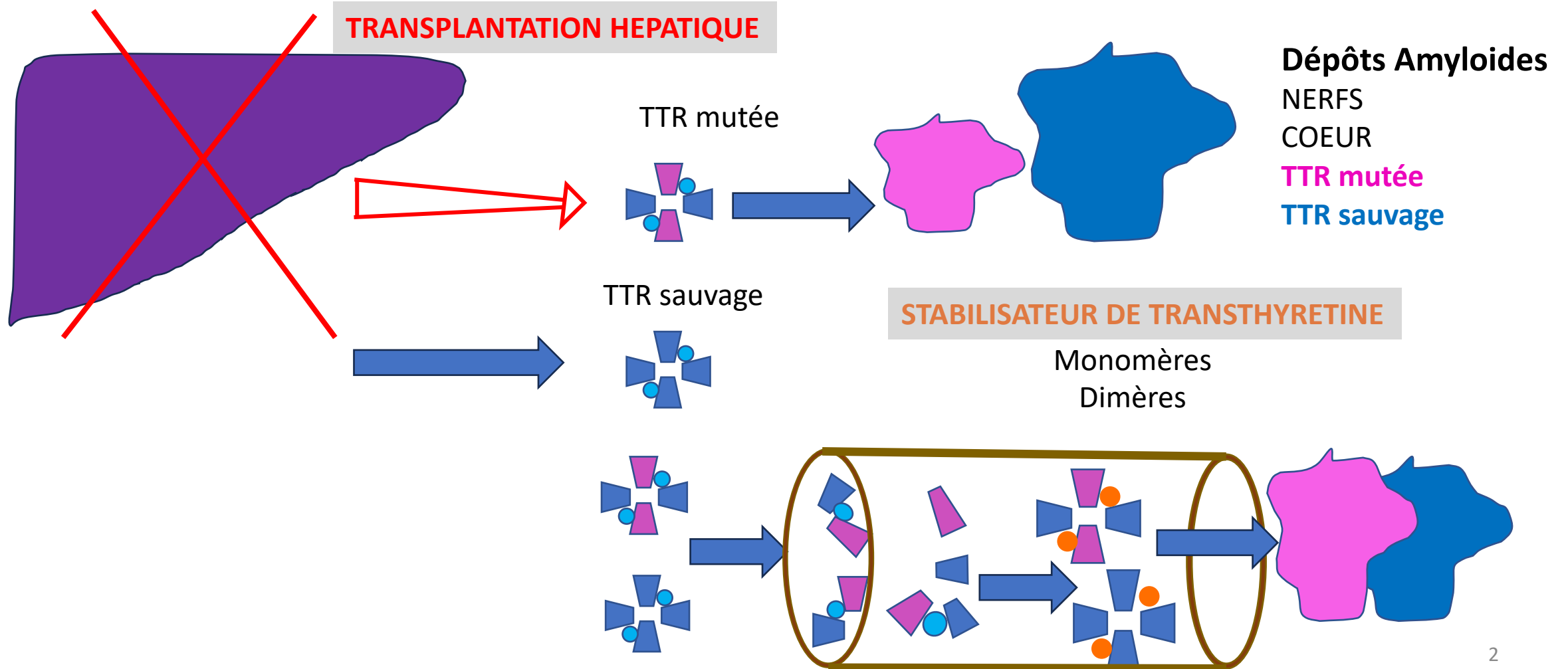


Physiopathologie des nouveaux traitements de l'amylose

SiRNA et Crispr-CAS9

Pr David Adams

Physiopathologie de transplantation hépatique et stabilisateur TTR



Cibles des traitements

Traitements

1. TRANSPLANTATION HEPATIQUE
2. STABILISATEUR DE TTR
3. SiRNA
4. CrisprCAS9

Cibles

1. FOIE
2. Monomères Dimères de TTR dans circulation
3. ARNmessagers de hépatocytes
4. ADN des hépatocytes

Cibles des traitements

1. Foie producteur de TTR mutée

CrisprCAS9

SiRNA

4. ADN Gène TTR



3. ARNmessenger TTR



Protéine TTR

Cellule hépatique

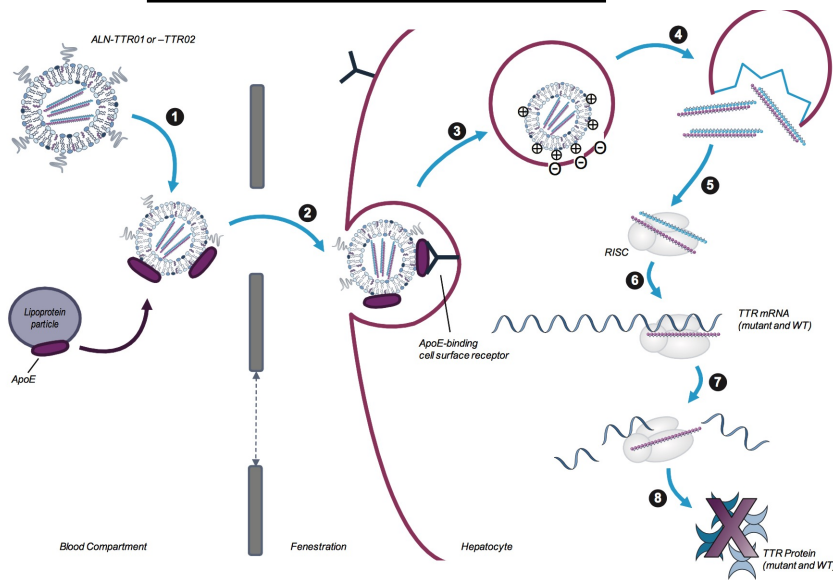
STABILISATEUR DE TTR

2. Fragments de Protéine

TTR

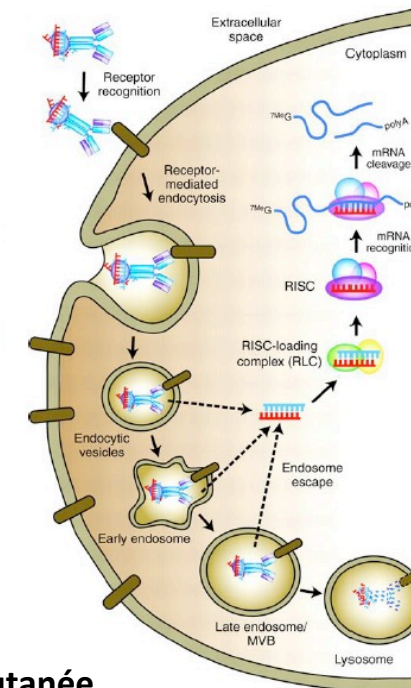
Mécanismes de la 1^{ère} à la 2^{ème} génération de vecteurs de SiRNA

Nanoparticule lipidique



1. **Administration intra-veineuse (IV)**
2. **Fixation** spécifique sur des **récepteurs ApoE** présents à la surface des hépatocytes
3. **Internalisation** dans une vésicule
4. En raison d'un différentiel de pH, **fragmentation** de la nanoparticule
5. **Libération des ARNi** dans le cytoplasme & **Clivage** des ARNm ciblés

GalNac



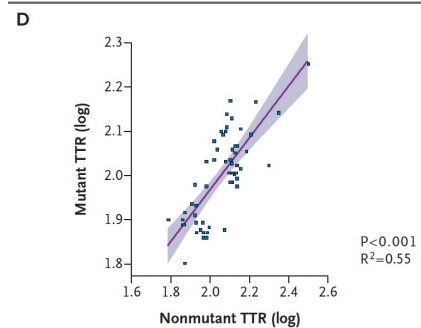
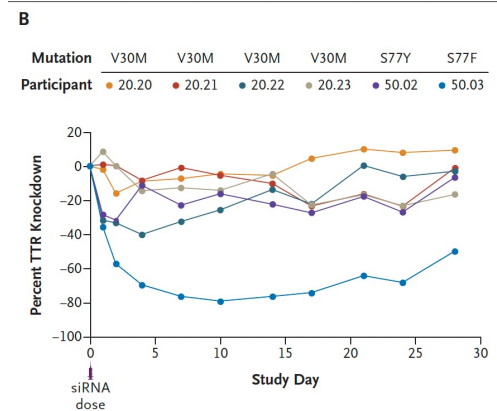
1. **Administration sous-cutanée**
2. **Fixation** spécifique sur des **récepteurs ASGPR** présents spécifiquement à la surface des hépatocytes
3. **Internalisation** dans une vésicule
4. Grâce au **GalNac** et à des **modifications chimiques**, **stabilisation** des ARNi dans l'endosome puis le lysosome (lieu de réserve d'ARNi)
5. **Diffusion passive et prolongée** des ARNi dans le cytoplasme pour cliver l'ARNm ciblé

Objectifs des SiRNA et CrisprCAS9

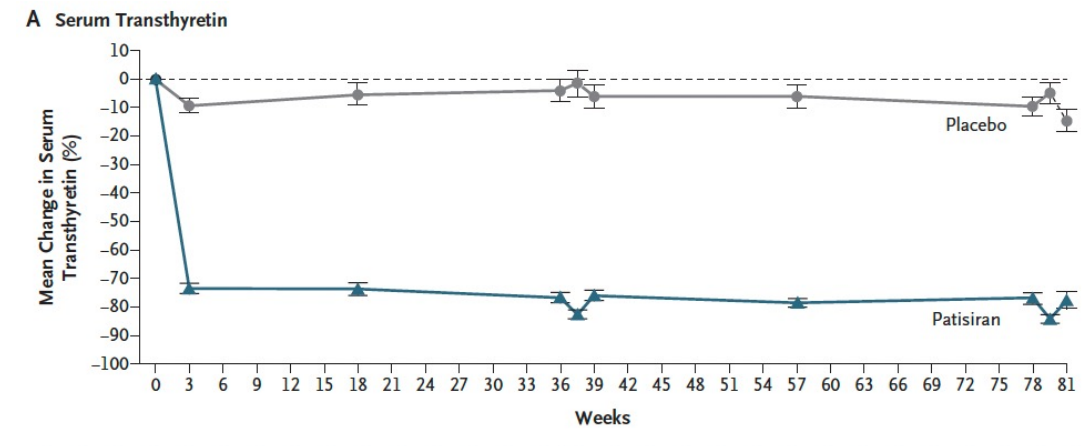
- **Non production de TTRv et TTRwt**
 - Dosage TTRwt en routine, pas TTR mutée
- **Non formation amylose nerveuse ni cardiaque**
- **Quel impact ?**
 - Sur maladie nerf cœur QOL ?
 - Quelle sécurité d'emploi ?

Efficacité biologique des SiRNA

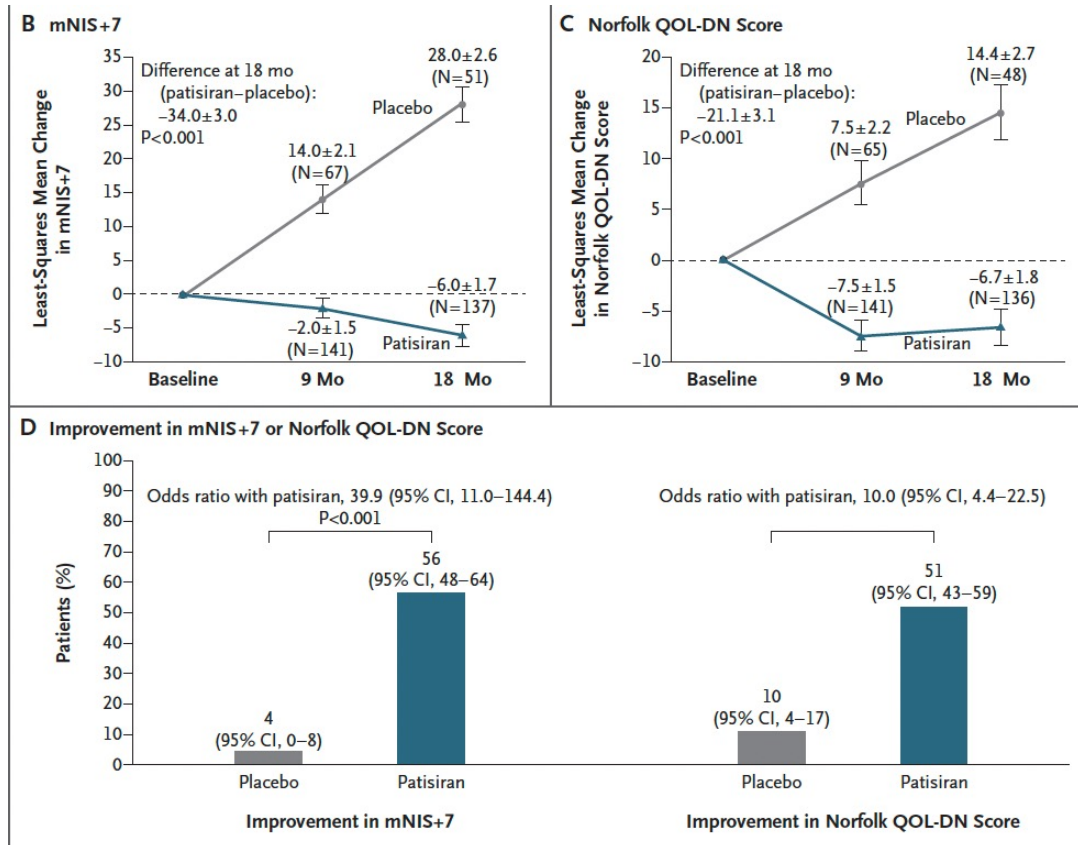
Etude de phase 1 SiRNA
Coelho T et al NEJM 2013



Etude de phase 3 SiRNA
Adams D et al NEJM 2018



Impact clinique des SiRNA Patisiran

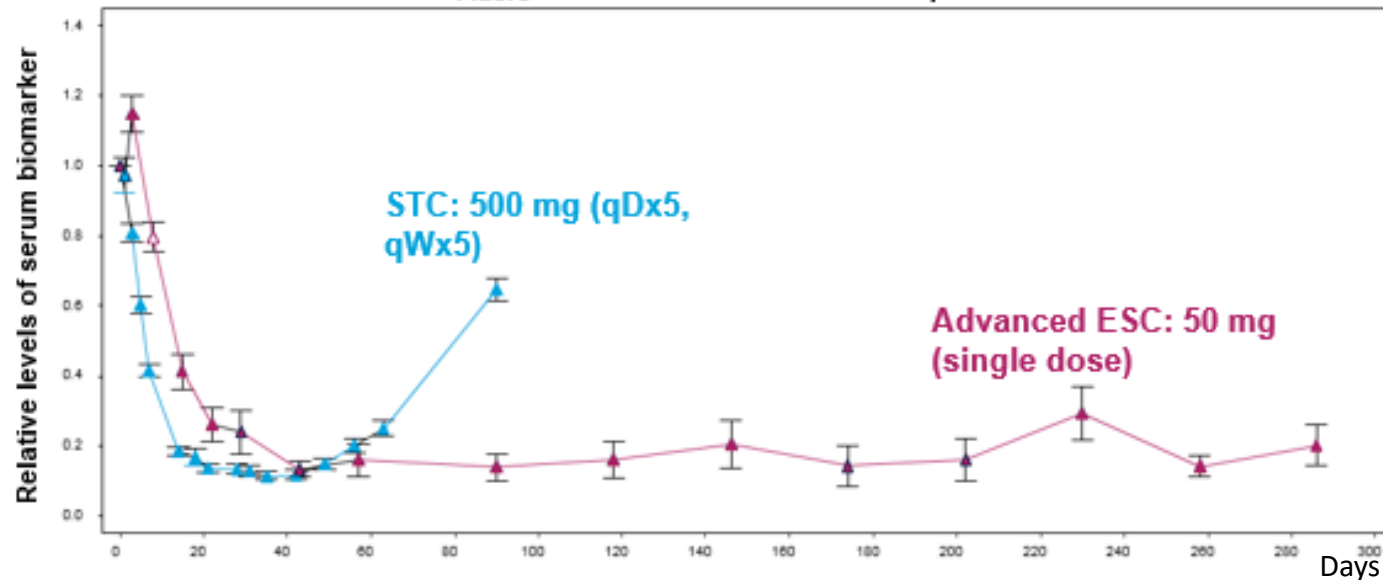
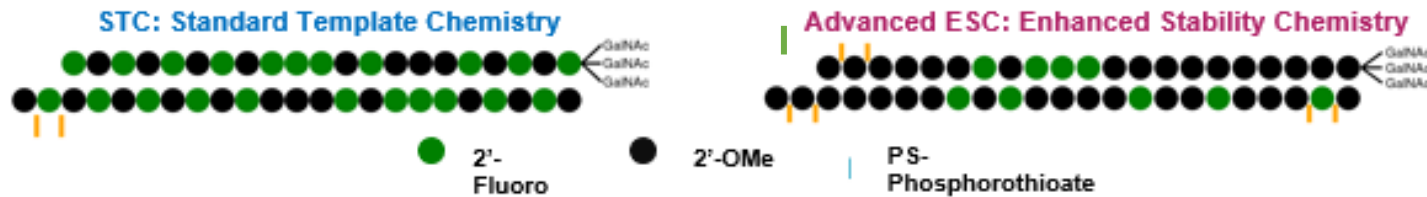


Neuropathy Impairment Score-weakness†				
Mean (±SD) baseline score	29.0±23.0	32.7±25.2		
Least-squares mean (±SE) change from baseline at 18 mo	-17.9 ± 2.0	-0.1 ± 1.3	-17.9 ± 2.3	<0.001
Score on the Rasch-built Overall Disability Scale‡				
Mean (±SD) baseline score	29.8±10.8	29.7±11.5		
Least-squares mean (±SE) change from baseline at 18 mo	-8.9 ± 0.9	0.0 ± 0.6	9.0 ± 1.0	<0.001
10-m walk test — m/sec§				
Mean (±SD) baseline value	0.79±0.32	0.80±0.40		
Least-squares mean (±SE) change from baseline at 18 mo	-0.24 ± 0.04	0.08 ± 0.02	0.31 ± 0.04	<0.001
Modified BMI¶				
Mean (±SD) baseline value	989.9±214.2	969.7±210.5		
Least-squares mean (±SE) change from baseline at 18 mo	-119.4 ± 14.5	-3.7 ± 9.6	115.7 ± 16.9	<0.001
Composite Autonomic Symptom Score 31				
Mean (±SD) baseline score	30.3±16.4	30.6±17.6		
Least-squares mean (±SE) change from baseline at 18 mo	2.2 ± 1.9	-5.3 ± 1.3	-7.5 ± 2.2	<0.001

Adams D et al NEJM 2018

Améliorations chimiques permettant un allongement de la durée d'action des siRNA

Human pharmacodynamic response* of two siRNAs with the same sequence, different chemistry¹



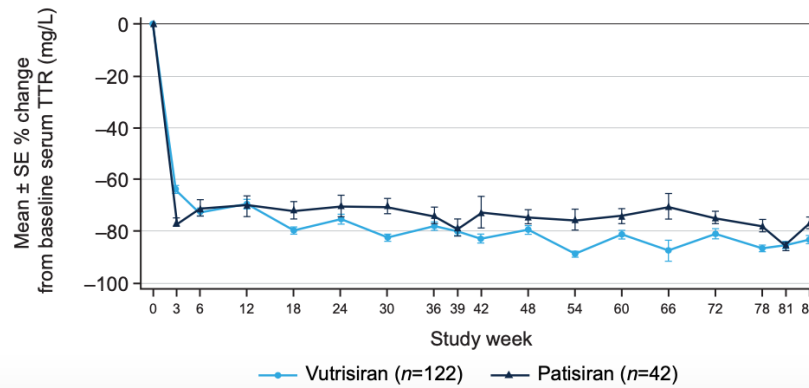
Modifications chimiques pour :

- ✓ Protéger l'ARNi lors de son transport entre l'injection et l'internalisation dans les hépatocytes
- ✓ Protéger l'ARNi dans l'endosome/lysosome permettant d'allonger la durée de diffusion des ARNi du lysosome au cytoplasme

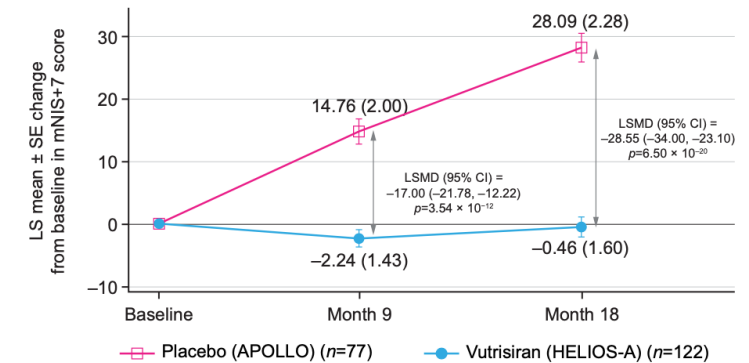
GalNac + améliorations chimiques
permettent des injections SC tous les 3 à 6 mois, voire
annuelle

Impact clinique des SiRNA Vutrisiran

(C) Serum TTR

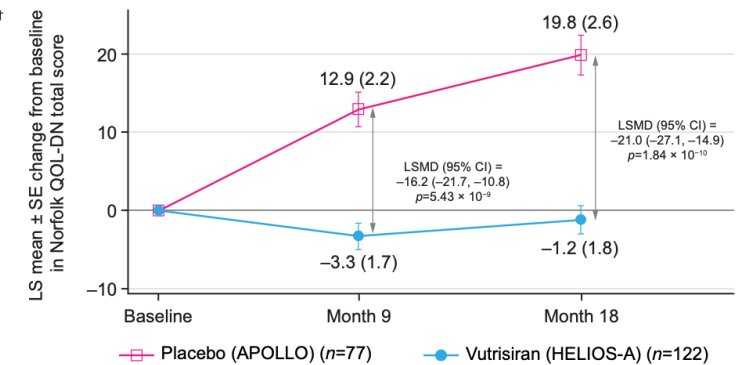


(A) mNIS+7*



N evaluable	Placebo	Vutrisiran
Baseline	77	122
Month 9	67	114
Month 18	51	112

(B) Norfolk QOL-DN†



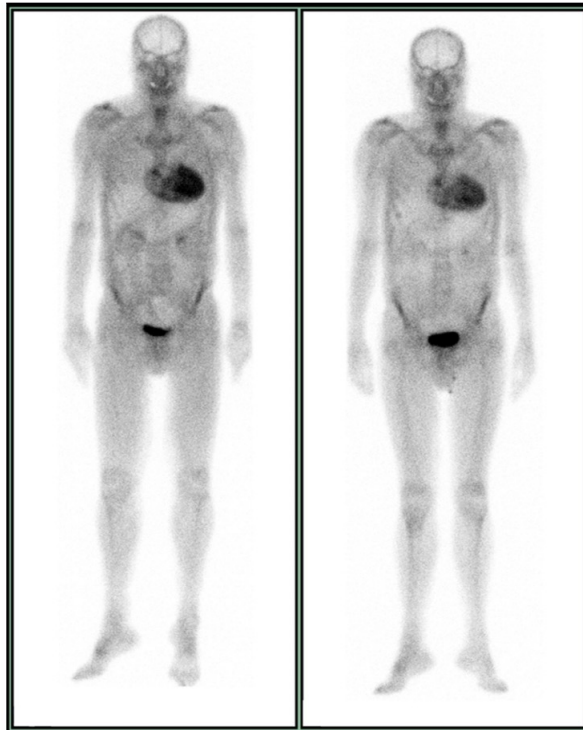
N evaluable	Placebo	Vutrisiran
Baseline	76	121
Month 9	65	114
Month 18	48	111

Réversion infiltration amyloïde cardiaque

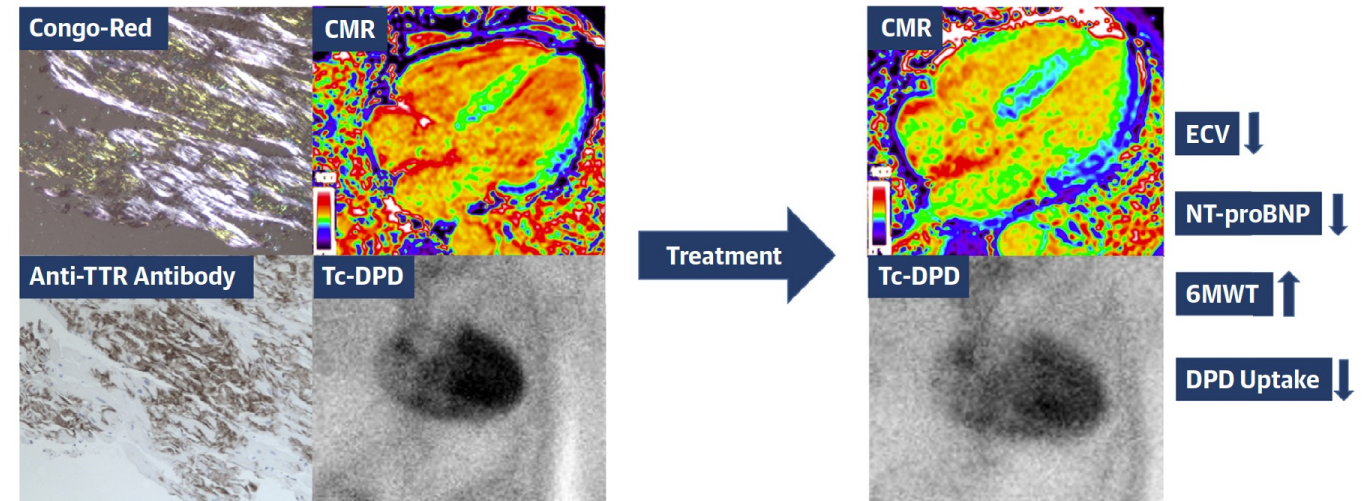
Fontana et al.
Regression in Cardiac ATTR Amyloidosis

JACC: CARDIOVASCULAR IMAGING, VOL. 14, NO. 1, 2021
JANUARY 2021:189-99

FIGURE 3 ^{99m}Tc-DPD Scans Showing Changes in Cardiac Soft Tissue and Bone Uptake



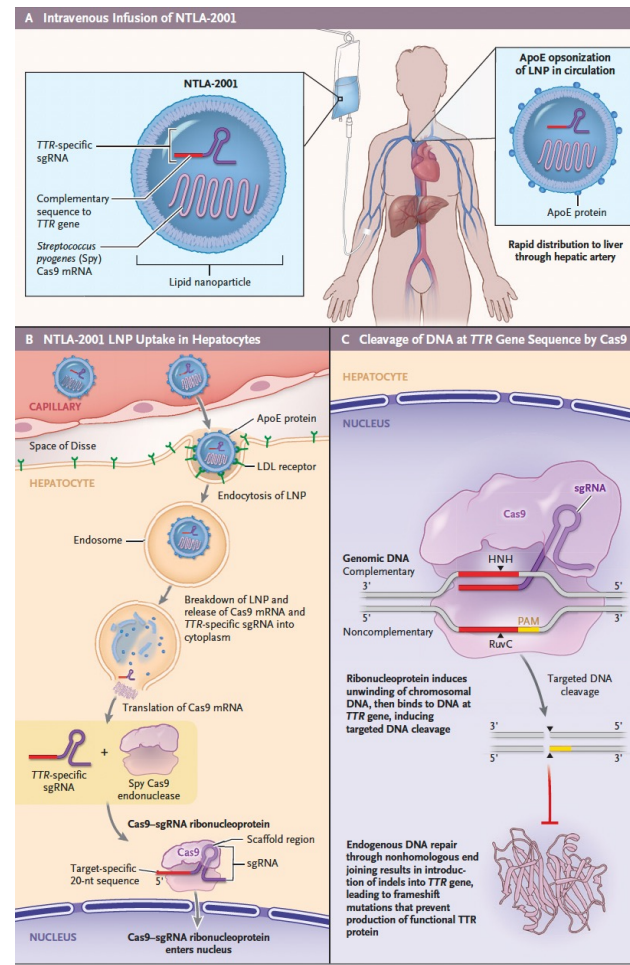
CENTRAL ILLUSTRATION Regression in Cardiac Transthyretin Amyloidosis



Fontana, M. et al. J Am Coll Cardiol Img. 2021;14(1):189-99.

Cardiac biopsies show TTR amyloid, serial planar anterior whole-body ^{99m}Tc-DPD scans, and myocardial perfusion maps showing cardiac amyloid regression in a patient receiving diflunisal and patisiran.

Mécanisme d'action de CrisprCAS9



The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

ESTABLISHED IN 1812

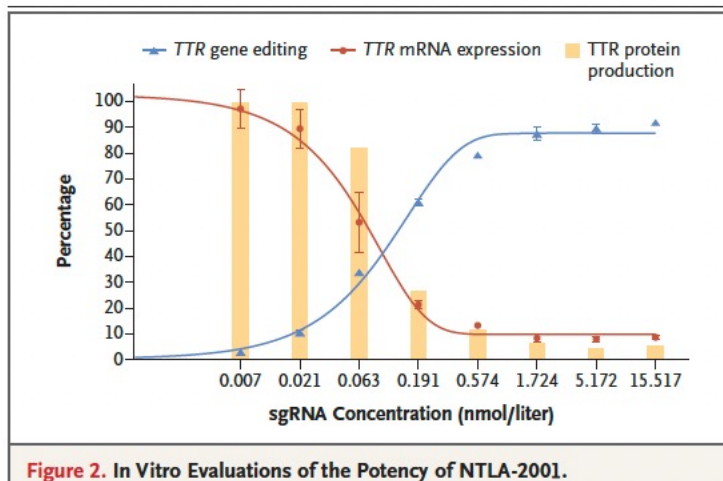
AUGUST 5, 2021

VOL. 385 NO. 6

CRISPR-Cas9 In Vivo Gene Editing for Transthyretin Amyloidosis

Julian D. Gillmore, M.D., Ph.D., Ed Gane, M.B., Ch.B., Jorg Taubel, M.D., Justin Kao, M.B., Ch.B., Marianna Fontana, M.D., Ph.D., Michael L. Maitland, M.D., Ph.D., Jessica Seitzer, B.S., Daniel O'Connell, Ph.D., Kathryn R. Walsh, Ph.D., Kristy Wood, Ph.D., Jonathan Phillips, Ph.D., Yuanxin Xu, M.D., Ph.D., Adam Amaral, B.A., Adam P. Boyd, Ph.D., Jeffrey E. Cehelsky, M.B.A., Mark D. McKee, M.D., Andrew Schiermeier, Ph.D., Olivier Harari, M.B., B.Chir., Ph.D., Andrew Murphy, Ph.D., Christos A. Kyrtatsos, Ph.D., Brian Zambrowicz, Ph.D., Randy Soltys, Ph.D., David E. Gutstein, M.D., John Leonard, M.D., Laura Sepp-Lorenzino, Ph.D., and David Lebowitz, M.D.

Impact biologique de CrisprCAS9 chez le primate et l'homme



Gillmore J. et al NEJM 2021

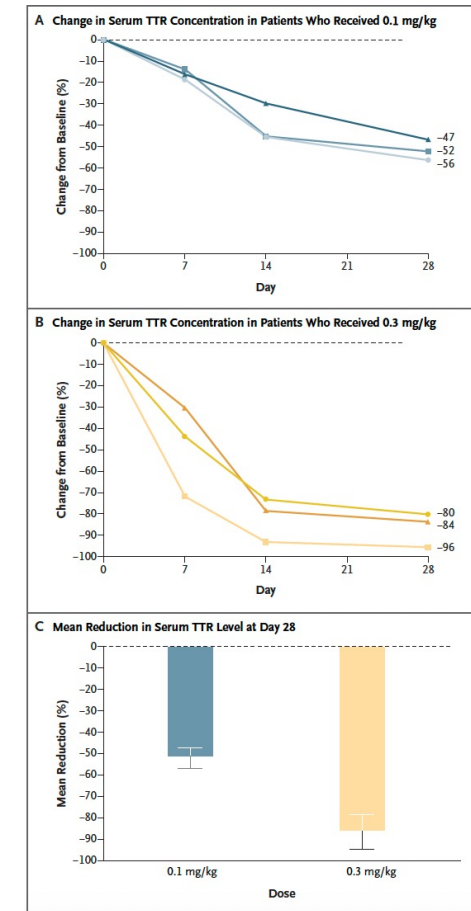
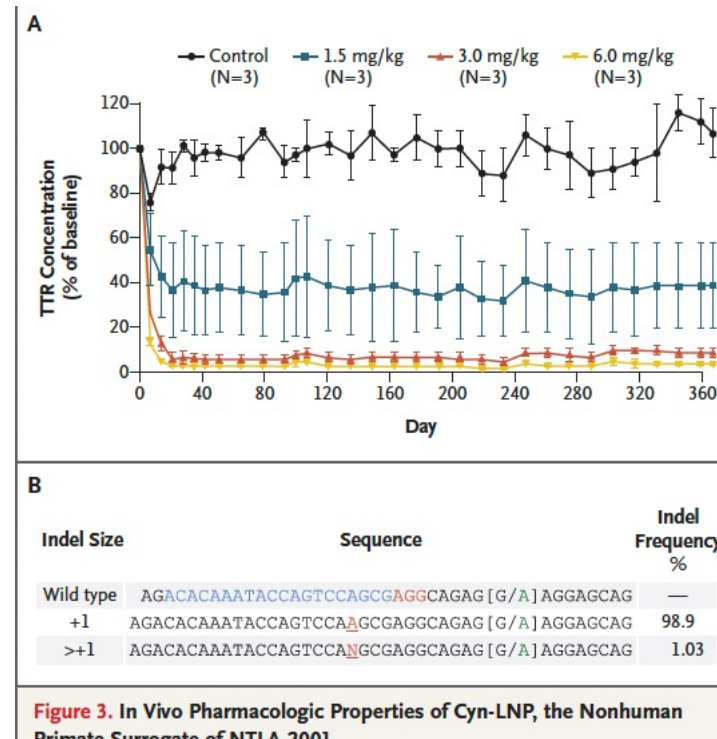


Figure 4. Reductions from Baseline in Serum TTR Protein Concentration after Infusion of NTLA-2001 in Humans. 13

Essai clinique phase 1 en cours : CrisprCAS9

- Objectifs
 - Efficacité biologique
 - Sécurité :
 - Notamment hors Cible (Off Target effects)

Essai Clinique phase 3 CrisprCAS9 en perspective

- Amyloses cardiaques à TTR

Conclusions

- Des progrès scientifiques et médicaux avec SiRNA et CrisprCAS9 majeurs pour les amyloses à TTR
- Confirmés biologiquement et cliniquement pour SiRNA
- A confirmer cliniquement pour le CrisprCAS9
- Qui permettent d'espérer la stabilisation à long terme de la maladie et de stopper le processus dégénératif neurologique et cardiaque