

I Revues générales

Les anticorps monoclonaux en cardiologie : quelques notions de base

RÉSUMÉ : Les anticorps monoclonaux utilisables en thérapeutique sont issus d'un processus complexe de production qui a fait l'objet d'une évolution progressive depuis le milieu des années 1970 jusqu'au début des années 2000, permettant de passer de formes chimériques à des formes 100 % humanisées.

Leur mode de production est plus coûteux que celui des traitements issus de la pharmacologie chimique traditionnelle.

Initialement réservés à des traitements de durée courte à moyenne et à des maladies rares, ils sont progressivement disponibles pour le traitement de maladies à la fois chroniques et de forte prévalence, posant le problème de leur coût pour la collectivité.

L'arrivée possible d'un, voire de deux anticorps monoclonaux en traitement au long cours de prévention des événements cardiovasculaires conduira probablement à une analyse de leur rapport coût/bénéfice qui conditionnera leurs modalités d'utilisation.



F. DIÉVERT
Clinique Villette, DUNKERQUE.

À la différence des autres spécialistes de médecine, les cardiologues sont peu, voire non habitués à utiliser des anticorps monoclonaux (ACM) en thérapeutique. Certains cardiologues, uniquement en milieu hospitalier, ont parfois eu recours à des traitements de courte, voire très courte durée, comme l'abciximab (RéoPro) mais, jusqu'à présent, ce type de molécule n'était pas disponible en usage prolongé et ambulatoire.

Le développement des anti-PCSK9 pourrait modifier cette pratique. Ces molécules ont été développées pour diminuer le risque d'événements cardiovasculaires majeurs par une action sur le métabolisme du LDL-cholestérol. Si une autorisation de mise sur le marché et un remboursement par la solidarité nationale leur sont accordés, deux anti-PCSK9, c'est-à-dire deux ACM, l'evolocumab et l'alirocumab, pourraient être disponibles pour une utilisation potentiellement large. Quelques

rappels sur ce que sont les ACM nous ont donc paru utiles.

Anticorps monoclonaux : définitions, principes

Un anticorps est une molécule dirigée spécifiquement contre une autre molécule, l'antigène.

Les anticorps sont des immunoglobulines produites par les cellules B et sont caractérisés par leur capacité à se lier à des déterminants antigéniques, protéines, fragments de protéines ou structures non protéiques (glucides, glycolipides), manifestant ainsi leur propriété d'anticorps.

Un anticorps est dit monoclonal lorsqu'il a été produit, de façon industrielle, par une seule lignée de cellules, le clone.

Les ACM sont des anticorps reconnaissant un seul et même épitope ou détermi-

nant antigénique, car ils sont issus d'une seule lignée de plasmocytes provenant d'une seule cellule. Ils sont le produit d'une fusion entre un lymphocyte B et une cellule cancéreuse (myélome) appelée hybridome. Ils se distinguent des autres anticorps, produits techniquement, par deux grandes caractéristiques :

- leur mode de production : ils sont issus d'un seul et unique clone de cellules B ;
- leur spécificité : ils constituent une population homogène d'anticorps dirigés contre un seul épitope donné alors que les anticorps polyclonaux sont dirigés contre plusieurs épitopes de l'antigène.

Par ailleurs, ils sont d'une grande affinité pour l'antigène ciblé et il est possible d'obtenir une production massive et constante de ces anticorps.

La pureté des ACM autorise une utilisation à des fins diagnostiques (pour identifier *in vitro* précisément un antigène recherché) ou thérapeutiques, notamment et principalement jusqu'à présent dans les maladies auto-immunes et les cancers. Ce sont des protéines complexes, de volume important et, de ce fait, administrées par voie injectable.

Dans le traitement du cancer, leurs principes d'action peuvent être divers mais les font qualifier de "thérapies ciblées" car ils peuvent :

- être dirigés contre un facteur de croissance ou un récepteur de facteur de croissance ;
- mettre en jeu les défenses naturelles de l'organisme en "présentant" aux cellules tueuses les cellules tumorales à combattre et à détruire, jouant un rôle d'immunothérapie ;
- permettre de cibler des molécules cytotoxiques...

■ Historique

1. Les pionniers

C'est afin d'étudier en détail la structure des anticorps, que, dans les années

1970, deux chercheurs, Georges Köhler et César Milstein, ont l'idée d'hybrider deux lignées cellulaires de souris afin d'obtenir des clones produisant un seul type d'anticorps. Ils ont ainsi croisé des lymphocytes B (cellules produisant des anticorps, mais incapables de se reproduire) de souris avec des cellules immortelles provenant de myélome. En immunisant ensuite la souris par un antigène déterminé, ils ont pu induire une sécrétion d'anticorps, tous identiques contre cet antigène. Leur invention fut publiée dans la revue *Nature* et leur valut un prix Nobel de médecine en 1984. Si cette technique avait été développée initialement à des fins exclusives de recherche, elle se révéla rapidement utile comme outil diagnostique et thérapeutique.

Avant l'invention technique de Köhler et Milstein, pour créer des anticorps, il fallait injecter un antigène à une souris, voire à un cheval, puis isoler le sérum afin d'obtenir un sérum d'anticorps. Ces anticorps étaient polyclonaux puisqu'ils reconnaissaient tous les épitopes de l'antigène.

Par rapport aux premières sérothérapies, les ACM résolvaient donc plusieurs problèmes : stabilité et quantité de la production (ils sont disponibles indéfiniment une fois les hybridomes immortalisés) et spécificité antigène-anticorps. Par ailleurs, la production d'ACM nécessite moins d'animaux par rapport à celle des anticorps polyclonaux. Mais, les ACM ont aussi des limites comparativement aux anticorps polyclonaux sériques, car ces derniers peuvent être obtenus plus rapidement, à moindre coût et avec moins de compétences techniques. Ainsi, par exemple, les anticorps polyclonaux sont obtenus en 4 à 8 semaines, tandis que la production d'ACM peut prendre 3 à 6 mois.

Tout en restant techniquement complexe, il devint possible d'étendre cette technique de fabrication et d'envisager la production d'anticorps contre

presque tous les antigènes. Les applications diagnostiques furent assez rapides et très nombreuses : tests de grossesse, recherche d'anticorps ou d'antigènes, immunodétection (ELISA, RIA), imagerie (immunosciintigraphie). Des applications virent le jour dans de nombreux domaines de la recherche en biologie (étude des lignées cellulaires, étude des marqueurs des cellules non lymphocytaires, étude des cellules pathologiques, purification d'antigènes...) et par de nombreuses techniques (cytométrie en flux, Western Blot) et dans les tests d'immuno-hématologie.

2. Le défi thérapeutique conduisant à l'humanisation complète

Les premières applications thérapeutiques des ACM datent de 1981, avec le muromonab, utilisé dans le traitement des épisodes de rejet aigu en transplantation d'organes. Mais, ce traitement, produit par des hybridomes murins, avait une demi-vie courte et était fortement immunogène, d'où des effets indésirables et une perte d'efficacité par l'induction d'anticorps anti-molécule. L'utilisation de cet ACM ne pouvait donc s'envisager que sur une courte période pour la prévention des rejets aigus. Cette première expérience rendait compte d'une quasi-impossibilité d'envisager un traitement prolongé pour un cancer ou une maladie auto-immune.

Il devenait donc nécessaire d'humaniser les ACM, ce qui fut fait progressivement et en plusieurs étapes dans les 20 ans qui suivirent. Une première étape fut franchie lorsqu'il a été possible, dans les années 1980, d'utiliser le génie génétique pour obtenir des ACM recombinants, après clonage du gène de l'hybridome choisi dans des vecteurs d'expression eucaryotes. Cela a permis, d'une part, de faire produire l'anticorps par des cellules en culture plus prolifères et stables que les hybridomes, comme la lignée de hamster chinois CHO et, d'autre part, de manipuler la séquence génique par mutagenèse dirigée, de créer des banques

I Revues générales

d'anticorps ayant des différences précises dans leur séquence d'acides aminés et de faire varier la spécificité des anticorps initialement obtenus. Il a été ainsi possible d'obtenir des anticorps chimériques homme-souris, en fusionnant l'ADN codant la partie constante des immunoglobulines humaines avec l'ADN codant la partie variable (reconnaissant et se liant à l'épitope) de l'immunoglobuline de souris. Puis, par greffe de régions complémentaires (*complementarity-determining region grafting*), ont pu être synthétisés des anticorps encore plus humains – et donc moins murins – dits anticorps humanisés, dans lesquels ne subsistaient plus que les parties hypervariables des immunoglobulines. Les techniques dites de transgénèse qui consistent à introduire, dans un organisme receveur, un gène provenant de n'importe quel organisme donneur, voire d'un gène artificiel, permirent au début des années 2000 d'obtenir des ACM complètement humains.

Depuis les années 1980, les progrès de la biologie moléculaire ont donc permis la production d'abord d'anticorps chimériques, puis d'anticorps humanisés et, enfin, d'anticorps totalement humains. Depuis, le développement et l'utilisation clinique de ces ACM ont connu un essor spectaculaire, notamment en thérapeutique.

3. Le nouveau défi

Si les ACM ont pu modifier le pronostic de certaines maladies auto-immunes, de maladies virales et de certains cancers, ils ont aussi comme particularité d'avoir un coût de développement élevé lié à la complexité de leur production. Les données exactes concernant le coût de développement de ces molécules ne sont pas connues avec précision et font l'objet d'une controverse, mais ce coût est réputé supérieur à celui d'un médicament issu de la recherche biochimique traditionnelle, engendrant donc un coût de commercialisation nettement supérieur. À titre indicatif, dans un article de

POINTS FORTS

- Les anticorps monoclonaux sont des outils thérapeutiques simples dans leur principe (ils ciblent une molécule particulière et unique dans un métabolisme donné) mais complexes par leur mode de production.
- Afin de les identifier, ils font l'objet, pour leur dénomination commune internationale (DCI), d'une nomenclature précise qui a évolué au fil du temps et qui pourrait encore évoluer.
- Cette nomenclature repose sur 4 éléments: un suffixe (mab) indiquant qu'il s'agit d'un anticorps monoclonal, un sous-élément le précédant indiquant le degré d'humanisation de la molécule, un autre sous-élément le précédant encore indiquant l'aire thérapeutique d'utilisation (par exemple "ci" pour cardiovasculaire) et, enfin, un préfixe aléatoire différenciant les molécules d'un même groupe.
- Deux anticorps monoclonaux destinés à la prévention du risque d'événements cardiovasculaires, en utilisation chronique, pourraient être prochainement disponibles pour les cardiologues.

prospective financière évaluant en 2008 le prix moyen de mise à disposition (c'est-à-dire le prix de commercialisation et non le coût de production) de 15 ACM différents à titre diagnostique, il a été estimé que ce prix était en moyenne de 2 000 \$ le gramme, mais avec une valeur médiane de 8 000 \$ le gramme témoignant d'importants écarts de prix entre les molécules. Cet article indiquait également que la rentabilité, compte tenu de l'investissement nécessaire à la production, pouvait varier de façon très importante en fonction de la demande.

Initialement développés pour le traitement de maladies graves comme le cancer ou rares comme certaines maladies auto-immunes, les ACM ont été progressivement développés pour des maladies de forte prévalence, comme la dégénérescence maculaire liée à l'âge, dont on estime qu'elle toucherait 900 000 personnes en France, et/ou des traitements prolongés, comme celui des dyslipidémies. L'utilisation de ces molécules en thérapeutique crée un nouveau défi sociétal, à savoir celui du coût que peut supporter la solidarité nationale eu

égard au bénéfice apporté et aux autres options thérapeutiques disponibles.

■ Nomenclature

La nomenclature des produits pharmaceutiques repose sur l'attribution par l'OMS, depuis les années 1950, d'une dénomination dite commune internationale (DCI) unique à tous ces produits permettant que la molécule portant le principe actif ait le même nom dans tous les pays. L'équivalent anglais de la DCI est l'INN (*International Nonproprietary Names*)

Cette nomenclature est normalisée, c'est-à-dire qu'elle obéit à certaines règles devant permettre, à partir de certains suffixes et/ou syllabes spécifiques ou domaines attribués aux molécules, de savoir à quel groupe pharmacologique elle doivent être rattachées.

Au fur et à mesure du développement des ACM, la nomenclature a évolué et pourrait être encore modifiée. Les dernières règles ont été précisées dans le

document d'actualisation INN de 2014 de l'OMS, mais elles pourraient être encore révisées à la suite d'une réunion tenue à Genève en avril 2016 qui a contesté certains des déterminants.

La DCI d'un ACM doit comporter quatre domaines :

- d'abord un préfixe, dont le choix est aléatoire et qui n'est soumis qu'à deux contraintes : identifier et différencier une molécule par rapport à une autre et faire en sorte que son nom soit facilement prononçable (euphonique) ;
- puis deux sous-domaines : le premier, qui suit le préfixe, indiquant l'aire thérapeutique de la molécule, et le suivant qui indique le caractère plus ou moins humanisé de la molécule ;
- enfin, un suffixe indiquant qu'il s'agit d'un ACM.

Ainsi, une molécule faisant partie du groupe des anticorps monoclonaux aura une terminaison, un suffixe en "mab" (acronyme de *monoclonal antibody*). Le sous-domaine précédant le suffixe doit permettre de distinguer le caractère plus ou moins humanisé de l'ACM et il a ainsi été décidé que (**tableau I**) :

- les DCI des ACM murins (c'est-à-dire 100 % murins) se termineraient par "omab" (comme le tositumomab, l'ibritumomab) ;
- celles des ACM chimériques, murins-humains ou hommes-souris (c'est-à-dire 50 % murins et 50 % humains), se termineraient par "ximab" (comme le rituximab, le cetuximab et, en cardiologie, l'abciximab) ;
- celles des ACM humanisés (c'est-à-dire au moins 90 % humains) par "zumab"

Domaine précédant le suffixe	Origine
mo-mab	ACM murins (souris)
xi-mab	ACM chimériques
zu-mab	ACM humanisés
mu-mab ou u-mab	ACM humains

Tableau I : Nomenclature des anticorps monoclonaux permettant de distinguer le type de production de l'anticorps.

Premier domaine imposé de la DCI	Cible
ci-xx-mab	Cardiovasculaire (beva-ci-zu-mab)
li-xx-mab	Immunité (oma-li-zu-mab)
ki-xx-mab	Interleukine
vi-xx-mab	Virus (pali-vi-zu-mab)
tu-xx-mab	Tumeur (ri-tu-xi-mab)

Tableau II : Nomenclature des anticorps monoclonaux permettant de distinguer l'aire thérapeutique de l'anticorps.

(comme l'alemtuzumab, le trastuzumab, le bevacizumab et, en cardiologie, le bococizumab) ;

- et celles des ACM entièrement humanisés (c'est-à-dire 100 % humains) par "umab" ou "mumab" (comme l'ofatumumab et, en cardiologie, l'evolcumab et l'alirocumab).

Cette classification a été développée initialement pour différencier le degré d'humanisation des ACM, celui-ci étant supposé associé à l'immunogénicité des molécules produites. De fait, certains chercheurs ont remis en cause pour partie cette classification car il est apparu que l'immunogénicité était multifactorielle. Le déterminant de cette classification serait donc trop "simpliste" et pourrait laisser penser que certaines molécules ne sont pas immunogènes.

Le sous-domaine suivant le préfixe et précédant le deuxième sous-domaine est une syllabe spécifique qui doit permettre d'identifier la cible thérapeutique de l'ACM (**tableau II**). Ainsi, les syllabes "ba" désignent des molécules dévolues au traitement des maladies

bactériennes, "vi" celles dévolues aux maladies virales, "ki" des interleukines, "li" des immunomodulateurs, "tu" des traitements des tumeurs, "ci" (de "circulation") pour les maladies cardiovasculaires (comme dans l'abciximab)...

■ Les anti-PCSK9

Trois anti-PCSK9 ont un développement clinique ayant atteint des études de phase III de grande envergure : d'une part, le bococizumab qui, comme son nom l'indique, est un ACM ("mab") non complètement humanisé ("zu") et destiné au traitement des maladies cardiovasculaires ("ci") et, d'autre part, l'evolcumab et l'alirocumab (ACM 100 % humanisés). Pour ces deux molécules, le "ci" indiquant l'aire thérapeutique, conformément à une proposition de la nomenclature, a été remplacé par le seul "c" afin d'éviter des problèmes de prononciation.

Deux essais cliniques, SPIRE-2 et FOURIER, ont démontré que la PCSK9 était une cible thérapeutique justifiée puisque la modulation à la baisse de son action par un anti-PCSK9 permet de réduire le risque d'événements cardiovasculaires majeurs de façon significative par rapport au placebo.

Les différences principales apparues dans le développement de ces molécules concernent leur immunogénicité et les conséquences cliniques de celle-ci. Ainsi, le programme d'évaluation du bococizumab a démontré qu'en 1 an,

I Revues générales

48 % des patients traités développent des anticorps anti-bococizumab et que l'effet de baisse du LDL s'atténue proportionnellement au taux de ces anticorps. De ce fait, le développement clinique du bococizumab a été définitivement arrêté en novembre 2016. Chez les patients sous alirocumab, 5 % développent des anticorps anti-alirocumab, mais cela n'a pas d'influence majeure sur la baisse du LDL. Enfin, il n'a pas été mis en évidence d'anticorps anti-evolocumab dans l'étude FOURIER.

■ En synthèse

Nul ne peut encore prédire quand les anti-PCSK9 seront disponibles en clinique ni à quelle condition. L'émergence de ce type de molécules dans le domaine de la cardiologie justifie que les cardiologues possèdent quelques notions de base sur ce que sont ces molécules, leur permettant de comprendre les étapes qui ont conduit au développement de ce nouveau mode de traitement dans le cadre de la prévention, donc au long

cours et pour un traitement potentiellement de masse.

L'auteur a déclaré les conflits d'intérêts suivants : honoraires pour conférence ou conseils pour les laboratoires Alliance BMS-Pfizer, AstraZeneca, BMS, Boehringer-Ingelheim, Daiichi-Sankyo, Menarini, Novartis, Pfizer, Sanofi-Aventis France, Servier.

Étude RELAX-AHF-2 : résultats négatifs

Novartis vient d'annoncer les résultats de l'étude internationale de phase III RELAX-AHF-2 chez des patients atteints d'insuffisance cardiaque aiguë (ICA).

Il s'agit d'un essai multicentrique, randomisé, en double aveugle, contrôlé contre placebo. L'étude a été conçue pour évaluer l'efficacité, la sécurité d'emploi et la tolérance de la séréxaline associée au traitement standard chez des patients atteints d'ICA. Cette étude, qui a inclus 6 600 patients, comportait deux critères de jugement principaux : la réduction du nombre de décès d'origine cardiovasculaire pendant une période de suivi de 180 jours et de la survenue d'une aggravation de l'insuffisance cardiaque à 5 jours.

La séréxaline est une forme recombinante de la relaxine-2, hormone humaine naturelle. Elle est présente chez l'homme et chez la femme, et on estime que les taux élevés observés chez la femme enceinte aideraient l'organisme à s'adapter à l'augmentation des besoins cardiovasculaires durant la grossesse.

L'étude RELAX-AHF-2 n'a pas atteint ses critères de jugement principaux.

J. N.

D'après un communiqué de presse du laboratoire Novartis