

## **Les thérapies ciblées à l'aube d'une ère nouvelle**

Les thérapies ciblées sont des traitements ajustés aux caractéristiques génétiques, moléculaires et phénotypiques d'une population ou d'un individu, visant une cible précise constituée par un mécanisme moléculaire qui sous-tend la maladie. Le concept n'est pas réellement nouveau. Ainsi les traitements hormonaux des cancers dits hormono-dépendants du sein ou de la prostate ont été développés sur la base de l'identification et du rôle des récepteurs correspondants dans les tissus. Toutefois ce sont le séquençage en routine du génome humain, couplé à diverses techniques performantes d'analyse du phénotype, qui ont donné une impulsion décisive à la personnalisation du diagnostic et du traitement de divers cancers et de différentes autres maladies. Théoriquement, il devient ainsi possible d'agir sur les mécanismes qui sous-tendent la maladie chez chaque patient, et non plus simplement d'en traiter les symptômes de façon non différenciée, comme c'est le plus souvent le cas en thérapie conventionnelle. Pour prescrire le bon traitement au bon patient, il faut être capable d'identifier la bonne cible. Qu'en est-il en pratique et quelles sont les perspectives pour l'avenir ?

### **Identification des cibles moléculaires pertinentes et recherche de médicaments spécifiques et de biomarqueurs**

On dispose maintenant de plateformes techniques très performantes qui permettent l'analyse du génome individuel (génomique) couplée à l'étude de caractères phénotypiques, notamment à celle des protéines exprimées dans les tissus (protéomique), et à celle de milliers de métabolites circulants ou tissulaires (métabolomique). L'énorme quantité de données qui peuvent être ainsi obtenues, par exemple dans des biopsies ou des prélèvements de quelques microlitres de sang, peut être analysée grâce aux progrès de la bio-informatique. Il est ainsi possible d'identifier des variants génétiques associés à des troubles métaboliques ou à l'expression de protéines mutantes, intervenant dans des fonctions cellulaires définies (par exemple la prolifération, dans le cas de facteurs de croissance ou de leurs récepteurs), ou encore des protéines surexprimées ou qui ne s'expriment que dans les cellules cancéreuses et qui sont impliquées dans leur prolifération.

L'identification de telles cibles permet de définir des mécanismes responsables de la variabilité individuelle de l'effet des traitements, de rechercher des agents pharmacologiques agissant spécifiquement sur elles, et de mettre au point des biomarqueurs permettant de sélectionner les patients éligibles au traitement, étape cruciale pour adopter une thérapie ciblée. Cette stratégie ne conduit pas seulement à la mise sur le marché de nouveaux médicaments, elle permet de montrer l'hétérogénéité de certaines maladies et d'optimiser l'utilisation de médicaments existants. Ainsi la métabolomique, ou compilation intégrée de très nombreux métabolites présents dans l'organisme (résultat final du patrimoine génétique et de l'influence de l'environnement, y compris l'exposition au médicament lui-même), permet-elle de distinguer des sous-populations plus ou moins sensibles à certains médicaments (pharmacométabolomique)<sup>2</sup> et donc d'en prévoir les effets souhaitables ou indésirables. Par exemple, on peut prévoir les effets d'antidépresseurs (inhibiteurs de recapture de sérotonine) chez des patients déprimés, distinguer des bons et des mauvais répondeurs aux statines, en relation avec le microbiome intestinal, des différences ethniques dans l'effet de bêta-bloqueurs et de thiazides, distinguer de nouvelles voies métaboliques impliquées dans les réponses à l'aspirine et au clopidogrel ou encore différents types d'asthme sévère, et adapter les traitements en conséquence. Nul doute que cette approche encore peu utilisée est promise à un grand développement, qui nécessitera entre autres la mise au point des biomarqueurs nécessaires au choix de la thérapeutique chez chaque patient.

Le cas des tumeurs cancéreuses solides est particulier : en raison de l'hétérogénéité intra-tumorale des mutations, le génotypage effectué sur des biopsies tissulaires risque de ne pas être représentatif. Le diagnostic s'oriente vers l'étude de biopsies liquides, consistant en la recherche de biomarqueurs relargués par les tumeurs, cellules, vésicules extracellulaires ou acides nucléiques, dans les liquides de l'organisme. L'analyse de l'ADN circulant paraît être un marqueur prometteur pour le diagnostic, le traitement ciblé et le pronostic de tumeurs solides<sup>3</sup>.

### **Anticorps monoclonaux**

En visant spécifiquement des épitopes définis, les anticorps monoclonaux sont des outils de choix pour les thérapies ciblées, avec cette limite que les protéines cibles doivent être exprimées à la surface des cellules. Plusieurs dizaines d'anticorps monoclonaux sont actuellement commercialisés, principalement comme anticancéreux, et pour traiter des maladies auto-immunes ou inflammatoires. Divers mécanismes peuvent être impliqués dans les thérapies ciblées anticancéreuses : ciblage de protéines surexprimées ou mutées à la surface des cellules cancéreuses, inhibition de la vascularisation des tumeurs par angiogénèse, ou immunothérapie par divers mécanismes<sup>4</sup>. Les autres indications actuellement développées portent notamment sur le psoriasis, les dermites atopiques, l'asthme, l'arthrite rhumatoïde, l'ostéoporose, la perte de masse musculaire, la maladie d'Alzheimer et certaines hypercholestérolémies (Alirocumab).

Les premiers anticorps commercialisés, produits chez la Souris par la technique dite de l'hybridome (à partir de 1986), étaient susceptibles de provoquer une réponse immunitaire chez les patients. Des techniques ont été développées pour « humaniser » les anticorps, en greffant dans un anticorps humain les séquences murines nécessaires à la reconnaissance de l'antigène, puis pour produire directement des anticorps entièrement humains chez des souris transgéniques (le premier anticorps thérapeutique obtenu par cette dernière technique, le panitumumab, dirigé contre le récepteur à l'EGF, a été approuvé en 2006 par les autorités sanitaires pour le traitement du cancer colorectal avancé). Plus récemment la production d'anticorps monoclonaux a été développée *in vitro*, par clonage et criblage à haut débit d'importantes librairies de gènes humains codant pour des anticorps, couplés aux techniques de surface dites de « display ». Celles-ci sont fondées sur l'établissement d'un lien physique direct entre les protéines ou peptides et les ADN qui les codent, pour permettre la sélection des gènes codant pour l'anticorps désiré. La plus utilisée de ces techniques est le « phage display », qui utilise un phage filamentaire modifié exprimant à sa surface toutes les séquences codantes d'une cellule, d'un tissu ou d'un organisme. Le premier anticorps monoclonal humain thérapeutique obtenu grâce à elle est l'adalimumab, dirigé contre le TNF- $\alpha$  et indiqué dans des maladies inflammatoires telles que la polyarthrite rhumatoïde ou la maladie de Crohn, par exemple. D'autres techniques utilisant des bactéries, un baculovirus ou la levure en lieu et place du phage peuvent être utilisées. Alternativement, un ribosome où un RNA messenger se lie à la protéine codée peut être utilisé pour le criblage des anticorps, avec l'avantage que le procédé se fait entièrement *in vitro* sans qu'il soit besoin de faire appel à des cellules transformées.

Les progrès de l'ingénierie des anticorps monoclonaux permettent de prévoir des développements importants, en premier lieu desquels l'amélioration de leurs propriétés thérapeutiques, par modification de la séquence d'acides aminés ou de leur glycosylation, afin de diminuer leur immunogénicité, ou d'augmenter leur absorption après injection ou leur affinité pour leur cible. Plusieurs anticorps monoclonaux thérapeutiques améliorés par ces approches sont actuellement à divers stades d'étude.

Un développement récent est l'obtention d'anticorps conjugués à un agent pharmacologique ou toxique (voir l'article sur les immunoconjugués paru dans un numéro

précédent de l'Observatoire<sup>6</sup>). Dans ce cas, l'anticorps sert de vecteur délivrant directement la substance conjuguée au voisinage immédiat des cellules visées. Les premiers essais associant une substance cytotoxique à un anticorps ont été décevants, mais des recherches approfondies sur l'anticorps approprié, la liaison du conjugué et sa libération, ont abouti à la commercialisation, en 2011 puis en 2013, de deux premiers conjugués cytotoxiques (bretuximab vedotin, puis adotrastuzumab emtensine). Plus de 40 autres conjugués étaient en cours d'essais cliniques en 2016 et encore plus au niveau préclinique. La plupart ciblent des récepteurs surexprimés à la surface des cellules cancéreuses de tumeurs solides ou de leucocytes, ou encore la néo-vasculature de tumeurs.

Un autre développement récent, permis par les progrès de l'ingénierie des anticorps, est d'anticorps « bispécifiques », associant deux anticorps dans une même molécule. Le ciblage simultané de deux voies de signalisation (par exemple pour inactiver deux cytokines), ou de cellules cancéreuses et de cellules immunitaires dans le but de recruter ces dernières, sont les stratégies utilisées pour obtenir une efficacité thérapeutique accrue. Plus d'une vingtaine d'anticorps monoclonaux bispécifiques sont en cours d'essais cliniques, la plupart comme anticancéreux, mais aussi pour d'autres indications comme l'hémophilie A (par inhibition de 2 facteurs de coagulation), l'arthrite rhumatoïde, l'arthrite psoriatique, l'ostéoartrite ou la fibrose pulmonaire.

Depuis quelques années, l'ingénierie des anticorps monoclonaux a fait d'énormes progrès. Les premières avancées à en attendre pour les thérapies ciblées sont la mise sur le marché de biosimilaires, après expiration des brevets protégeant un anticorps thérapeutique. Le terme biosimilaire désigne un produit d'origine biologique qui contient une version de la substance active très proche d'un produit biologique déjà approuvé, par sa structure, ses effets pharmacologiques et thérapeutiques, sa pharmacocinétique, son immunoogénicité et la sécurité de son administration. En effet, tous les produits biopharmaceutiques présentent une certaine variabilité inhérente aux techniques de production et l'amélioration de celles-ci permet d'obtenir des protéines recombinantes très proches mais non rigoureusement identiques, d'où la notion de biosimilaires, qui font l'objet de réglementations très strictes émises par les autorités de santé. Les premiers anticorps monoclonaux thérapeutiques biosimilaires ont été mis sur le marché en Europe à partir de 2013, mais leur nombre est encore très limité (4 approuvés en Europe) et ils doivent faire l'objet d'une pharmacovigilance particulière. Toutefois l'obtention de biosimilaires a le grand intérêt potentiel de pouvoir diminuer le coût actuellement très élevé, voire prohibitif, des traitements par les anticorps monoclonaux.

### **Petites molécules**

Une démarche de pharmacologie dite « inverse », consistant en la recherche de ligands à partir de la cible, conduit à sélectionner des molécules affines pour celle-ci (« touches »), à partir d'un très grand nombre de molécules, à l'aide de systèmes robotisés à très haut débit (jusqu'à plusieurs centaines de milliers en peu de temps). Pour que la recherche soit couronnée de succès, il faut néanmoins encore établir le rôle physiologique ou pathologique de la cible, affiner la sélection des molécules par l'étude des relations structure-activité, de la pharmacocinétique et la métabolisation des molécules choisies (« lead » ou chefs de file), établir l'aptitude du candidat médicament à occuper la cible et à produire l'effet voulu dans les tissus concernés<sup>1</sup>. Toute une nouvelle stratégie de recherche intégrée, faisant appel à de très nombreuses techniques performantes (imagerie, spectroscopie de masse, RMN, tomographie à positons, analyse spectrale des métabolites...etc), et impliquant des allers-et-retours entre les niveaux précliniques et cliniques, a été développée durant ces dernières années. Elle a permis d'augmenter considérablement les probabilités de succès de la démarche.

Contrairement à celles des anticorps monoclonaux, les cibles atteintes par les petites molécules ne sont pas nécessairement circonscrites à la surface des cellules, mais peuvent aussi être intracellulaires. En outre les petites molécules peuvent souvent être administrées par voie orale. Les thérapies ciblées actuellement disponibles qui utilisent des petites molécules sont au nombre de plusieurs dizaines. Elles visent principalement des protéine kinases intervenant dans des mécanismes de signalisation pathologiquement altérés. Il s'agit en particulier d'anticancéreux utilisés dans des leucémies ou dans différentes tumeurs solides, qui agissent soit sur un récepteur membranaire à tyrosine kinase, soit sur un mécanisme associé par exemple protéine de fusion), soit encore sur une sérine/thréonine kinase intervenant en aval de ces récepteurs, dans la réponse altérée à un facteur de croissance (EGF, VEGF, ou autre).

### **Oligonucléotides Thérapeutiques**

Les stratégies de correction génique, permettant la correction spécifique d'une séquence mutée, ou son inhibition, par transfert d'oligonucléotides dans les cellules cibles, apparaissent comme idéales sur le plan conceptuel. A ce jour, deux oligonucléotides thérapeutiques antisens seulement ont été mis sur le marché, le fomivirsen pour le traitement de la rétinite à cytomégalovirus chez des patients porteurs du VIH, et le mipomersen pour le traitement de l'hypercholestérolémie familiale homozygote. Cependant de nombreux oligonucléotides de type antisens ou aptamère sont en cours d'essais cliniques. En outre la technique d'inhibition spécifique d'un gène à l'aide de petits ARN interférents (siRNA) paraît très prometteuse, mais d'importants progrès doivent encore être réalisés pour surmonter les difficultés de disposer de vecteurs permettant de délivrer efficacement dans l'organisme les oligonucléotides à visée thérapeutique

*En conclusion*, avancées thérapeutiques majeures ont déjà été obtenues par la thérapie ciblée, tant en ce qui concerne l'identification de mécanismes pathologiques que le développement de biomarqueurs et la mise sur le marché de nouvelles molécules thérapeutiques, principalement des anticorps monoclonaux, mais aussi de petites molécules. Tous les domaines sont concernés, même si les principales innovations concrètes concernent aujourd'hui la cancérologie et les maladies inflammatoires. Seule une petite partie des cibles potentielles est aujourd'hui connue, mais les outils disponibles pour des développements très importants. Le scepticisme n'est plus possible : l'objectif de prescrire le bon traitement au bon patient, avec une meilleure efficacité et des effets indésirables considérablement diminués par rapport aux thérapies conventionnelles, n'est plus un mythe.

La thérapie ciblée répond donc à des enjeux majeurs de santé publique. Elle est susceptible de modifier profondément le parcours de soins. Pour autant son développement rencontre des obstacles importants, dont le principal est son coût. Non seulement la mise au point d'une thérapie ciblée requiert des recherches très onéreuses, particulièrement lorsqu'il s'agit de produits biologiques comme les anticorps, mais le nombre de patients qui peuvent en bénéficier (donc le marché) est d'autant plus restreint qu'elle est plus spécifique. Pour cette raison, la thérapie ciblée reste aujourd'hui souvent réservée aux cas les plus graves et réfractaires aux thérapies conventionnelles. Il est cependant permis d'espérer une diminution du coût avec les progrès techniques en cours, comme ceux de l'ingénierie des anticorps monoclonaux et l'apparition de biosimilaires.

Jean-Claude Stoclet

<sup>1</sup> Durham TB, Blanco M-J, Target engagement in lead generation. *Biorg Med Chem Lett* 2015; **25**, 998-1008.

<sup>2</sup> Berge DM, Warwick D, Schmidt MA, Gross SS, Kirwan JA, Cascante M, *et al.* Metabolomics enables precision medicine; a white paper community perspective. *Metabolomics* 2016; **12**: 149.

<sup>3</sup> Cheng F, Su L, Quian C, Circulating tumor DNA : a promizing biomarker in liquid biopsy cancer. *Oncotarget* 2016; 7: 48832-41.

<sup>4</sup> Puisieux A, Nouvelles immunotherapies en cancérologie. *L'Observatoiremars* 2015;32:2.

<sup>5</sup> Elgundi Z, Reslan M, Cruz E, Sifniotis V, Kayser V, The state-of-play and future of antibody therapeutics. *Adv Drug Deliv Res* 2016, <http://dx.doi.org/10.1016.addr.2016.11.004>.

<sup>6</sup>Gouyette A, Duhau L, Immunoconjugués. *L'Observatoiremars* 2017 ;41 ;2.