

# ELA

# infos

110

supplément

Juillet 2020 • 4€ • Revue trimestrielle de l'Association Européenne contre les Leucodystrophies



Numéro spécial  
recherche en **2020**

Cette année, compte tenu des circonstances sanitaires exceptionnelles, ELA a décidé de ne pas organiser le colloque familles/chercheurs. Cependant certains chercheurs ont souhaité transmettre un résumé de leur présentation dans ce supplément de la revue ELA Info 110.

## Sommaire

Supplément numéro 110 • juillet 2020

- 3 • Thérapie génique des cellules souches hématopoïétiques avec un vecteur Lentiviral pour la leucodystrophie métagalencéphalique : Résultats cliniques chez 33 patients
- 4 • Réversibilité dans la leucoencéphalopathie mégalencéphalique : mécanismes moléculaires et thérapeutiques
- 5 • Nous nous rapprochons d'un meilleur traitement de la maladie de Krabbe
- 6 • Étude Minoryx en France
- 6 • Modélisation du syndrome 4H à l'aide de cellules souches de patients
- 7 • Les maladies génétiques - atelier Leucodystrophies indéterminées
- 8 • Appel d'Offres 2020

### SUPPLÉMENT ELA infos n° 110 :

2 rue Mi-les-Vignes • CS 61024 • 54521 LAXOU CEDEX • Tél. 03 83 30 93 34 • Fax 03 83 30 00 68

• Courrier électronique : [ela@ela-asso.com](mailto:ela@ela-asso.com) • Directeur de la publication : Guy Alba

• Conception et réalisation : Phonem Création Design Communication

• Crédit photos : INSERM

Commission paritaire : n° 0121 H 84204 • Reproduction d'articles ou d'extraits d'articles autorisée après accord donné par la rédaction de la revue. Mention obligatoire : "Extrait du bulletin d'information d'ELA, Association Européenne contre les Leucodystrophies".

# Information des chercheurs aux familles d'ELA

## Thérapie génique des cellules souches hématopoïétiques avec un vecteur Lentiviral pour la leucodystrophie métachromatique : résultats cliniques chez 33 patients



**Dr. Vera Gallo - MD, Pédiatre, Institut de  
Thérapie Génique (SR-TIGET) San Raffaele  
- Telethon (SR-TIGET), Milan, Italie**

La leucodystrophie métachromatique (MLD) est une maladie métabolique héréditaire rare et potentiellement mortelle qui survient lors d'environ une naissance vivante sur 100 000. La leucodystrophie métachromatique est causée par une mutation du gène de l'arylsulfatase A (ARSA) qui entraîne l'accumulation de sulfatides dans le système nerveux central et périphérique et dans d'autres parties du corps, y compris le foie, la vésicule biliaire, les reins et / ou la rate. Au fil du temps, le système nerveux est endommagé et les patients atteints de leucodystrophie métachromatique connaîtront des problèmes neurologiques tels qu'une régression motrice, comportementale et cognitive, une spasticité sévère et des convulsions, ce qui leur rendra de plus en plus difficile de se déplacer, de parler, d'avaler, de manger et de voir. Actuellement, il n'existe aucun traitement efficace contre la leucodystrophie métachromatique. Dans sa forme infantile tardive, la mortalité à 5 ans après le début des symptômes est estimée à 50%, et chez les patients juvéniles, la mortalité à 10 ans est de 44%. OTL-200 est une thérapie génique ex vivo, autologue, basée sur les cellules souches hématopoïétiques développée pour le

traitement de la leucodystrophie métachromatique, acquise par Orchard auprès de GSK en avril 2018. OTL-200 est issue d'une collaboration novatrice entre GSK et l'hôpital San Raffaele et la Fondation Téléthon en Italie, agissant par le biais de leur institut de thérapie génique conjoint à Milan, lancé en 2010.

Selon les dernières analyses intermédiaires, 33 patients atteints de leucodystrophie métachromatique à début précoce ont été traités par thérapie génique dans deux essais cliniques et un programme d'accès élargi. L'efficacité et l'innocuité ont été évaluées chez des patients suivis jusqu'à 7,5 ans après la thérapie génique. Une phase de suivi à long terme est en cours jusqu'à ce que tous les patients terminent au moins 8 ans de suivi post-traitement. Vingt-neuf patients ont été traités avec une formulation fraîche d'OTL-200, issue de l'étude d'homologation et du programme d'accès élargi, et quatre ont été traités avec une formulation cryoconservée, dans le cadre d'un essai clinique distinct.

### Formulation fraîche

Les résultats des 29 patients (16 enfants ayant une forme infantile tardive et 13 ayant une forme juvénile précoce) (durée médiane de suivi de 3,16 ans – allant de 0,64 à 7,51 ans) traités avec une formulation fraîche OTL-200 ont été comparés à ceux d'une cohorte représentative de l'histoire naturelle de la maladie, de 31 ans patients de la même tranche d'âge, ayant une leucodystrophie métachromatique à début précoce n'ayant pas reçu de traitement.

Le traitement par OTL-200 a été bien toléré et présentait un profil bénéfice-risque positif, sans événement indésirable ni décès lié au traitement, et sans signe de génotoxicité.

À ce jour, aucun cas de tumeur maligne ou d'événement indésirable indiquant une transformation oncogénique n'a été signalé. Il n'y a eu aucun signe de prolifération clonale anormale évaluée par un examen clinique et de laboratoire. Comme indiqué précédemment, deux patients de l'étude d'enregistrement, qui étaient symptomatiques au moment du traitement, sont décédés en raison d'une progression rapide de la maladie sans rapport avec le traitement par thérapie génique. Un patient de la cohorte d'accès élargi est décédé des suites d'un infarctus cérébral ischémique, également jugé sans rapport avec le traitement par OTL-200.

Une greffe durable et stable de cellules génétiquement corrigées a été observée dès le premier mois suivant le traitement, avec un nombre de copies de vecteur persistant dans les cellules de moelle osseuse CD34 + et les cellules de moelle circulantes (PBMC), tout au long du suivi, pour tous les sujets. La reconstitution de l'activité ARSA dans le système hématopoïétique a été observée dans les deux populations (stade infantile tardif et stade juvéniles précoces), se stabilisant à des niveaux normaux à supranormaux en trois mois. L'activité ARSA dans le liquide céphalo-rachidien a montré un schéma similaire; des niveaux normaux ont été observés 6 à 12 mois après le traitement, démontrant une production enzymatique efficace dans le système nerveux central.

Une différence sur la fonction motrice globale due au traitement, telle que mesurée par l'échelle de mesure de la fonction motrice

globale (GMFM), a été confirmée avec l'ajout de plus de patients. Une différence résultant du traitement, sur la mesure de la fonction motrice globale (GMFM), statistiquement significative- au-dessus du seuil d'amélioration de 10 points de pourcentage préétabli dans l'essai - a été observée entre les patients traités par OTL-200 et les patients de la même tranche d'âge n'ayant pas reçu de traitement de la cohorte représentative de l'histoire naturelle.

- La différence due au traitement entre les patients ayant une forme infantile tardive traités et la cohorte d'histoire naturelle, de la même tranche d'âge et n'ayant pas reçu de traitement, était de 65,6 points de pourcentage ( $p < 0,001$ ) et de 71,5 points de pourcentage ( $p < 0,001$ ) à deux et trois ans de suivi, respectivement.
- La différence due au traitement entre les patients ayant une forme juvénile précoce traités et la cohorte d'histoire naturelle, de la même tranche d'âge et n'ayant pas reçu de traitement, était de 42 points de pourcentage ( $p = 0,036$ ) et de 56,7 points de pourcentage ( $p = 0,001$ ) à deux et trois ans de suivi, respectivement.

L'effet le plus grand a été observé chez les patients traités avant la présentation de symptômes manifestes. La majorité d'entre eux ont montré un développement moteur normal, une stabilisation du dysfonctionnement moteur, ou un retard significatif dans la progression de la maladie, tels que mesurés par l'échelle de mesure de la fonction motrice globale (GMFM) et la classification de la fonction motrice globale pour la leucodystrophie métachromatique (GMFC)-MLD.

La fonction cognitive a été maintenue à des valeurs normales pour la plupart des sujets, indépendamment de leur état symptomatique au moment du traitement, à un âge où les patients de la cohorte d'histoire naturelle n'ayant pas reçu de traitement, présentaient une déficience cognitive sévère.

La notion d'efficacité clinique est également appuyée par l'observation de la prévention ou de la stabilisation de la démyélinisation, de l'atrophie du système nerveux central, ainsi que des anomalies du système nerveux périphérique chez la majorité des sujets traités.

### Formulation cryoconservée

Au moment de l'analyse en mars 2019, quatre patients atteints de leucodystrophie métachromatique à début précoce (deux ayant une forme infantile tardive et deux ayant une forme juvénile précoce) avaient été traités avec la formulation cryoconservée d'OTL-200. Tous les patients sont en vie et ont été suivis pendant au moins un mois, avec le suivi le plus long jusqu'à 12 mois chez le premier patient traité (suivi médian de 0,38 ans).

Les premiers résultats chez les patients recevant la formulation cryoconservée ont démontré ce qui suit:

- La prise de greffe de cellules génétiquement corrigées a été observée chez tous les patients recevant la formulation cryoconservée un mois après le traitement, et est restée stable pendant toute la durée du suivi pour chaque patient, dans les proportions observées chez les patients traités avec la formulation fraîche.
- La reconstitution de l'activité de l'enzyme arylsulfatase-A (ARSA) dans le sang périphérique et le liquide céphalorachidien (comme marqueur de substitution de la correction métabolique dans le cerveau) à des niveaux normaux ou supranormaux est cohérente avec les résultats observés chez les patients traités avec la formulation fraîche, aux mêmes stades dans le temps.
- Le profil d'innocuité émergent de la formulation cryoconservée est cohérent avec le profil d'innocuité observé dans la formulation fraîche (aucun événement indésirable lié au traitement ou signe de transformation oncogène n'a été rapporté chez les patients recevant la formulation cryoconservée à la date de l'analyse).

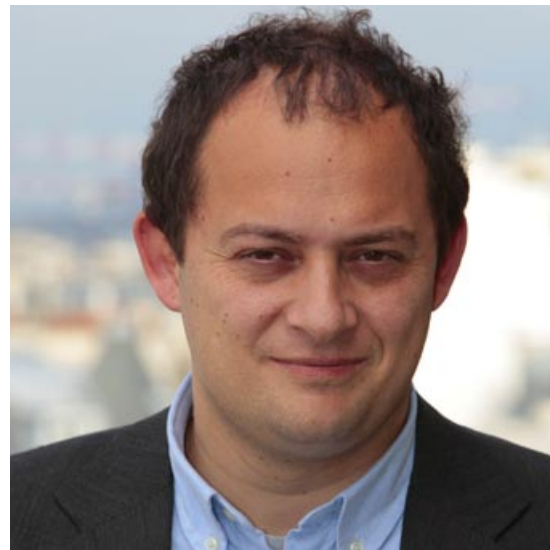
- Des éléments préliminaires suggèrent également que le premier patient traité avec la formulation cryoconservée a progressivement acquis de nouvelles capacités motrices.

### Directions futures

En novembre 2019, la société a déposé une demande d'autorisation de mise sur le marché, ou MAA, pour l'OTL-200 en Europe, actuellement en cours d'évaluation par l'Agence Européenne des Médicaments (EMA). Des travaux sont également en cours pour préparer une demande de licence de produits biologiques, ou BLA, à soumettre aux États-Unis.

Entre-temps, d'autres patients atteints de leucodystrophie métachromatique à début précoce (formes infantiles tardives pré-symptomatiques, ou juvéniles précoces pré-symptomatiques ou juvéniles précoces à un stade symptomatique précoce) ont été traités dans le cadre de l'essai en cours utilisant la formulation cryoconservée du médicament (ClinicalTrials.gov Identifiant : NCT03392987), dont le recrutement est maintenant terminé.

## Réversibilité dans la leucoencéphalopathie mégalencéphalique : mécanismes moléculaires et thérapeutiques



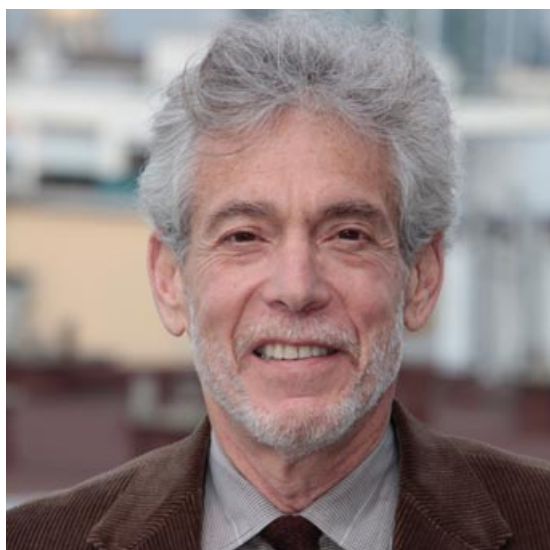
### Raúl Estévez - PhD, Université de Barcelone / IDIBELL & CIBERER

La leucoencéphalopathie mégalencéphalique avec kystes sous-corticaux (MLC) est une maladie génétique rare appartenant au groupe des leucodystrophies cavitaires. Elle se caractérise par une mégalencéphalie, une perte des fonctions motrices, une épilepsie et un léger déclin mental. Dans les biopsies cérébrales de patients atteints de MLC, des vacuoles ont été observées dans la myéline et dans les astrocytes entourant les vaisseaux sanguins. Il n'y a pas de thérapie pour les patients ayant une leucoencéphalopathie mégalencéphalique avec kystes sous-corticaux, seulement un traitement de soutien. Elle est causée principalement par des mutations récessives dans les gènes MLC1 et GLIALCAM. Ces variantes sont appelées MLC1 et MLC2A, les

deux types de patients partageant le même phénotype clinique. De plus, des mutations dominantes dans le gène *GLIALCAM* ont également été identifiées chez un sous-type de patients ayant une leucoencéphalopathie mégalencéphalique avec kystes sous-corticaux (MLC2B) avec un phénotype rémittent (présentant des périodes de rémissions). Cependant, on ne sait pas pourquoi certaines mutations se comportent comme récessives ou dominantes. Nos nouveaux résultats ont fourni un cadre qui peut être utilisé pour savoir si une mutation de *GLIALCAM* sera récessive ou dominante, et si elle causera la forme plus légère de la maladie.

Comme les patients MLC2B présentent un phénotype réversible de leucoencéphalopathie mégalencéphalique avec kystes sous-corticaux, nous avons supposé que le phénotype des patients MLC1 et MLC2A pourrait également être corrigé par la réintroduction du gène correct à des stades ultérieurs. Pour prouver cette hypothèse, nous avons injecté dans l'espace sous-arachnoïdien cérébelleux de modèles invalidés pour le gène *Mlc1*, un virus adéno-associé codant pour la MLC1 humaine, sous le contrôle du promoteur de la protéine acide glio-fibrillaire. L'expression de MLC1 dans le cervelet a fortement (extrêmement) réduit la vacuolisation de la myéline à tous les âges. En résumé, nous suggérons ici que la restauration de l'expression de MLC1 dans le cerveau des patients ayant une leucoencéphalopathie mégalencéphalique avec kystes sous-corticaux de type MLC1, pourrait inverser le phénotype de la maladie, comme cela se produit chez les patients ayant une leucoencéphalopathie mégalencéphalique avec kystes sous-corticaux de type MLC2B. Cette étude préclinique pourrait être considérée comme la première approche thérapeutique pour les patients atteints de MLC.

## Nous nous rapprochons d'un meilleur traitement de la maladie de Krabbe



David A Wenger - Professeur de Neurologie, Jefferson Medical College, Philadelphie, Etats-Unis

Depuis que ce laboratoire a d'abord purifié la galactocérébrosidase (GALC) et cloné l'ADNc et le gène, de nombreuses études ont été menées pour identifier les mutations

provoquant cette maladie génétique. Le seul traitement actuellement disponible pour certains patients est la greffe de cellules souches hématopoïétiques (HSCT). S'il est effectué suffisamment tôt, ce traitement prolonge la vie des personnes traitées. Mais la plupart des patients ont du mal à marcher dix ans après, ce qui indique que le traitement n'a pas corrigé le système nerveux périphérique. Des études précliniques sont en cours dans le modèle de souris appelé twitcher (*twi*), utilisant un vecteur viral « AAVrh10 » contenant l'ADNc de l'enzyme altérée (GALC de la souris), donné seul ou en combinaison avec une greffe de moelle osseuse.

La combinaison de la greffe de moelle osseuse avec une injection intraveineuse unique d'AAVrh10-GALC vers le 10<sup>e</sup> jour post-natal, entraîne une survie beaucoup plus longue que l'un ou l'autre des traitements seuls. De plus, le vecteur viral fournit rapidement une grande quantité d'activité GALC aux tissus critiques. En utilisant les conditions de dosage et de synchronisation précédemment publiées par notre laboratoire, la durée de vie moyenne des souris affectées a été étendue : de 40 jours lorsqu'elles ne sont pas traitées à près de 400 jours ; certaines souris traitées vivant plus de 600 jours, c'est-à-dire une durée de vie normale.

Les souris traitées présentent une myélinisation normale du système nerveux central et périphérique. Il n'y a aucune preuve de modifications néoplasiques du foie telles que rapportées par d'autres laboratoires utilisant différentes méthodes de traitement. Pour nous rapprocher d'un essai sur l'homme, nous faisons varier le moment et le dosage du traitement pour obtenir les conditions optimales. L'abaissement de la dose d'AAVrh10-GALC entraîne une durée de vie plus courte que celle que nous avons publiée, et une dose plus élevée de vecteur viral augmente encore la durée de vie moyenne, bien que cela ne soit pas statistiquement significatif. Retarder l'injection du vecteur viral après la greffe de moelle, de cinq ou 10 jours au lieu d'un jour, a donné un résultat positif similaire. Cependant, retarder à la fois la greffe de moelle et l'injection virale de 20 jours a entraîné une durée de vie moyenne plus courte chez les souris traitées. Cela indique que des dommages sont survenus dans le système nerveux qui ne peuvent pas être corrigés. Ces études aident à fournir un calendrier de traitement, au moins dans le modèle murin. Dans le cadre des études précliniques, l'agence américaine FDA a exigé des études toxicologiques chez 150 rats, pour voir si le vecteur viral provoque des changements pathologiques graves dans tous les tissus. Seuls des changements pathologiques minimes ont été observés dans n'importe quel tissu. Des études menées chez quelques chiens atteints de la maladie de Krabbe, combinant la greffe de moelle et l'injection d'iv AAVrh10-GALC, ont montré des résultats très positifs qui sont également en corrélation avec la dose du vecteur viral. Alors que les chiens atteints non traités ne vivent que pendant 17 semaines environ, un chien traité de 2 ans s'est comporté de façon complètement normale. Espérons que ces études mèneront dans un avenir proche à un essai clinique utilisant cette méthode de traitement chez les nourrissons atteints de la maladie de Krabbe. Remerciements: Cette recherche a été financée en partie par une subvention de la Legacy of Angels Foundation.

## Étude Minoryx en France



**Elise YAZBECK - Médecin, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, Paris**

L'adrénomyélongueuropathie (AMN) est la variante adulte de l'adrénoleucodystrophie liée à l'X, une maladie due à la mutation du gène ABCD1, qui entraîne un défaut de dégradation du peroxydome et une accumulation ultérieure d'acides gras à très longue chaîne (AGTLC). Les patients atteints d'adrénomyélongueuropathie présentent une dégénérescence de la moelle épinière avec paraparésie spastique progressive et dysfonctionnement du sphincter. La plupart des patients ont une insuffisance surrénale et environ 30% peuvent également développer une démyélinisation cérébrale (adrénoleucodystrophie cérébrale adulte, A-CALD). Les femmes porteuses hétérozygotes peuvent également présenter des symptômes d'adrénomyélongueuropathie, mais pas d'insuffisance surrénale ni de démyélinisation cérébrale.

À ce jour, le traitement des patients atteints d'adrénomyélongueuropathie se limite à une prise en charge symptomatique, en l'absence de traitement curatif.

L'étude ADVANCE est un essai clinique qui teste l'effet d'un nouveau médicament appelé MIN-102 chez des patients adultes de sexe masculin atteints d'adrénomyélongueuropathie liée à l'X (X-AMN). Cent seize patients sont entrés dans cette étude dans des hôpitaux de différents pays d'Europe et des États-Unis. Sur ces 116 patients, 2/3 sont traités par MIN-102 (environ 77 patients) pendant 2 ans, et 1/3 reçoivent un placebo (environ 39 patients), mais personne ne sait qui prend quoi. Vingt-trois patients atteints d'AMN ont été inscrits dans cette étude en France.

L'essai clinique ADVANCE étudie la progression de la maladie principalement à travers des tests cliniques (distance de marche, équilibre et force musculaire) et des questionnaires qui évaluent comment les patients se sentent dans leur vie quotidienne.

En outre, à Paris, une étude d'imagerie dédiée a été développée avec des techniques avancées qui permettent de voir en détail comment le cerveau et la moelle épinière évoluent avec le traitement en termes de taille, de structure / densité et d'altérations métaboliques biologiques.

L'essai clinique ADVANCE étudie également l'innocuité et la tolérance du MIN-102, car les médecins participant à l'étude examinent en détails et attentivement les sentiments des patients, et effectuent des tests de sécurité en laboratoire. Les événements indésirables les plus fréquents observés dans cet essai clinique sont la prise de poids et la rétention de liquide (œdème). La plupart

des cas ont été d'intensité légère ou modérée, et ils peuvent être traités avec une réduction de dose de MIN-102.

L'étude a commencé en décembre 2017 et devrait s'achever en novembre 2020.

## Modélisation du syndrome 4H à l'aide de cellules souches de patients

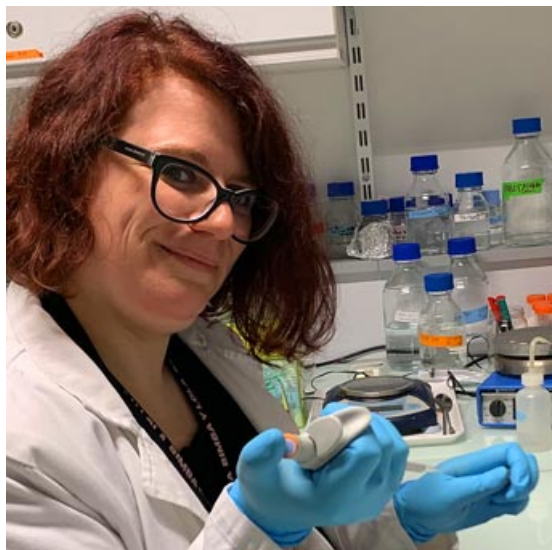


**Vivi Heine - Emma Children's Hospital, Neuroscience, Amsterdam UMC, Amsterdam, Pays-Bas**

Le syndrome 4H, est un trouble héréditaire de la substance blanche du cerveau (leucodystrophie). Il entraîne un handicap clinique considérable, allant de léger à sévère. La condition des patients se détériore généralement avec le temps. Il n'y a pas encore de traitement et nous ne comprenons pas ce qui ne va pas dans le cerveau. Il n'y a pas de bons modèles animaux pour cette maladie, ce qui entrave la recherche. Nous pensons qu'en plus de la substance blanche et de la myéline, les cellules nerveuses (les neurones, aussi présentes dans la matière grise) et leurs extensions (les axones) sont également endommagés dès les premiers stades de la maladie. Dans notre projet, nous souhaitons explorer cette implication de la matière grise avec une approche innovante.

Il est possible de générer des cellules de la substance blanche et de la matière grise, à partir de fibroblastes cutanés de personnes témoins et de patients 4H. Des études antérieures ont montré dans les cellules des patients 4H, une expression altérée des gènes impliqués dans le développement des cellules nerveuses. Comme les cellules nerveuses fournissent des signaux nécessaires aux globules blancs et à la myélinisation, des neurones altérés pourraient être à l'origine des anomalies trouvées dans la matière grise et la substance blanche des cerveaux des patients 4H. Nous voulons étudier les co-cultures de cellules de matière grise et de cellules de substance blanche, dérivées de cellules de patients, pour savoir comment elles s'influencent mutuellement. À l'avenir, cela pourrait être un bon modèle d'identification de médicaments pour traiter le syndrome 4H.

# Les maladies génétiques - atelier Leucodystrophies indéterminées



## Françoise Piguet - Chercheur INSERM U1127


L'objectif de cet atelier aurait été de repartir sur les bases de la génétique, depuis l'ADN et sa transmission aléatoire par les parents lors de la fécondation jusqu'aux protéines. Notamment l'impact d'une mutation au niveau de l'ADN comment celle-ci se caractérise au niveau des protéines (déficience, structure anormale, présence mais protéine non fonctionnelle, etc). Ensuite, nous aurions abordé l'étude de ces mutations. Comment est-il possible comprendre l'impact d'une mutation dans le génome, soit par étude des cellules de patients, et par prédiction en analyse bio-informatique sur la structure de la protéine et sa fonction. Nous aurions de plus abordé la création de lignées de souris génétiquement modifiées afin de permettre une compréhension de la physiopathologie de la maladie.

Enfin pour finir nous aurions abordé le concept de thérapie génique et les perspective thérapeutique qu'il peut y avoir dans le cas de ces maladies.

Comme cet atelier ne peut avoir lieu. Je souhaite détailler un peu plus comment peut être identifier une mutation à l'origine d'une maladie génétique et comment peut-on la différencier d'un polymorphisme génique ?

Lors d'une suspicion de maladie génique, le diagnostic est d'abord restreint par les observations cliniques et par IRM par exemple. Ensuite, un test génétique pourra être menée sur un gène suspecté (par exemple ARSA dans le cas d'une suspicion de MLD). Si l'on est face à une leucodystrophie indéterminée, dans ce cas on pourra lancé un séquençage plus large du génome afin trouver l'anomalie génétique. On peut alors faire face à la question mutation ou polymorphisme. Afin de faire la différence, on va pouvoir rechercher la fréquence de cette anomalie dans la population générale, si elle est retrouvée de manière répandue chez des individus asymptomatiques, on va alors parler de polymorphisme.





Malgré les circonstances exceptionnelles, ELA a, comme chaque année, publié un Appel d'Offres à destination de la communauté scientifique internationale.

Les thématiques retenues pour l'Appel d'Offres 2020 sont :

- Essai Clinique / préparation aux essais cliniques dans les leucodystrophies, y compris l'élaboration d'indicateurs d'effets à long terme, la caractérisation de biomarqueurs, des protocoles d'imagerie, des études pharmacodynamique / pharmacocinétiques.
- Études précliniques testant spécifiquement des thérapies (thérapies géniques, cellulaires, enzymologiques ou pharmacologiques) dans les leucodystrophies.
- Développement de modèles animaux ou cellulaires (par exemple iPSC dérivées de patients) pertinents des leucodystrophies humaines.
- Études des mécanismes responsables des leucodystrophies, afin d'identifier de nouvelles approches thérapeutiques.