ont été testées pour parvenir à la commercialisation de seulement 4 médicaments (soit un taux d'échec des phases cliniques de 97 %). HCV est un secteur où l'attrition a été moins sévère avec un taux qui se situe proche de la moyenne globale : 712 molécules testées pour 12 commercialisées. Enfin, le succès a été plus évident sur le MRSA avec 279 molécules testées pour 9 commercialisées (soit un taux d'échec des phases cliniques de 79 %)

On peut donc, sans difficulté, relier ces taux d'échecs au niveau de pertinence des cibles moléculaires visées et au niveau des connaissances du processus pathologique à traiter.

Source : Calcoen D, Elias L and Yu X. What does it take to produce a breakthrough drug? *Nature Reviews Drug Discovery*

6. L'arglabine, un inhibiteur de l'inflammasome, pour lutter contre les maladies cardiovasculaires

L'équipe de Mustapha Rouis et de Bertrand Friguet, à l'Institut de Biologie Paris-Seine, en collaboration avec une équipe allemande de l'Université d'Ulm, vient d'identifier une nouvelle molécule prometteuse, l'arglabine, dans la lutte contre les maladies cardiovasculaires. Cette molécule complexe issue initialement de l'huile essentielle d'une plante (*Artemisia glabella*), connue jusqu'à présent pour ses propriétés antitumorales, présente également des propriétés anti-inflammatoires inédites. Comme on le sait, un processus inflammatoire est à l'origine de nombreuses maladies, en particulier via un complexe multiprotéique, NLRP3, aussi appelé « inflammasome ». Plusieurs publications récentes montrent en effet l'implication de l'inflammasome NLRP3 dans des pathologies qui constituent de véritables enjeux de santé publique comme l'obésité, le diabète de type 2, la maladie d'Alzheimer et les maladies cardiovasculaires.

Ces chercheurs ont montré que l'arglabine inhibe spécifiquement l'activité de l'inflammasome NLRP3, *in vitro* et *in vivo*. L'inflammasome NLRP3 est composé d'une protéine Nlrp3, d'une protéine ASC et de la procaspase-1. En réponse à des stimuli endogènes comme les cristaux de cholestérol ou exogènes comme l'infection, l'activation de l'inflammasome NLRP3 entraîne la maturation de la caspase-1 qui, à son tour, active, en les clivant, les précurseurs des interleukines IL-1b et l'IL-18, les deux cytokines principalement responsables de l'inflammation.

L'arglabine agit en partie sur la caspase-1 en l'empêchant de convertir la pro-IL-1b et la pro-IL-18 respectivement en IL-1b et IL-18, mais également en convertissant les macrophages délétères en macrophages protecteurs de phénotype anti-inflammatoire. L'arglabine normalise complètement les taux plasmatiques du cholestérol et des triglycérides dans des modèles de souris génétiquement modifiées et placées sous régime alimentaire gras. L'arglabine réduit également de façon très significative l'apparition des lésions artérielles responsables des maladies cardiovasculaires et pourrait donc constituer une cible thérapeutique très prometteuse dans le traitement de ces maladies.

Source : Abderrazak A *et coll.* Anti-Inflammatory and Anti-Atherogenic Effects of the Inflammasome NLRP3 Inhibitor, Arglabin, in ApoE2.Ki Mice Fed a High Fat Diet. *Circulation* 2015 Jan 22. pii: CIRCULATIONAHA.114.013730. [Epub ahead of print]

7. Hnf1b, un gène clé dans la formation du pancréas pour le traitement du diabète et du cancer.

Parmi les différents types de diabètes, le diabète de type MODY 5 (*Maturity-onset diabetes of the young*) est associé à des mutations dans le gène Hnf1b, codant pour un facteur de transcription exprimé notamment dans les cellules du pancréas au cours de l'embryogenèse.

Pour comprendre le rôle de Hnf1b dans le développement du pancréas, une étude dirigée par Cécile Haumaitre, à l'Institut de Biologie Paris-Seine et publiée dans la revue *Development* a analysé les effets d'une délétion conditionnelle de ce gène dans les cellules du pancréas de souris.

Ces chercheurs ont ainsi pu démontrer que Hnf1b est indispensable aussi bien pour le maintien de l'identité des cellules exocrines du pancréas (celles qui sécrètent des enzymes digestives) que pour ses fonctions endocrines (sécrétion d'hormones régulant la glycémie). En absence de Hnf1b, les cellules exocrines sont désorganisées et dysfonctionnelles, et aucune cellule endocrine ne se développe. Cette étude montre l'importance de Hnf1b dans la formation du pancréas, et a permis d'identifier de nouveaux gènes régulés par Hnf1b, comme Glis3 (impliqué dans la formation des canaux et la régulation des cellules endocrines du pancréas) et Ngn3, qui contrôlent la génération des précurseurs des cellules endocrines. Ces résultats suggèrent une nouvelle explication à l'apparition du diabète MODY5, qui serait dû à une dérégulation de l'expression de Ngn3 engendrant une diminution du nombre de cellules β (qui produisent l'insuline).

Ces résultats permettent d'envisager de nouvelles cibles et protocoles thérapeutiques pour le traitement du diabète. Par ailleurs, le cancer du pancréas, qui est dû à un dysfonctionnement des cellules exocrines, pourrait être dû à la réactivation de signaux embryonnaires. Il est donc essentiel d'identifier ces signaux au cours du développement.

Sources : Matias G *et coll.* Hnf1b controls pancreas morphogenesis and generation of Ngn3+ endocrine progenitors. *Development* 2015; 142(5) : 871-82.

8. Abaisser le LDL cholestérol sanguin c'est bon, mais jusqu'où peut-on aller ?

Au cours du congrès de l'*American College of Cardiology* qui vient de se tenir à San Diego ont été présentés les résultats des effets de deux anticorps monoclonaux, l'alirocumab de Sanofi/Regeneron (essai « ODYSSEY LONG TERM ») et l'évolocumab d'Amgen (essai « OSLER 1 et 2 ») (1) qui sont des inhibiteurs de la protéine PCSK9. Rappelons que c'est une protéine liant le LDL-cholestérol à son récepteur membranaire et dont l'inhibition par ces anticorps se traduit par une chute du LDL-cholestérol sanguin par un mécanisme différent de celui des hypocholestérolémiants classiques, que sont les statines ou l'ézétimibe (voir Lettre de veille n° 24).

Ce qu'il faut retenir de ces présentations, c'est d'abord que les résultats sont dans leur ensemble quasi identiques pour les deux molécules et que ces essais ont été menés sur au moins une année (12 à 18 mois) et sur de nombreux patients (2341 et 4465, respectivement), des patients non seulement atteints d'hypercholestérolémies familiales, mais aussi réfractaires, ou peu répondeurs, aux statines et que tous étaient à très haut risque d'évènements cardiovasculaires.

Globalement, le LDL-cholestérol a chuté de plus de 50 % dans les deux essais (61 % avec l'évolocumab ; passant d'une médiane de 120 mg/L à 48 mg/L) pour atteindre chez certains patients des valeurs extrêmement basses de l'ordre de 20 à 30 mg/L. Pour rappel le LDL-cholestérol baisse en moyenne de 30 % avec la plupart des statines actuellement génériques. La réduction du LDL-cholestérol était accompagnée d'une réduction des triglycérides circulants, du taux d'apolipoprotéine B et d'une légère augmentation du HDL-cholestérol. De manière très claire, cette baisse très marquée du LDL-cholestérol par ces deux inhibiteurs de PCSK9 s'est traduite par une baisse de plus de 60 % des évènements cardiovasculaires composant le critère primaire de ces études (décès de maladie coronaire, infarctus du myocarde non fatal, angor instable nécessitant une hospitalisation, accident vasculaire cérébral fatal ou non), ce qui conforte les résultats antérieurs menés sur de plus courtes durées. Dans les deux essais, le traitement a été bien toléré, voire même mieux que dans d'autres essais menés avec des hypocholestérolémiants agissant par des mécanismes différents. Enfin, point important, ces inhibiteurs de PCSK9 étant des anticorps monoclonaux, ils ont été administrés par voie sous-cutanée à l'aide de seringues auto-injectables tous les 15 jours, ou tous les mois selon la posologie, et ceci a été très bien toléré par les patients.

Ces deux études, comme celles menées avec des molécules ayant aussi le pouvoir d'abaisser considérablement le LDL-cholestérol (niacine, ézétimibe) sont donc toutes associées à une réduction de la morbi-mortalité par

événements cardiovasculaires. C'est un fait très important, mais qui est aussi la source de questions de fond auxquelles il est difficile de répondre de façon formelle pour l'instant, faute d'un recul suffisant. Il s'agit notamment de la survenue possible d'accidents vasculaires cérébraux de nature hémorragique et surtout des conséquences de ces traitements sur le plan cognitif, car on sait que le LDL-cholestérol est nécessaire pour un maintien normal de ces fonctions. Rappelons quand même que, dans ces études, le taux du LDL-cholestérol peut, dans les cas extrêmes, être proche de celui du nouveau-né...

Selon les termes de l'éditorial du journal (2), ces résultats sont donc, pour l'instant, très encourageants sur le plan de la réduction de la morbi-mortalité cardiovasculaire, car ils confirment ceux obtenus antérieurement sur de plus courtes durées d'observation. Ils ne permettent toutefois pas encore d'affirmer que « *lower is always better* » s'agissant de l'abaissement du LDL-cholestérol sanguin et qu'il faut, pour l'instant encore, réserver ces traitements aux malades atteints d'hypercholestérolémies familiales ou ceux résistants aux statines.

Sources :

- (1) Sabatine MS *et coll.* Efficacy and safety of evolocumab in reducing lipids and cardiovascular events. *New England Journal of Medicine* 2015, March 15, DOI:10.1056/NEJMoa1500858.
- (2) Stone NJ and Lloyd-Jones DM. Lowering LDL-cholesterol is good, but how and in whom ? *New England of Medicine* 2015, March 15, DOI:10.1056/NEJMoa1502192.

9. Chlorure de lithium et myasthénies congénitales

Des chercheurs de l'Inserm, du CNRS et de l'université Paris - Descartes viennent de mettre en évidence l'effet bénéfique du chlorure de lithium sur un groupe d'affections génétiques à l'origine de dysfonctionnements du muscle, appelées myasthénies congénitales. Ces résultats obtenus sur un nouveau modèle d'étude de la pathologie chez la souris, sont publiés dans la revue *The Journal of Neuroscience* et constituent une étape importante dans la recherche de traitements pour ces maladies rares. Les syndromes myasthéniques congénitaux (SMC) débutent habituellement dans la période néonatale, mais parfois plus tardivement au cours de l'enfance, de l'adolescence, voire à l'âge adulte. Ils se traduisent par une faiblesse musculaire des bras et des jambes, une atteinte oculaire, des muscles faciaux et bulbaires (succion, déglutition, dysphonie). Ils se caractérisent par le dysfonctionnement de la transmission neuromusculaire. Cette maladie rare touche de 1 à 2 individus pour 500 000.

Chez des souris génétiquement modifiées (délétion du domaine riche en cystéine de la protéine MuSK), modèle d'étude de la pathologie, a été montré l'effet bénéfique du chlorure de lithium (LiCl) qui était déjà connu dans le traitement de la dépression, et surtout dans le syndrome bipolaire. Le chlorure de lithium administré quotidiennement, par voie intrapéritonéale, diminue la faiblesse et la fatigabilité musculaire de ces souris et restaure en grande partie la structure altérée des synapses et de la transmission cholinergique locale. Le LiCl agit en inhibant la glycogène synthétase kinase-3 (GSK3) du muscle, ce qui permet de rétablir le déficit moteur causé par la maladie.

Les chercheurs travaillent désormais à la généralisation de ces résultats sur d'autres modèles de myasthénies congénitales et à l'ajustement du dosage et de la durée du traitement. Ils envisagent un essai clinique pour tester l'efficacité du LiCl et d'autres inhibiteurs de l'enzyme GSK3.

Source: Messeart J *et coll.* MuSK Frizzled-like Domain Is Critical for Mammalian Neuromuscular Junction Formation and Maintenance. *The Journal of Neuroscience*, 2015, 35(12): 4926-4941 ; doi: 10.1523/JNEUROSCI.3381614.2015.

10. Un nouveau concept en oncologie : les biopsies liquides

À peine né il y a quelques années, le concept de « biopsie liquide » prend un essor considérable ces derniers mois, et pour cause, chacun connaît le rôle incontournable de l'anatomopathologiste dans l'établissement du diagnostic de cancer solide, habituellement fondé sur l'examen macroscopique d'une pièce opératoire et l'examen microscopique de lames préparées à partir de fragments tissulaires obtenus par biopsie. Il contribue aussi à préciser le pronostic du cancer et à évaluer la réponse aux traitements en analysant les examens anatomocytopathologiques renouvelés en cours de traitement, dont ceux sur les métastases par exemple. De leur

côté, tout biologiste médical polyvalent dispose d'un grand nombre de marqueurs tumoraux protéiques circulants (PSA, CEA, CA 15.4, etc.) aisément dosés pour suivre l'évolution du cancer.

Selon le principe de la « médecine de précision », l'avènement des thérapies ciblées a induit la nécessité supplémentaire de rechercher de façon systématique les anomalies moléculaires pouvant être des cibles dans les cancers du sein et dans les formes métastatiques des cancers du côlon, du poumon et du mélanome, à partir de ces échantillons tissulaires primaires, mais que des techniques modernes sophistiquées peuvent également fournir depuis peu, à partir d'une simple prise de sang. On inclut donc dans les biopsies liquides les techniques d'identification dans le sang (et leurs résultats) de l'ADN tumoral circulant (ADNtc), des cellules tumorales circulantes (CTC), et aussi les micro-ARN plasmiques, etc. Deux avantages majeurs en découlent : d'une part, le prélèvement est non invasif pour le patient, par opposition à une biopsie bronchique parfois difficile à réaliser, ou qui ne procure pas suffisamment de matériel analysable, disposition qu'intègre la dernière version des RCP de l'AMM européenne de l'anti-EGFR géfitinib (1) ; d'autre part, en suivi de traitement, il est possible d'objectiver la réponse au traitement qui sera favorable en présence d'une cinétique décroissante des taux d'ADNtc présentant une mutation de sensibilité. En revanche, un taux croissant d'ADNtc présentant la mutation de résistance T790M sera inévitablement prédictif d'une rechute clinique à court terme (2). Ce suivi biologique, en oncologie, est donc très similaire au suivi des infections virales de types VIH, VHC, VHB, et CMV, avec un paramètre global (cinétique de la charge virale) et la détection de mutations de résistance acquises ou amplifiées sous pression de sélection médicamenteuse.

Les biopsies liquides n'auraient-elles alors pas que des avantages ? Non, ou du moins pas encore. Seuls des laboratoires très spécialisés peuvent développer ce type de dosages (compte tenu des quantités très faibles d'ADNtc ou de CTC), selon un protocole technique et des unités de mesure qui sont propres à chacun. Une étude multicentrique devra recourir à des tests industriels standardisés et automatisés ou à un laboratoire centralisé.

ADNtc ou CTC ? Trancher à ce stade est difficile, tant des équipes multicompetentes concurrentielles (y compris françaises) se positionnent pour la reconnaissance des performances analytiques et de l'utilité clinique des techniques qu'elles ont développées et pour l'accès aux brevets. L'article d'Ilie *et coll.* a fait l'objet d'un grand retentissement médiatique, en démontrant élégamment la détection précoce de CTC chez des patients à risque de développer un cancer du poumon (3), ce dont la prudence scientifique impose de ne pas en déduire que les CTC constituent un test de dépistage...

Au total, les biopsies liquides ont assurément leur place pour guider les thérapies ciblées, ce dont témoigne leur développement fulgurant au sein des plateformes de génétique moléculaire de l'INCa, parallèlement au NGS.

Sources :

- (1) RCP de l'AMM du géfitinib (IRESSA®), citation exacte du paragraphe 4.4 Mises en garde spéciales et précautions d'emploi « Lorsque l'utilisation d'IRESSA® est envisagée en tant que traitement du CBNPC localement avancé ou métastatique, il est important que la mutation de l'EGFR à partir du tissu tumoral soit recherchée pour tous les patients. Si un échantillon de la tumeur n'est pas analysable, de l'ADN tumoral circulant (ADNtc) obtenu à partir d'un échantillon de sang (plasma) peut alors être utilisé »
- (2) Sorensen BS, Wu L, Wei W, Tsai J, Weber B, Nexo E *et coll.* Monitoring of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor-sensitizing and resistance mutations in the plasma DNA of patients with advanced non-small cell lung cancer during treatment with erlotinib. *Cancer* 2014 ; 120: 3896-901.
- (3) Ilie M, Hofman V, Long-Mira E, Selva E, Vignaud JM, Padovani B *et coll.* "Sentinel" circulating tumor cells allow early diagnosis of lung cancer in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *PLoS One* 2014 ; 9:e11159.

Dossier « Cellules tumorales et ADN libre circulant », Revue Correspondances en oncothéranostic, 2013, Vol II, N° 4.

11. Des antiagrégants plaquettaires pour limiter la sévérité de la grippe

Les plaquettes sanguines joueraient un rôle dans les infections pulmonaires sévères liées aux virus. C'est ce que révèlent pour la première fois des chercheurs de l'Inra, de l'Inserm et de l'Université Claude-Bernard Lyon 1, dans des travaux publiés le 1^{er} avril 2015 dans la revue *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. Leurs résultats montrent que les médicaments antiagrégants plaquettaires représenteraient un accompagnement thérapeutique efficace contre les formes graves de grippe.

Dans le monde, les épidémies annuelles de grippe sont responsables d'environ trois à cinq millions de cas de maladies graves et de 250 000 à 500 000 décès, principalement parmi les groupes à haut risque (les très jeunes, les personnes âgées ou souffrant de maladies chroniques). Dans les cas de gripes sévères, les poumons sont le siège d'une inflammation excessive et délétère.

Ces chercheurs se sont intéressés au rôle des plaquettes du sang pendant l'infection par les virus grippaux des souris. Ils ont tenté de comprendre les mécanismes responsables de l'inflammation exagérée des poumons qui survient dans les cas les plus graves. En révélant un afflux massif de plaquettes agrégées et activées, ces chercheurs ont pour la première fois mis en évidence un recrutement des plaquettes dans les processus associés à la sévérité des infections pulmonaires.

Dans un second temps, l'équipe a démontré le lien existant entre l'activation plaquettaire dans le poumon et la suractivation de l'inflammation. Ainsi, en suractivant les plaquettes, on observe une augmentation de la mortalité. Inversement, des souris ayant un défaut de fonction plaquettaire sont protégées.

Enfin, l'effet bénéfique des antiagrégants plaquettaires sur l'inflammation excessive dans le poumon a été prouvé. Les chercheurs ont testé, chez des souris, 4 molécules antiagrégantes plaquettaires agissant par des mécanismes différents (des anti P-glycoprotéine IIb/IIIa dont l'eptifibatide, des inhibiteurs du récepteur de l'ADP (P2Y1/P2Y12) dont le clopidogrel, des antagonistes du récepteur activateur des protéases et 3 souches différentes de virus de la grippe. Il s'agissait de souches humaines modifiées pour entraîner des gripes sévères et de fortes pneumonies chez les souris.

En donnant une dose semi-létale de virus (entraînant une mortalité de 50 %), l'administration locale (ou par voie aérienne) de ces antiagrégants plaquettaires a assuré une survie avoisinant 100 %.

Ces travaux suggèrent donc que les médicaments antiagrégants plaquettaires (dont 2 sont déjà présents dans la pharmacopée) pourraient être utilisés pour développer des traitements anti-inflammatoires efficaces lors des infections sévères à influenza. Ces résultats de recherche biologique pourraient donc connaître des développements en recherche clinique visant à évaluer leur transposition dans l'espèce humaine.

Source : Lê VB, Schneider JG, Boergeling Y, *et al.* Platelet activation and aggregation promote lung inflammation and influenza virus pathogenesis. *Am J Resp Crit Care Med* 2015, 191(7): 804-919.

12. Toxicité chronique du paracétamol

La toxicité hépatique aiguë du paracétamol est aujourd'hui bien connue. En revanche, une équipe britannique s'est penchée sur les effets secondaires de prises chroniques supérieures ou égales à 3 g/jour de paracétamol en effectuant une analyse de 1 888 études publiées.

Les auteurs mettent en évidence une relation dose-réponse sur la mortalité, les effets secondaires cardiotoxiques, digestifs et rénaux chez l'adulte.

L'effet, au niveau cardiovasculaire, semble être le plus marquant. En effet, sur quatre études mentionnant des secondaires cardiovasculaires, toutes montrent une nette augmentation du risque avec des « odds ratio » (OR) allant de 1,19 à 1,68.

Dans une moindre mesure, on remarque une augmentation de l'incidence des saignements digestifs (OR de 1,11 à 1,49).

Enfin, une diminution de la filtration glomérulaire est objectivée dans trois études, dont une fait état d'une diminution de 30 % de la filtration glomérulaire.

Les points faibles de l'étude sont inhérents à la méthodologie (étude de la littérature), de plus il n'est pas fait, entre autres, des pathologies associées des patients ni de la consommation d'alcool, ce qui peut augmenter le taux de mortalité observé.

Enfin, ne sont comptabilisées que les consommations provenant de prescriptions médicales, ce qui laisse penser que certains patients pouvaient consommer des quantités supérieures du fait d'une automédication par des produits contenant du paracétamol.

Source: Roberts E, *et coll.* Paracetamol: not as safe as we thought? A systematic literature review of observational studies. *Ann Rheum Dis* 2015;1–8. doi:10.1136/annrheumdis-2014-206914

13. Cancer de l'ovaire, les traitements hormonaux de la ménopause en ligne de mire

Selon les résultats d'une méta-analyse menée par des chercheurs britanniques et publiée dans *The Lancet*, les traitements hormonaux de la ménopause (THM) seraient à l'origine d'une augmentation significative de la survenue du cancer de l'ovaire, et ce, même lorsqu'ils ne sont prescrits que pendant quelques années.

Richard Peto, de l'Université d'Oxford, et ses collaborateurs ont cherché à savoir si d'autres cancers pouvaient être sous l'influence de ce type de traitements. Pour cela, ils ont analysé les données de plus de 52 études épidémiologiques portant sur 21 488 femmes américaines, européennes et australiennes ayant développé des cancers de l'ovaire.

Les premières conclusions de leurs investigations ont montré que les patientes ayant pris au cours de leur vie des THM avaient 40 % de plus de risques d'être atteintes par un cancer de l'ovaire que celles n'ayant rien pris. D'après le principal auteur de l'étude, « *pour les femmes qui prennent un THM pendant 5 ans à partir de l'âge de 50 ans, cela signifie un cancer supplémentaire pour 1 000 utilisatrices et un décès par cancer de l'ovaire pour 1 700 utilisatrices.* »

Par ailleurs, l'équipe de chercheurs a montré que le risque de survenue de cancer de l'ovaire était d'autant plus important quand la femme est sous traitement. Toutefois, l'arrêt du traitement ne signifie pas pour autant la suppression du risque. Ce dernier diminue au cours du temps, mais persiste longtemps... D'autres travaux seront toutefois nécessaires pour en savoir plus sur le lien entre THM et cancer de l'ovaire.

Source : Collaborative group on epidemiological studies of ovarian cancer. Menopausal hormone use and ovarian cancer risk: individual participant meta-analysis of 52 epidemiological studies. *The Lancet* 2015 ; Published online February 13, 2015 [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)61687](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(14)61687).

Santé et Environnement

14. Une signature épigénétique de l'obésité

La prévalence de l'obésité continue à croître à un rythme alarmant dans les pays dits développés et ceci concerne maintenant non seulement les personnes reconnues comme obèses, mais aussi leurs enfants, perpétuant ainsi « le cercle vicieux de l'obésité ».

La transmission du phénotype obèse des parents à leurs enfants est aujourd'hui reconnue comme ayant deux sources bien identifiées, à savoir un « terrain » génétique propice et un facteur environnemental influençant le métabolisme des organes à l'origine du diabète de type 2, et des dysfonctions cardiovasculaires accompagnant

ultérieurement cette forme de diabète associé à l'obésité. Ce facteur environnemental s'exercerait à chaque stade de la conception, du développement fœtal et de la petite enfance.

Cette constatation d'un « développement programmé » de l'obésité vient d'expériences dans lesquelles on a observé la descendance d'animaux dont non seulement la mère, mais aussi le père, ont été soumis à des régimes alimentaires dits subnormaux, à savoir hypocaloriques ou hypercaloriques. Ainsi, des facteurs épigénétiques influençant l'expression de certains gènes-clés du métabolisme (altération de la méthylation de l'ADN, modifications des histones, expression de microRNA) ont été mis en évidence après avoir modifié le régime alimentaire non seulement de la mère, mais aussi du père.

Dans le *New England Journal of Medicine*, Susan Ozanne (1) rapporte et commente les résultats d'une expérience conduite par Ost *et coll.* et publiée dans *Cell* (2), où ces auteurs se sont intéressés à la descendance de drosophiles dont les mâles avaient été nourris avec un régime très riche en sucre deux jours avant la reproduction (triplement de leurs taux de triglycérides) avec des femelles nourries normalement. À la génération F1, les drosophiles nourries avec un régime normal en sucre sont restées « normales », alors que les drosophiles F1 nourries avec un régime riche en sucre avaient un taux très élevé de triglycérides, révélant ainsi la transmission de cette anomalie métabolique par le père (et non la mère) qui avait été soumis à un régime hypersucré (dit « obésogénique ») avant la reproduction. Notons que cette anomalie métabolique a pu aussi être observée lorsque les pères étaient soumis à des régimes hyposucrés. Les auteurs ont pu caractériser précisément, au niveau de la chromatine des chromosomes X, le site de ces lésions d'origine épigénétiques. D'autres exemples d'une telle transmission épigénétique d'anomalies métaboliques ont pu être mis en évidence par analyse transcriptomique d'embryons issus de pères ayant eu des régimes riches en sucre. Il a été observé une dysfonction des transcrits codant deux protéines, dont l'une appelée « Su (var) » est impliquée dans la conformation de la chromatine et la régulation génomique. De telles anomalies de la protéine Su (var) ont été retrouvées dans le tissu adipeux de patients obèses, notamment chez des jumeaux monozygotes dont l'un était obèse et avait une sous-régulation de la voie Su (var), l'autre non obèse et n'était pas porteur de cette modification de la voie Su (var). Il s'agit donc là d'une réelle « signature épigénétique » de l'obésité, signature interspécies. Il s'agit maintenant d'identifier quels sont les facteurs pouvant moduler cette signature épigénétique chez l'homme et de savoir s'ils sont présents, ou non, avant l'apparition de l'obésité, afin de pouvoir être reconnus comme biomarqueurs du risque à développer cette maladie.

Sources :

- (1) Ozanne S.E. Epigenetic signatures of obesity. *New England Journal of Medicine*, 2015, 372; 10: 973-974.
- (2) Ost A *et coll.* Paternal diet defines offspring chromatin state in intergenerational obesity. *Cell* 2014, 159: 1352-64.

Biotechs dans le domaine de la santé

ECRIN THERAPEUTICS

Créée en 2010, la société « Ecrins Therapeutics » développe ET-D5, un candidat-médicament pour le traitement du cancer. Cette molécule active est issue des travaux de recherche menés par les créateurs d'Ecrin Therapeutics, alors chercheurs biologistes à l'Inerm, et l'Université Joseph-Fourier (Grenoble), en collaboration avec des chimistes de l'Institut Curie, à Paris.

Ce candidat-médicament représente une nouvelle avancée pour le traitement du cancer, car il possède une double activité : antiproliférative (ET-D5 bloque la multiplication des cellules cancéreuses), et antivasculaire (il détruit les vaisseaux alimentant les tumeurs, sans toucher le système sanguin dans les organes sains). De cette façon, ET-D5 prive les tumeurs d'oxygène et de nutriments, et entraîne la mort des cellules cancéreuses. Grâce à cette cible thérapeutique originale, ET-D5 n'a pas de concurrent direct.

« Nous envisageons de développer ET-D5 pour le traitement des cancers agressifs pour lesquels peu de thérapeutiques sont proposées aux malades, comme les cancers du rein, du pancréas, du foie ou les sarcomes qui représentent une bonne partie des cancers pédiatriques » explique le Docteur Aurélie Juhem, Directrice scientifique.

Le projet d'Ecrin Therapeutics est, par ailleurs, basé sur une propriété intellectuelle solide puisque la société est détentrice d'une licence mondiale exclusive du brevet qui protège ET-D5 et ses analogues structuraux.

Après ce constat très encourageant sur les modèles murins, l'entreprise souhaite mettre en place des tests cliniques, chez l'être humain, afin de pouvoir commercialiser au plus vite cette molécule. Les premiers essais seraient réalisés sur des personnes ayant développé un cancer du foie, du pancréas, du rein, ou un sarcome

Source : www.wiseed.com/cercles/crowdavenue-lyon-rhone-alpes

Ont participé à la rédaction de cette lettre n° 28 : Alain Berdeaux, Claude Monneret, Alain Gouyette, Frédéric Éberlé, Michel Arock, Hervé Ficheux, Yves Juillet, Jean-Marc Grognet, Jean-Michel Guillon.