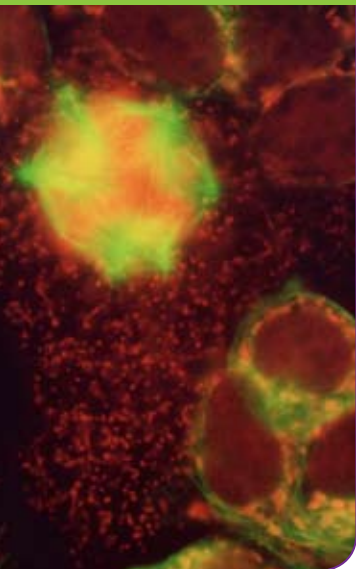


Tests génétiques, marqueurs biologiques d'efficacité et suivi immunologique pour la sécurité des traitements

Évaluer la prédisposition du patient à répondre à tel ou tel traitement, voilà qui simplifierait la vie des thérapeutes prédisant et prescrivant les procédures à suivre, et surtout cela permettrait d'écartier les malades pour lesquels les traitements sont davantage délétères que bénéfiques pour leur santé. C'est tout l'objectif de certains laboratoires et sociétés de biotechnologies qui développent des tests génétiques et des marqueurs biologiques d'efficacité pour optimiser la sécurité des traitements. Des avancées récentes dans la compréhension et le suivi du système immunitaire laissent par ailleurs présager un réel avenir pour la médecine personnalisée et surtout laissent espérer d'éviter un jour les incompatibilités patient/traitement, parfois fatales.



Immunofluorescence.

© BSIP/Phototake/Toussion

Tests génétiques, marqueurs biologiques d'efficacité et suivi immunologique pour la sécurité des traitements

Les laboratoires hospitaliers d'immunologie manquent de moyens et sont à la recherche de tests simples utilisables par les praticiens biologistes et donnant des résultats rapides, par la création d'un répertoire immunitaire. Ces tests présentent l'avantage du suivi précis de l'évolution du système immunitaire du patient en phase de cancer. Plusieurs entreprises ont choisi ce secteur de développement. Les espoirs reposent également sur la protéomique, qui permettrait de développer en amont des marqueurs supposés prédire la toxicité et l'efficacité d'un traitement.

« **P**our le clinicien, la connaissance fine de l'évolution du profil immunitaire d'un patient au cours de son traitement serait particulièrement intéressante dans le cas de leucémies aiguës, de déficit immunitaire ou encore de greffe de moelle osseuse » résume le Professeur Yves Bertrand¹, responsable du service d'hémo-oncologie pédiatrique à l'hôpital Debrousse (Lyon, 69).

Intérêts du répertoire immunitaire

Dans le premier cas de figure, la réponse précoce au traitement, qui peut notamment être analysée par l'étude de la maladie résiduelle est fondamentale dans le succès de la thérapie. Or, lorsque le taux de cellules leucémiques devient inférieur à 1 % dans la moelle osseuse, ces dernières ne sont plus visibles au microscope, « d'où l'intérêt de disposer d'outils plus sophistiqués que ceux utilisés usuellement en clinique afin de dépister la moindre cellule anormale », explique le Pr Bertrand. « La démarche actuelle est d'étudier le réarrangement des gènes d'immunoglobulines ou du récepteur T pour les leucémies aiguës lymphoblastiques », rappelle-t-il, mais « une société de biotechnologie grenobloise, ImmunID, propose désormais de repérer et suivre un clone lymphoïde anormal à partir d'un échantillon sanguin » (voir encadré). Il s'agit là d'une technologie de repérage rapide, mais dont l'objectif est similaire : détecter une cellule anormale parmi un ensemble de cellules normales.

À la recherche de tests simples pour les biologistes

Un second avantage du suivi précis de l'évolution du système immunitaire se trouve de façon évidente dans le traitement des déficits immunitaires de l'enfant. « Les solutions de reconstitution immunitaire disponibles aujourd'hui sont la thérapie génique – développée par le Pr A. Fischer – ou la greffe de cellules souches hématopoïétiques, qui consiste au remplacement des lymphocytes anormaux », récapitule le Pr Bertrand. Si des technologies qui ont d'ores et déjà fait leurs preuves dans le cas des leucémies sont accessibles, les laboratoires hospitaliers d'immunologie manquent en revanche de moyens et sont à la recherche de tests simples utilisables par les praticiens biologistes et donnant des résultats rapides. « C'est pourquoi nous lançons actuellement une étude afin de comparer les résultats issus de technologies classiques utilisées en routine à l'hôpital, et ceux obtenus à partir d'échantillons similaires par la technologie ImmunID ».

Les espoirs de la protéomique

Enfin, autre intérêt, et non des moindres, de l'étude du répertoire immunitaire du patient : la greffe de moelle osseuse allogénique à partir d'un donneur. « Ceci est particulièrement important, car nous sommes obligés préalablement à la greffe de détruire la moelle osseuse du receveur, et plusieurs mois sont ensuite nécessaires pour la reconstitution

La "météo immunitaire" révélée !

La société ImmunID s'intéresse à l'évolution du système immunitaire et affiche l'ambition de faire des prévisions immunologiques au service des cliniciens, « *en estimant la diversité du répertoire immunitaire d'un individu* », dont les modifications sont associées à un grand nombre de pathologies. Créée en avril 2005 à Grenoble par Nicolas Pasqual (CEO) et Sébastien Weisbuch (COO), la société ImmunID est ainsi spécialisée dans le suivi immunitaire pour des applications à la fois dans le domaine de l'immunostimulation et du diagnostic. « *ImmunID utilise l'analyse du système immunitaire (SI) pour suivre l'état de santé d'un patient, et notre vocation est de développer des solutions en immunosurveillance du SI* », explique Sébastien Weisbuch, « *notre objectif étant entre autres au final de développer des outils sous forme de kits de diagnostic* ». « *Nous cherchons à répondre à la fois aux demandes des cliniciens et des biologistes* », insiste Nadia Plantier, directrice Ventes et marketing. Aussi, la technologie innovante développée

s'offre-t-elle aux hématologues et oncologues, par exemple pour l'identification de patientes à risque élevé de rechute dans le cas de cancer du sein, et donc susceptibles de ne pas supporter un nouveau traitement par chimiothérapie (application en cours de validation avec le centre Léon-Bérard de Lyon, 69). « *Nous recherchons ici à mettre en place une dynamique originale visant à coupler de manière systématique un test de diagnostic personnalisé à un traitement innovant, afin de mesurer en direct l'efficacité du traitement et d'identifier rapidement les patients bons ou mauvais répondeurs* », précise Nicolas Pasqual. « *Les premiers pourront bénéficier d'une diminution de leurs doses et éviter certains effets secondaires néfastes. Quant aux seconds, leurs traitements pourront être réorientés rapidement par les médecins afin d'espérer de meilleures chances de guérisons* ».

Pour en savoir plus : www.immunid.com

de l'immunité », explique le Pr Bertrand. Le suivi de cette reconstruction de l'immunité via l'analyse d'échantillons sanguins est donc primordial, notamment dans la surveillance de la réaction du greffon contre l'hôte (GvHD ou *Graft versus Host Disease*). « *Le choix privilégié pour le traitement précoce de la GvHD est la photochimiothérapie extracorporelle* », précise le Pr Gérard Socié¹, chef de service du département d'hématologie et transplantation à l'hôpital Saint-Louis (Paris, 75). « *Face à la GvHD, qui correspond à une dérégulation du système immunitaire, on ne dispose pas de prédicteurs biologiques de la réponse* », déclare-t-il. Les espoirs reposent selon lui sur la protéomique, qui permettrait de développer en amont des marqueurs supposés prédire la toxicité et l'efficacité d'un traitement. « *Les outils à l'heure actuelle*

sont grossiers et bien évidemment on manque de marqueurs de prédisposition aux traitements ». Certains laboratoires s'appliquent toutefois à renverser ce constat de manque. Ils sont entre autres pour cibles, le traitement du lymphome non hodgkinien (LNH), de la mucoviscidose ou encore du cancer du sein.

Un test pharmacogénomique préalable au traitement du LNH

Particulièrement efficace pour de nombreux patients affectés par cette maladie, le traitement par rituximab² n'est toutefois pas adapté à tous, d'où l'intérêt d'évaluer leur prédisposition à répondre à la médication en question. C'est grâce à un test pharmacogénomique développé par la société Innate Pharma (voir encadré) et commercialisé par

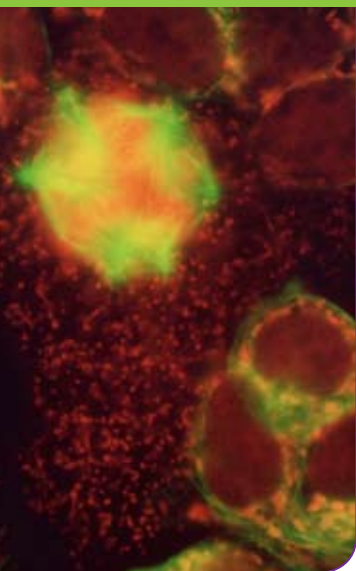
Le système immunitaire inné en ligne de mire

Société biopharmaceutique fondée en 1999 à Marseille, et dont le cœur de métier est de développer des médicaments ciblant le système immunitaire inné, Innate Pharma SA est listée sur le marché Euronext (compartiment C) d'Euronext Paris depuis le 1^{er} novembre 2000. Trois plateformes de produits (cellules T *gamma/delta*, cellules NK et TLR) ont été créées, bénéficiant chacune d'éléments de validation clinique, directs ou indirects, en cancérologie. En dehors du cancer, les candidats médicaments d'Innate Pharma présentent un potentiel de développement dans le traitement des maladies infectieuses et des pathologies inflammatoires chroniques. Fortement positionnée dans la pharmacologie de l'immunité innée, Innate Pharma affiche vouloir devenir un acteur majeur sur le marché en forte croissance de l'immunothérapie.

Pour en savoir plus : www.innate-pharma.com



© BSIP/K Eward/Biografix



Immunofluorescence.

© BSIP/Phototaker/Toussion

Le séquençage nouvelle génération

Très connue dans le monde du séquençage génomique, la division Santé Cogenics de Clinical Data est très focalisée sur le développement de tests génétiques et de biomarqueurs. Elle propose ainsi des prestations de service en pharmacogénomique et biologie moléculaire. Son objectif est de prédire la sécurité et l'efficacité des traitements afin de diminuer les coûts de santé et d'améliorer les résultats cliniques. Elle se conforme au standard réglementaire (CLIA) concernant les données utilisées à des fins de diagnostic clinique. Présente en France (région de Grenoble), suite à l'acquisition de la société Genome Express, Cogenics a récemment conclu un important partenariat avec Roche. Ce dernier porte à la fois sur l'acquisition d'une plateforme de séquençage nouvelle génération et la signature d'un accord de co-marketing. La société étend ainsi ses services aux grands organismes de recherche comme aux acteurs principaux des secteurs pharmaceutique, vétérinaire, cosmétique, agronomique et aux entreprises de biotechnologie ou bioproduction.

Pour en savoir plus : PGxHealth®, division de Clinical Data dédiée au développement de tests génétiques et de marqueurs biologiques d'efficacité et de sécurité des traitements. www.pgxhealth.com

Clinical Data (voir encadré) que cela est désormais possible.

Effectivement, le test *PGxPredict:RITUXIMAB*® vise à déterminer la susceptibilité des patients atteints de LNH à réagir à l'anticorps monoclonal cytotoxique, désigné sous le terme de traitement par rituximab. Basé sur la détermination des variants du gène codant pour le récepteur Fc-gamma-IIIa, le test se révèle prédictif de la réponse au traitement chez plus de 90 % des patients étudiés atteints de LNH. Clinical Data développe donc le test (sous licence exclusive en accord avec Innate Pharma) depuis novembre 2006.

Autre maladie visée, la mucoviscidose

Actuellement en développement, de nouveaux tests génétiques seront prochainement au service d'une approche thérapeutique novatrice de la mucoviscidose. Ils pourraient permettre de cibler des traitements efficaces pour les patients atteints. Ainsi, les malades présentant un type très particulier de mutation du gène *CFTR2* peuvent-ils bénéficier d'un traitement par la gentamicine, un antibiotique couramment utilisé.

À l'origine de cela, une étude de l'unité Inserm 845-Centre de recherche croissance et signalisation en collaboration avec l'Institut de génétique et microbiologie (CNRS/Université Paris-11) et plusieurs centres hospitaliers, publiée

dans *BMC Medicine*³ en mars dernier. Certaines maladies génétiques dites à codons stop – mutations stop ou non-sens du patrimoine génétique – entraînent effectivement la synthèse de protéines tronquées et inactives, et une thérapie originale est en cours de développement depuis quelques années afin de soigner les patients atteints de ces maladies. Dans le cas de la mucoviscidose, le traitement en question consiste à déjouer l'effet de ces mutations non-sens, via le mécanisme de translecture, en utilisant des antibiotiques de la famille des aminoglycosides tels la gentamicine.

Déjouer l'effet des codons stop

Rendant les protéines "inactives" à nouveau fonctionnelles grâce à leur réexpression, cette approche ne concerne toutefois que certaines mutations appelées "bonnes répondeuses". Or la séquence entourant la mutation serait en cause ; il s'agit dans le cas présent du gène *CFTR* (*Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator*), pour lequel plus de 1 500 mutations sont connues. Dix pour cent de ces dernières correspondent à l'apparition d'un codon stop, et l'étude des résultats d'un traitement à la gentamicine sur des patients atteints de mucoviscidose et portant diverses mutations non-sens a révélé que seule une mutation particulière dans le gène *CFTR* (mutation Y122X) permettait d'obtenir un taux de translecture élevé. Vérification faite, le traitement des "bons" patients par perfusion intraveineuse de gentamicine pendant 15 jours révèle un bénéfice thérapeutique significatif, notamment au niveau respiratoire dans deux tiers des cas. Au-delà de ces résultats encourageants, cette étude³ ouvre de nouvelles perspectives thérapeutiques pour d'autres maladies à codons stop telles certaines myopathies.

L'immuno-monitoring au service du cancer

Selon le Pr Jean-Yves Blay⁴, oncologue au CHU et au centre Léon-Bérard de Lyon (69), directeur scientifique du Cancéropôle Lyon-Auvergne-Rhône-Alpes (CLARA), « l'accès à une "météo" immunitaire est un outil puissant qui ouvre de multiples applications potentielles ». Parmi celles-ci, le suivi d'un clone tumoral semble la plus évidente. « S'il se révèle utile au suivi du patient, c'est cet outil qui permettra de prouver l'efficacité du traitement quant à la diminution du nombre de lymphocytes malins résiduels » affirme J.-Y. Blay.

La seconde application, plus subtile, concerne le comportement du système immunitaire du patient en phase de cancer. « La question est effectivement de savoir quelles cellules sont présentes et dans quelles mesures elles sont altérées », précise-t-il, « c'est-à-dire d'accéder à une connaissance beaucoup plus fine du système immunitaire que celle dont on dispose actuellement, beaucoup plus

basique ». Les cellules du système immunitaire sont particulièrement altérées dans le cancer et « le nouvel outil proposé par ImmunID, très puissant, permettrait de mesurer à la fois les altérations quantitatives et qualitatives du SI ».

Infection et cancer

Aussi le protocole d'analyse du répertoire immunitaire mis au point par la *start-up* grenobloise, permettant notamment l'approche des altérations qualitatives du système immunitaire, se retrouve-t-il au cœur du projet transversal Lymphos1, monté en collaboration par le CLARA et le pôle de compétitivité mondiale Lyonbiopôle. Il s'inscrit ainsi dans l'axe de travail "Infection & Cancer", focalisé sur les complications infectieuses des cancers, la biologie de la réponse immune, les facteurs prédictifs et la prise en charge des patients, le but *in fine* étant de permettre la prévention des infections chez les patients hospitalisés à risque.

« Le projet de météo immunitaire va donc bien au-delà de ses ambitions initiales limitées à l'aspect post-greffe », observe J.-Y. Blay. « On n'aurait d'ailleurs pas imaginé au départ avoir un accès simple à de telles données fondamentales concernant le système immunitaire, mais il y a eu une ouverture mutuelle des œillères entre cliniciens et porteurs de projets », commente-t-il. Selon lui, le parallèle est assez frappant avec les prémices de la nanobiomédecine liés au développement des nanobiotechnologies : « les premiers qui se sont engagés dans cette voie ont prêché dans le désert et on les imaginait se lancer dans la guerre des étoiles ! On en est à ce stade avec le concept de "météo immunitaire"... Son importance reste à établir, mais les outils à disposition sont très puissants. On a pour l'instant encore l'impression que c'est de la science-fiction ! ».

Appréhender la toxicité des traitements

Une troisième application tout aussi prometteuse concerne la chimiothérapie pour des patients ayant une altération quantitative du système immunitaire. Celle-ci est effectivement un facteur de pronostic pour de nombreuses pathologies, et l'intérêt pour le biologiste serait d'appréhender un paramètre universel de toxicité des traitements. La chimiothérapie engendre effectivement une dépression immunitaire avec des valeurs en lymphocytes CD4+ proches du sida et une grande fragilité, d'où l'intérêt de disposer d'un outil d'immuno-monitoring exhaustif et sensible, les lymphocytes étant peu nombreux et abîmés.

Enfin, dernière application potentielle : apporter l'équivalent des profils d'expression génique des tumeurs, grâce à un nouvel outil qui n'a encore



© Phanie/Burger

L'objectif des tests génétiques serait de prédéterminer les bons répondeurs aux traitements par chimiothérapie.

pas d'équivalent. « La première tumeur solide visée pourrait être le cancer du sein, car l'environnement immunologique local semble jouer un rôle important dans les premières étapes de la maladie », avance le Pr Blay. Plusieurs questions se posent devant l'opération ; tout d'abord une question d'ordre qualitatif, visant à décrire les altérations du système immunitaire (de sorte à définir si un seul type de lymphocytes ou tous sont altérés). Puis la question de l'impact de la restriction du système immunitaire sur le patient. « On pourrait alors soulever de manière prospective la contribution ou le rôle de défense du système immunitaire dans le cancer du sein », explique J.-Y. Blay. w

Nathaly Mermet

Journaliste scientifique, docteur en neurosciences, Lyon (69)
nathalymermet@aol.com

Notes

1. Propos recueillis à l'occasion du 33^e Congrès annuel du *European Group for Blood and Marrow Transplantation*, 25-28 mars 2007, Lyon (69). www.ebmt.org
2. Le rituximab est un anticorps monoclonal cytotoxique commercialisé par Genentech/Biogen-Idex et Hoffmann-La Roche, respectivement sous les noms de Rituxan® et MabThera®.
3. Sermet-Gaudelus I, Renouil M, Fajac A et al. In vitro prediction of stop-codon suppression by intravenous gentamicin in patients with cystic fibrosis : a pilot study. *BMC Medicine*. 2007 ; 5 : 5.
4. Propos recueillis à l'occasion des 2^{es} Journées scientifiques du Cancéropôle Lyon-Auvergne-Rhône-Alpes, 19-20 mars 2007, Grenoble (38). www.canceropole-clara.com