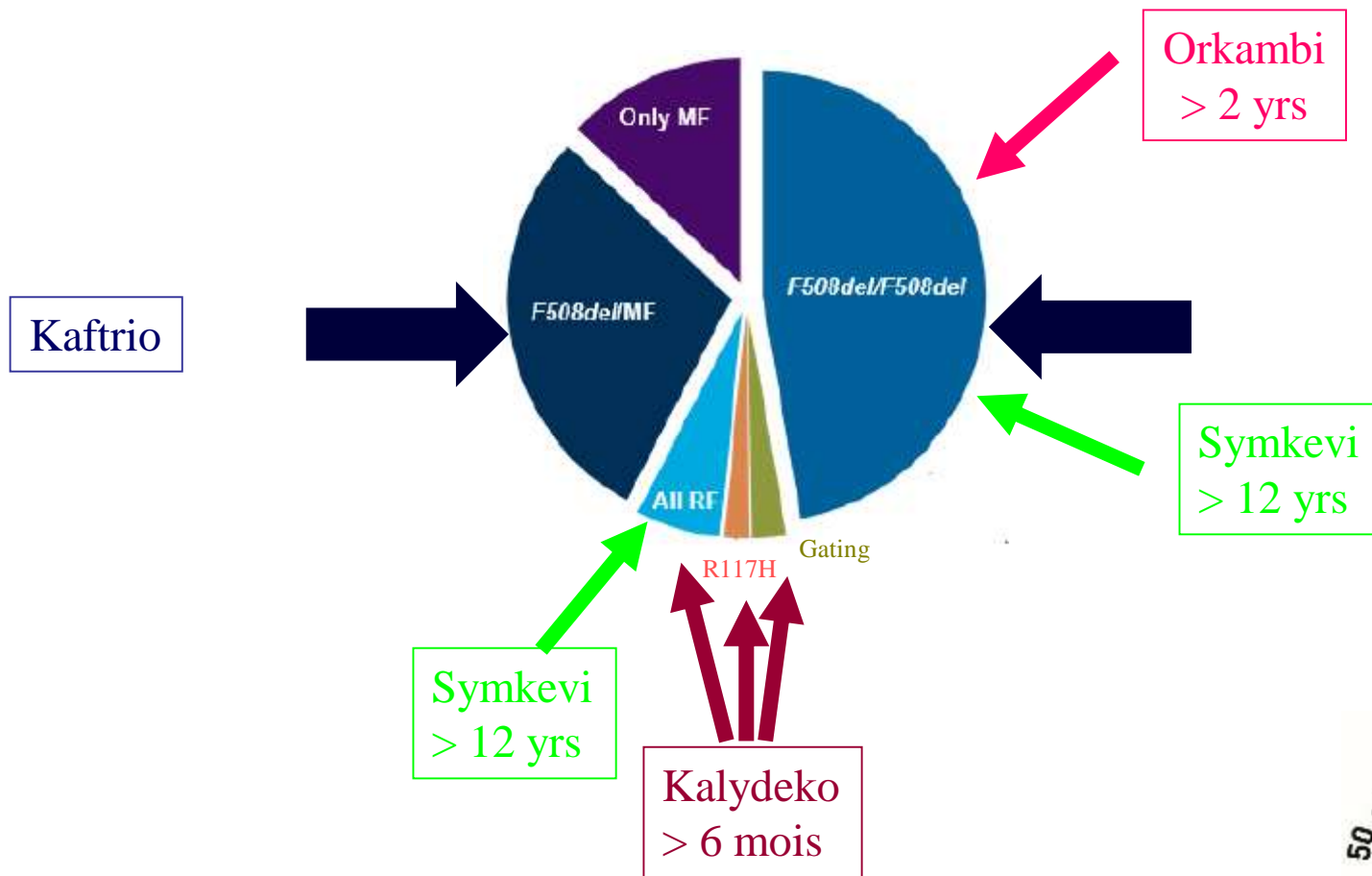
A 3D molecular model of a protein structure. The protein backbone is shown as a red ribbon structure, and a blue ligand molecule is bound to a pocket of the protein. The ligand is a complex organic molecule with several rings and functional groups.

Quels sont les biomarqueurs prédictifs de la réponse aux modulateurs de CFTR?

I Sermet-Gaudelus, I Pranke
CRCM, Hôpital Necker-Enfants Malades
INSERM U 1151

Environ 80% des génotypes des patients atteints de mucoviscidose sont désormais ciblés par les modulateurs de CFTR



7453 patients avec 2 mutations connues (Registre 2018)



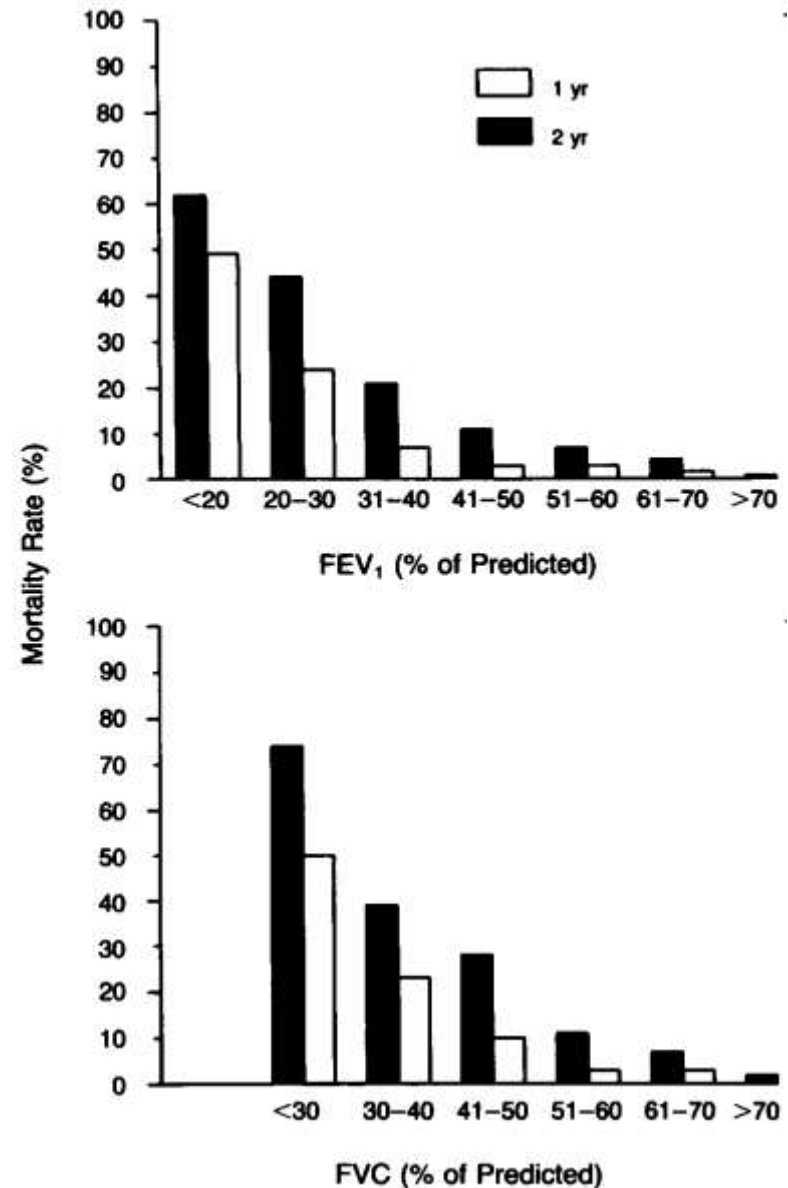
| | FDA | EMA | France |
|-----------------------------|---|--|---|
| KAFTRIO (Iva/Teza/Elexa) | F508del/F508del F508del/autre Mutation répondeuse (n=178)/autre >12 ans | F508del/F508del F508del/MF F508del/autre (CHMP) >12 ans | En attente F508del/F508del F508del/MF >12 ans |
| SYMKEVI (Iva/Teza) | F508del/F508del Mutation répondeuse (n=154)/autre >6 ans | F508del/F508del F508del/Mutation répondeuse (n=14) >6 ans | En attente F508del/F508del F508del/Mutation répondeuse (n=14) >12 ans |
| ORKAMBI (Iva/Luma) | F508del/F508del > 2 ans | F508del/F508del > 2 ans | F508del/F508del > 2 ans |
| KALYDEKO (Iva) | Mutation répondeuse (n=97)/autre > 4 mois | Mutation répondeuse (n=10 9+R117H)/autre > 4 mois | 1 mutation répondeuse (n=9 : pas R117H)/autre > 6 mois |

Qu'est ce qu'un biomarqueur?

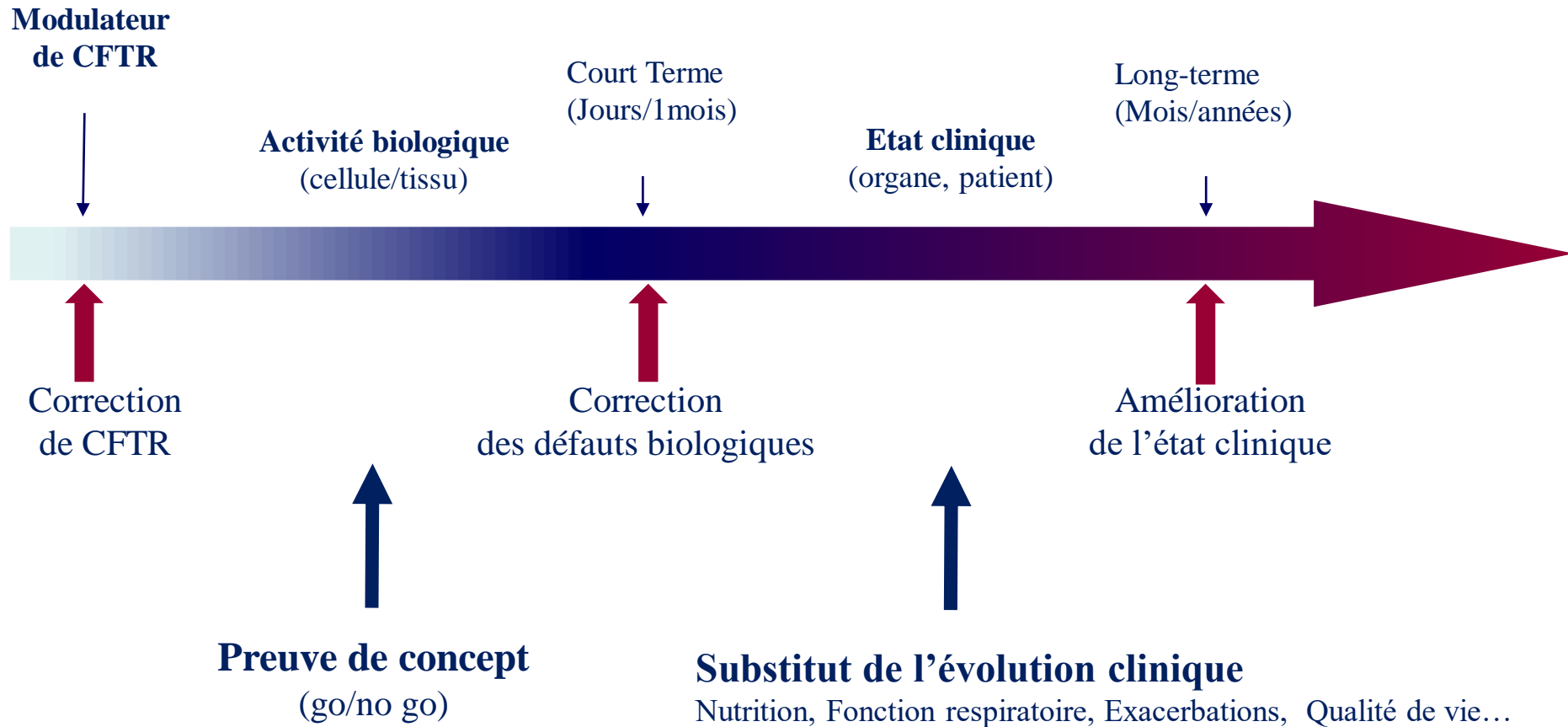
Caractéristique mesurable objectivement
Indicateur de processus biologiques
(normaux ou anormaux)
Ou de réponse pharmacologique

Biomarqueur Pronostique
VEMS, FVC et mortalité de
patients atteints de MV

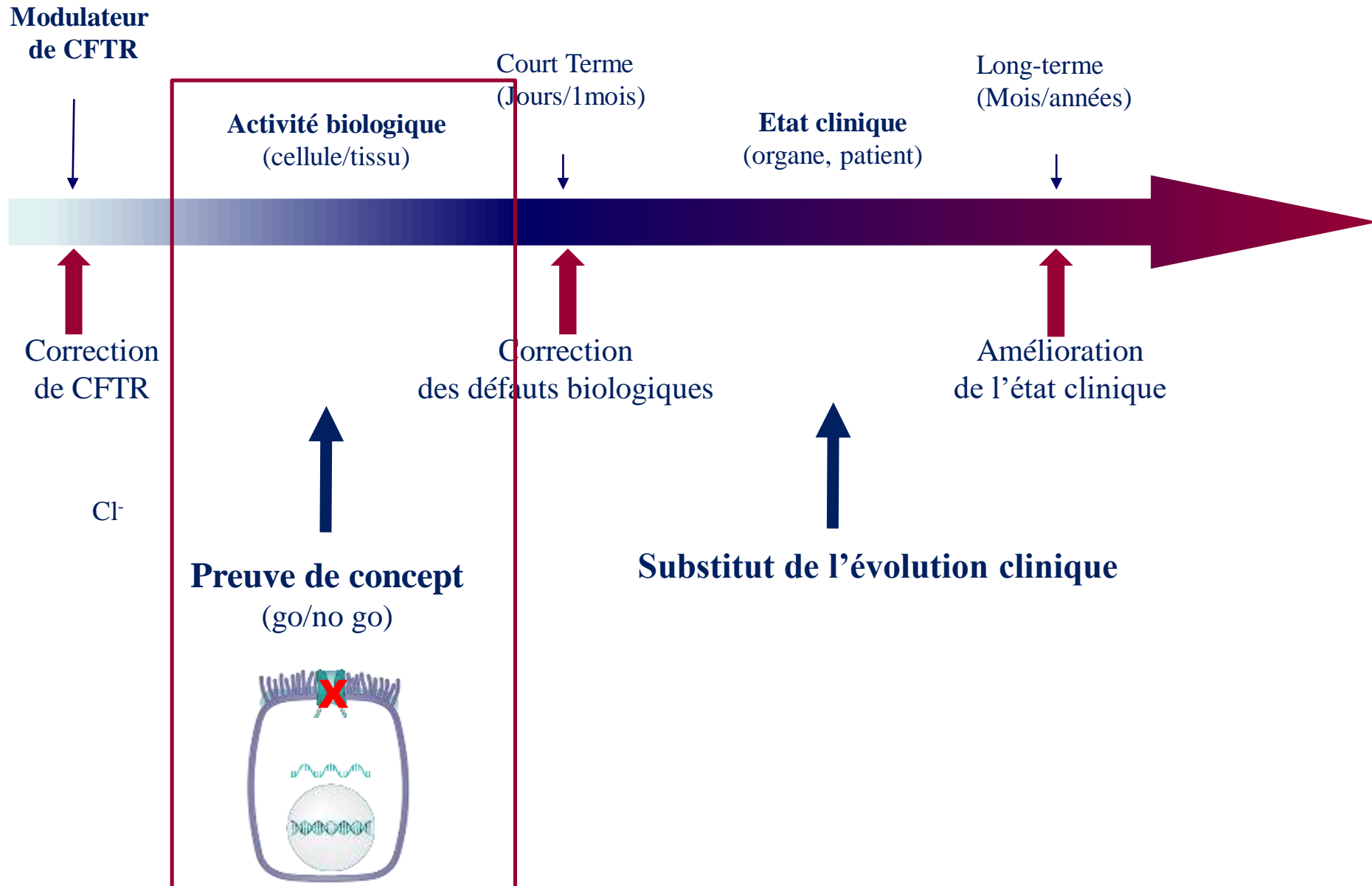
Kerem et al. NEJM 1994



Biomarqueurs prédictifs de la réponse aux modulateurs de CFTR

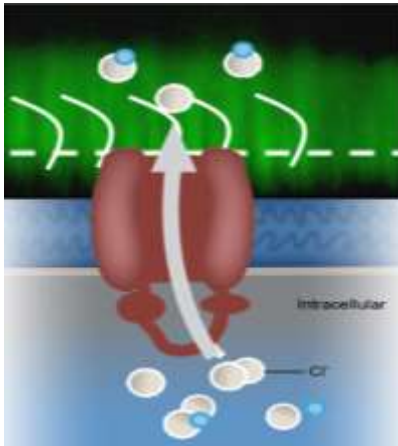


Biomarqueurs prédictifs de la réponse aux modulateurs de CFTR



Activité de la protéine CFTR

Un transporteur d'ions
(Cl^- , HCO_3^-)

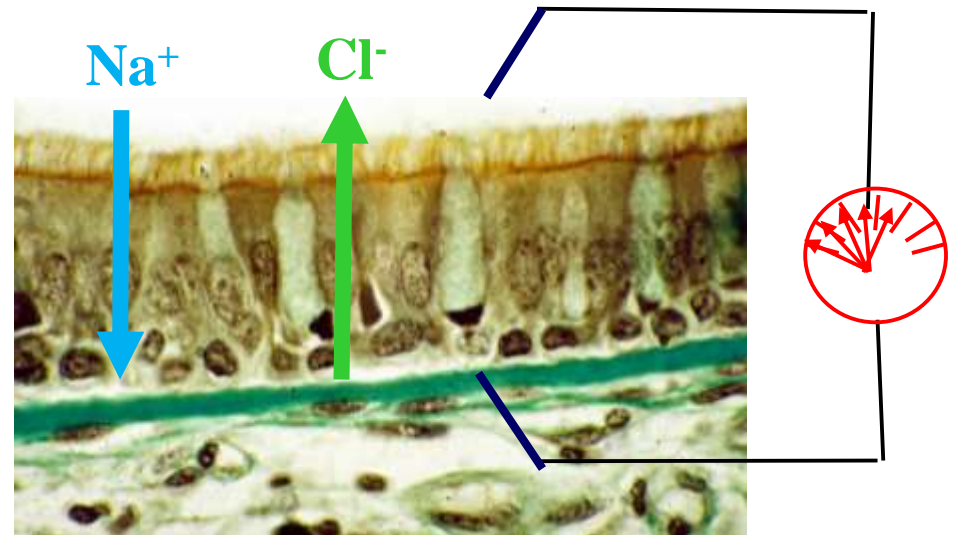


A la membrane apicale
des cellules

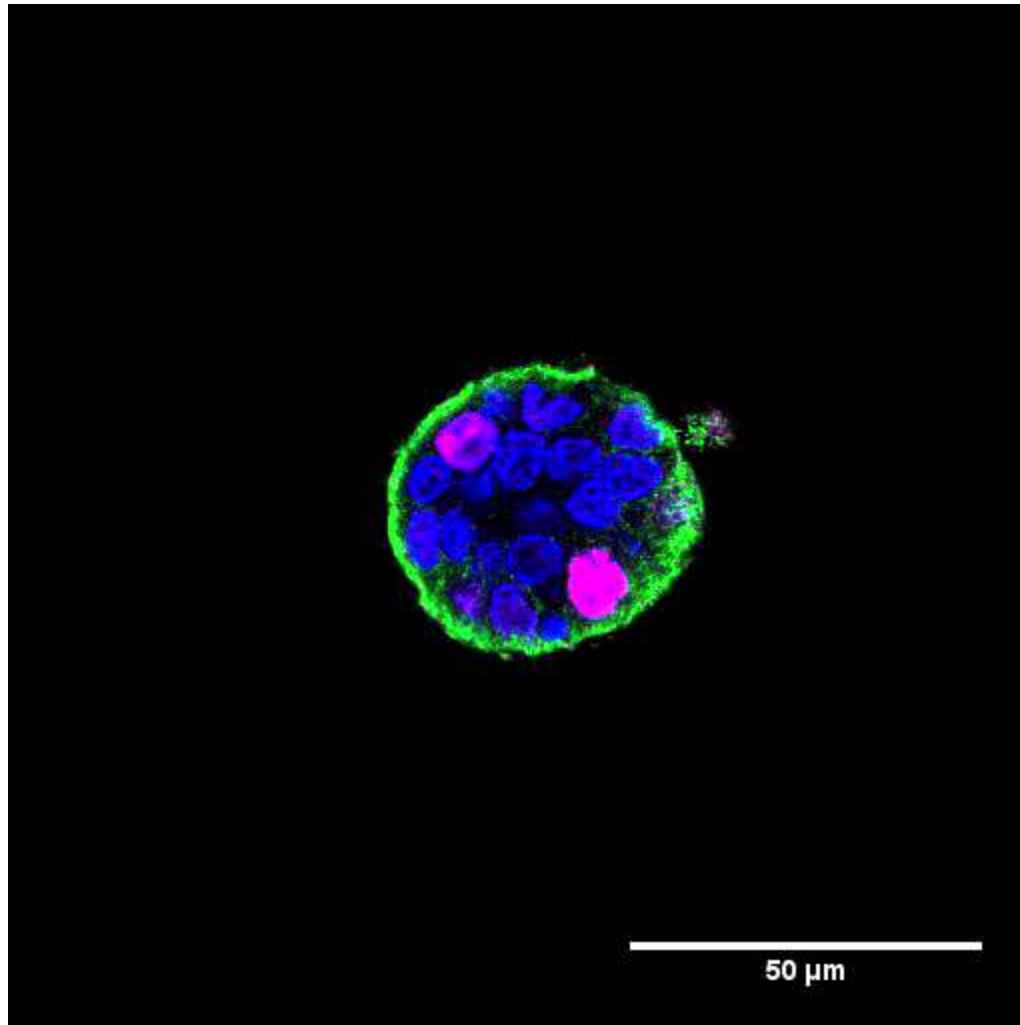


Le transport trans-épithélial d'ions
induit une différence de potentiel
qui peut être mesurée

Mesure de l'activité de CFTR
grâce à des activateurs ou des
inhibiteurs

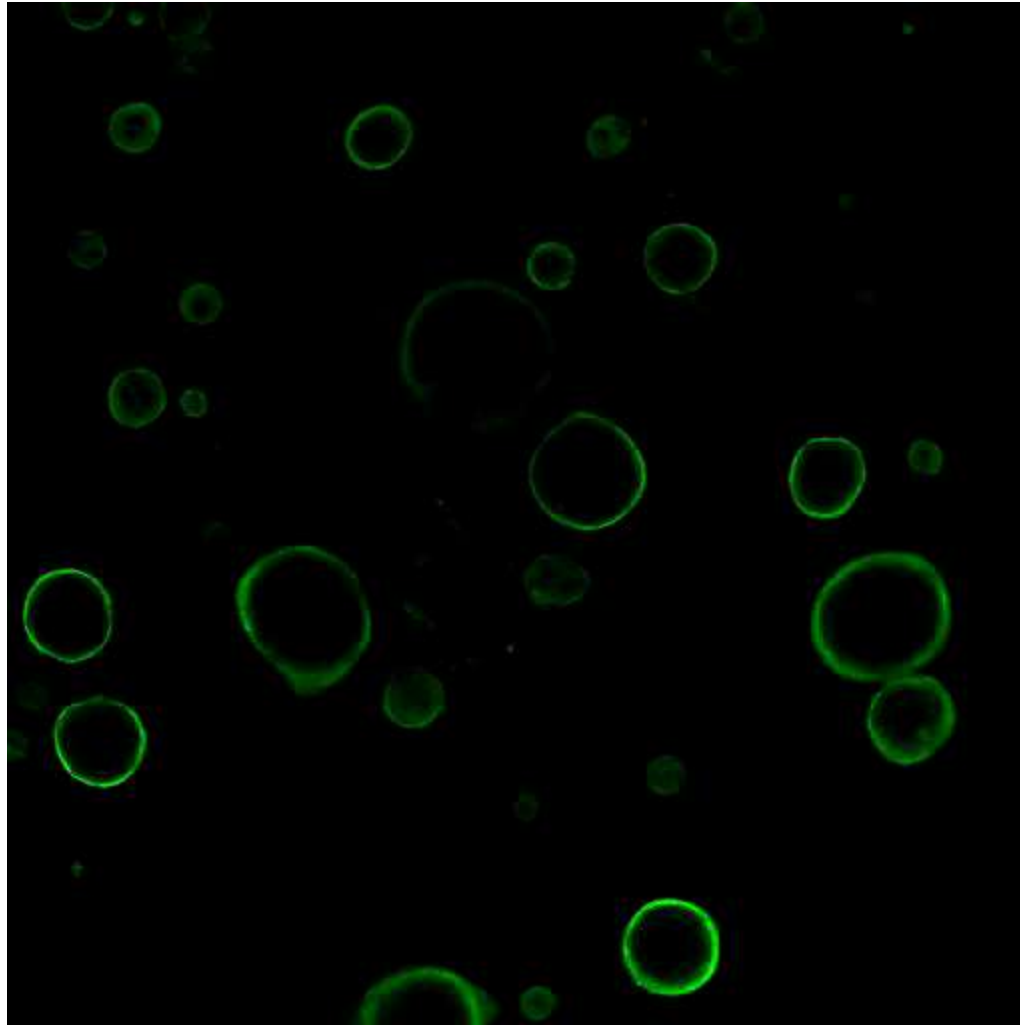


Organoïde rectal



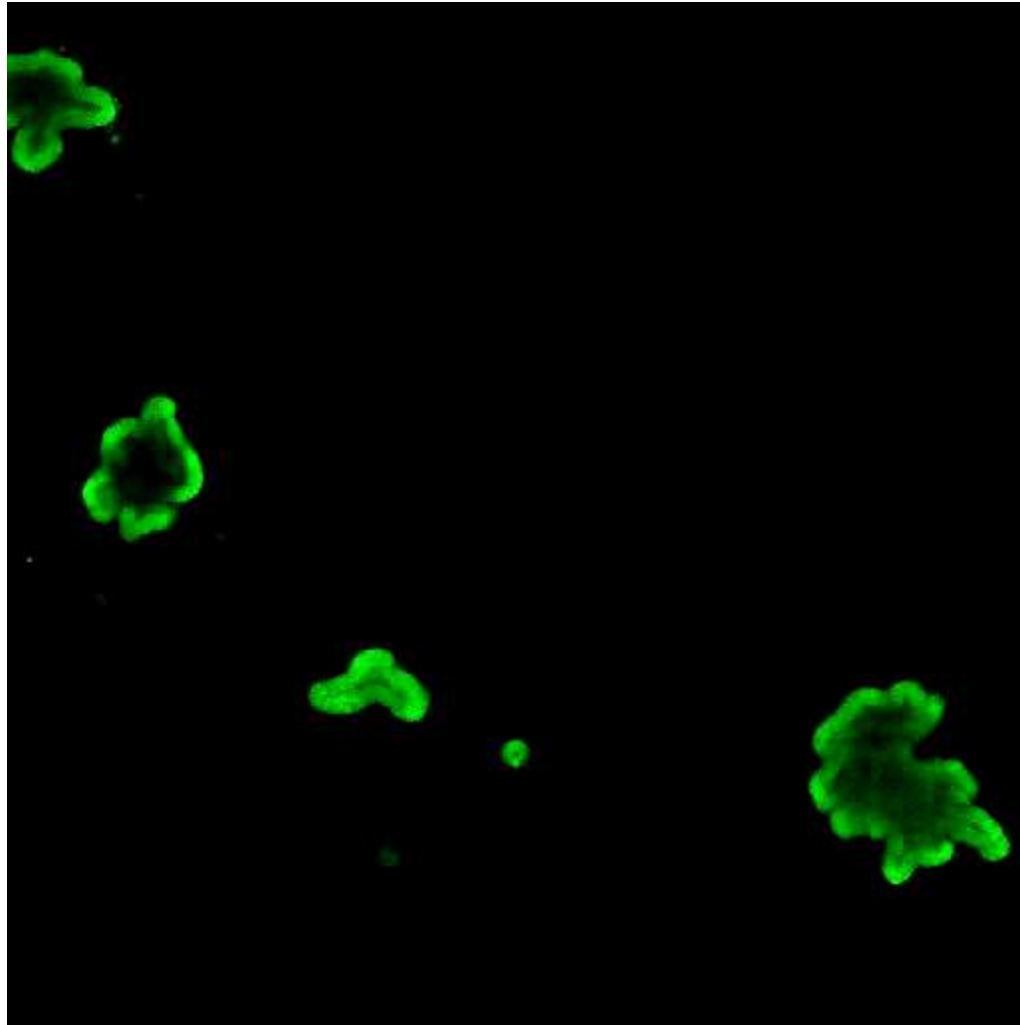
- En forme de « kystes »
- Sécrétion intraluminaire de Cl^- et d'eau (gonflement)
- Expansion indéfinie (> 1 an)
- Stabilité génétique
- Accès « facile » (biopsie rectale)
- Grand nombre d'organoides

Sujet sain



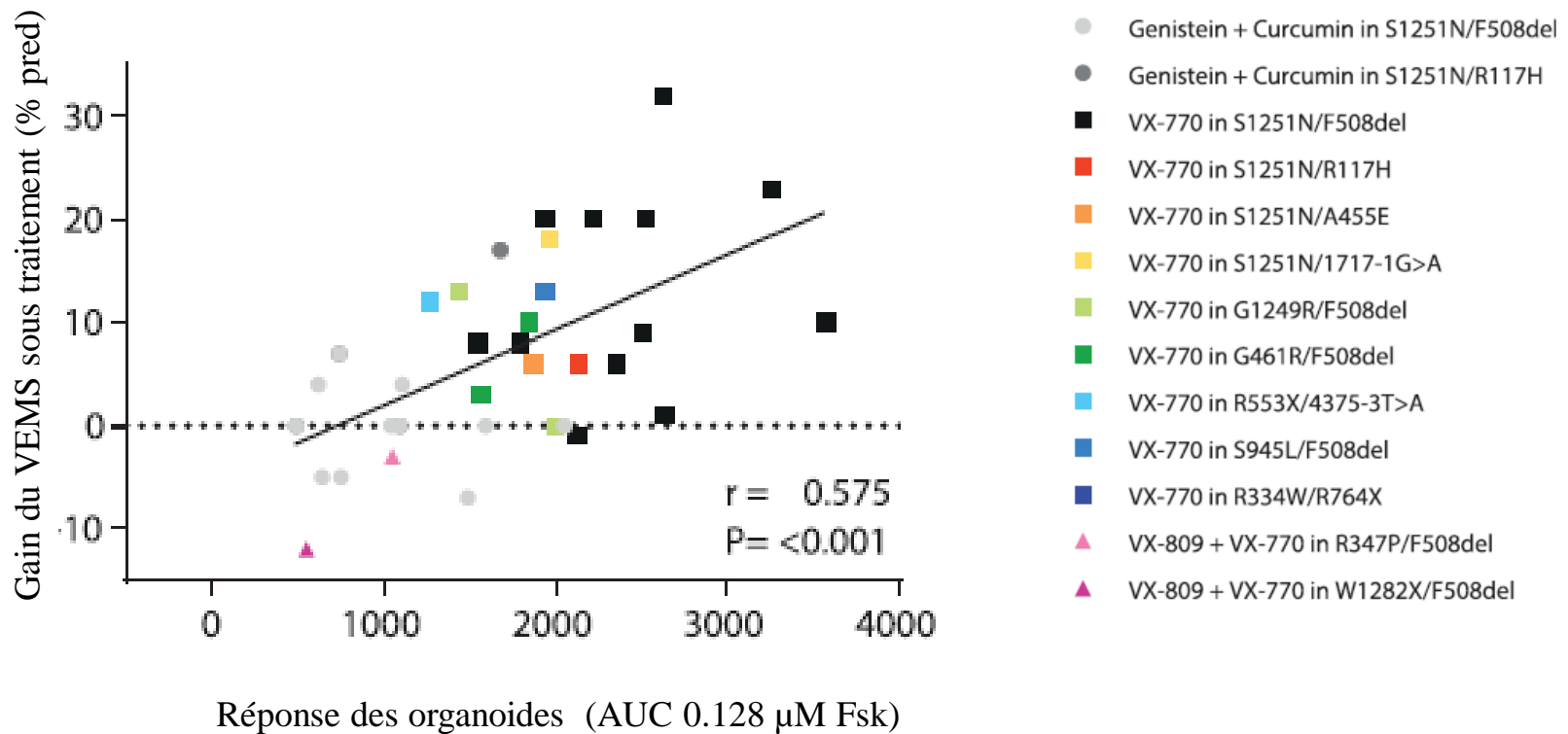
Time lapse of a 60 mn movie

Sujet malade (F508del homozygote)



Time lapse of a 60 mn movie

Corrélation de la réponse des organoïdes à l'amélioration respiratoire des patients (mutations répondeuses)

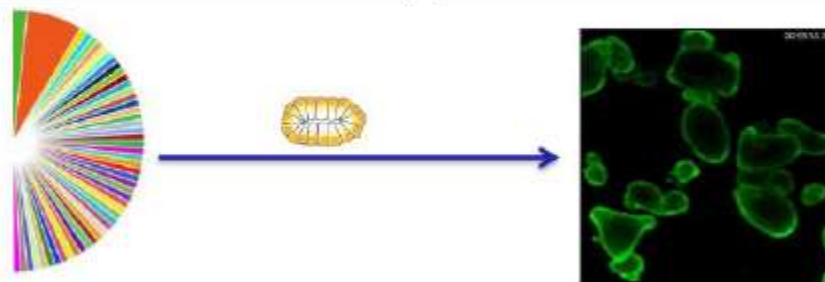


Projet européen Hit-CF

1.

Collect 500 biopsies from European CF-patients

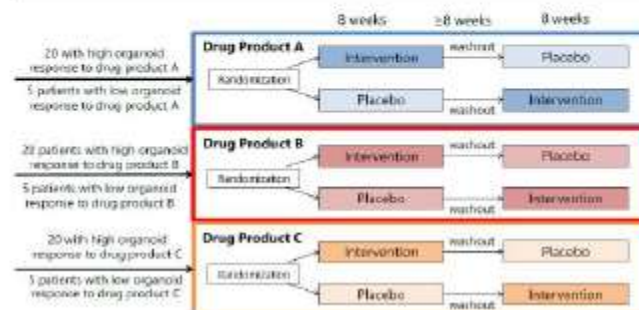
Test drugs of three pharmaceutical companies on these organoids



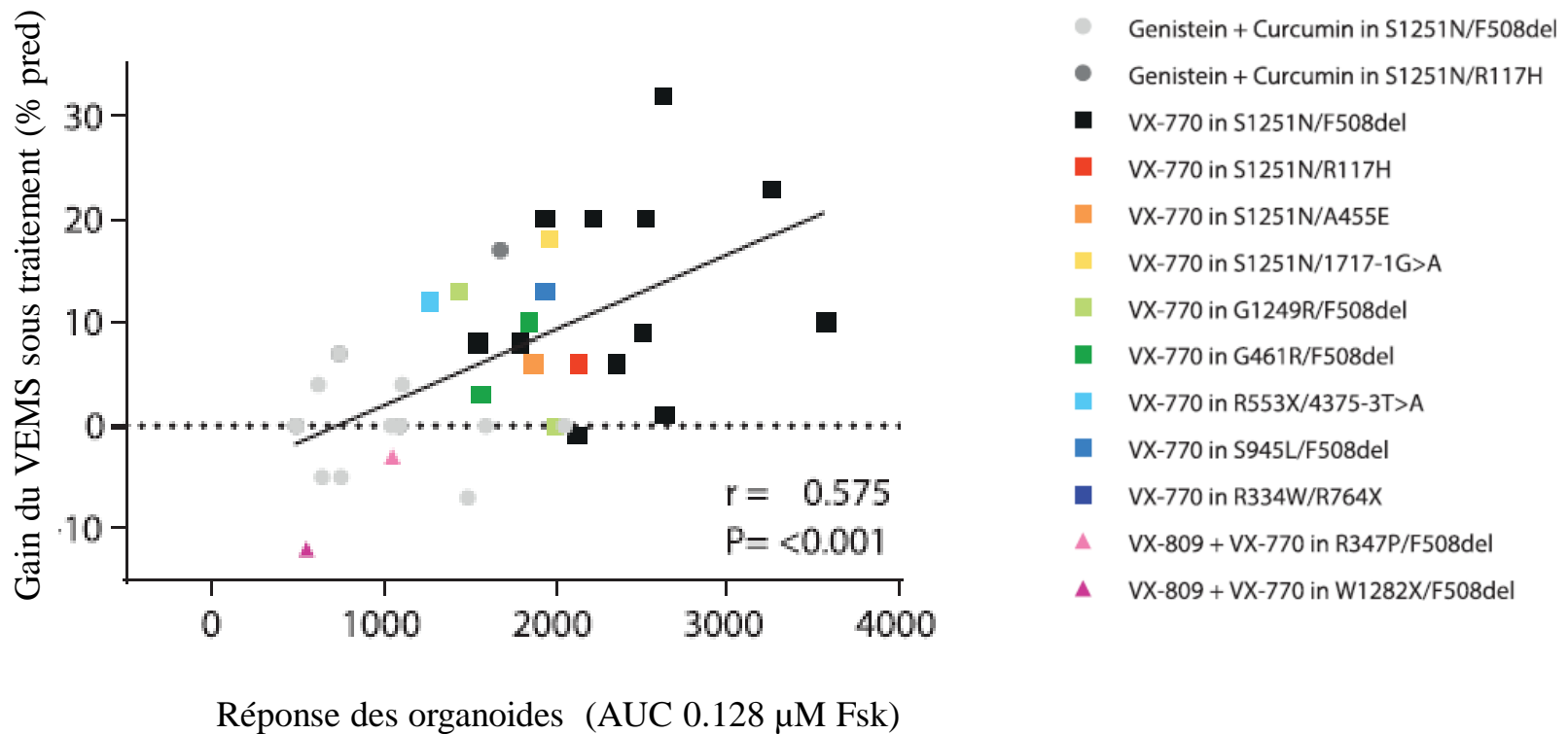
2.

Select the best responders per drug

Execute 3 double-blinded, placebo-controlled cross-over clinical trials

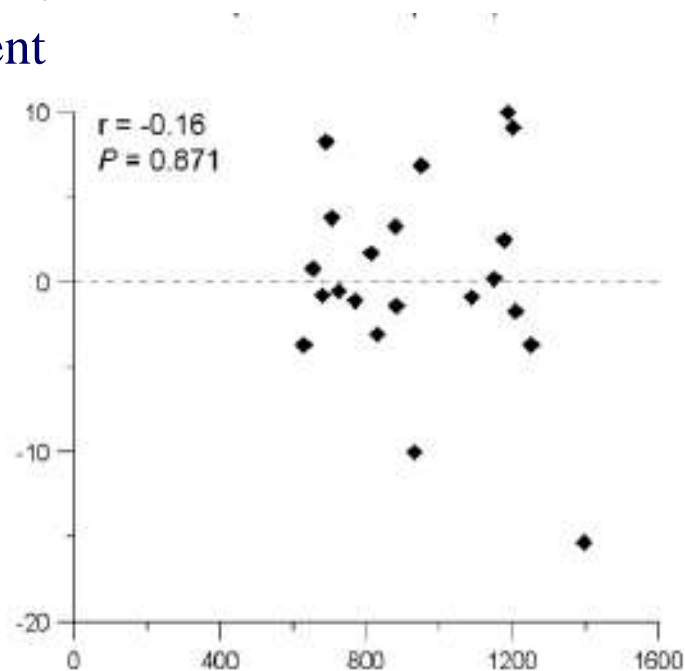


Corrélation de la réponse des organoïdes à l'amélioration respiratoire des patients (mutations répondeuses)



Pas de corrélation à la réponse clinique et à la restauration de CFTR dans la muqueuse intestinale (F508del; 3849+10kb C→T ; D1152H ; A455E)

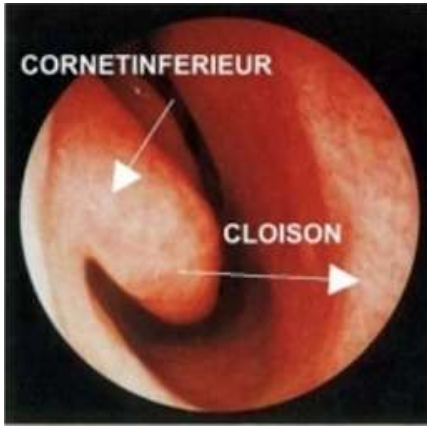
Gain respiratoire
sous traitement



Augmentation de volume des organoïdes

Cellules nasales (Culture primaire)

Prélèvement



Transport

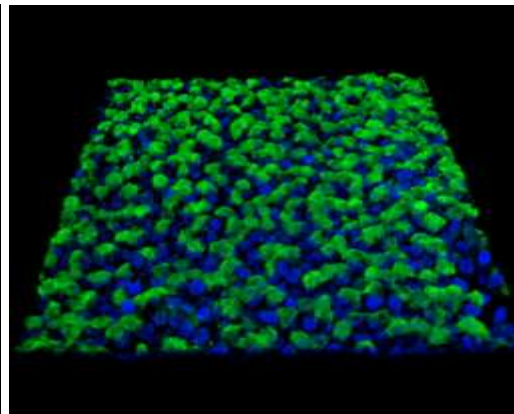
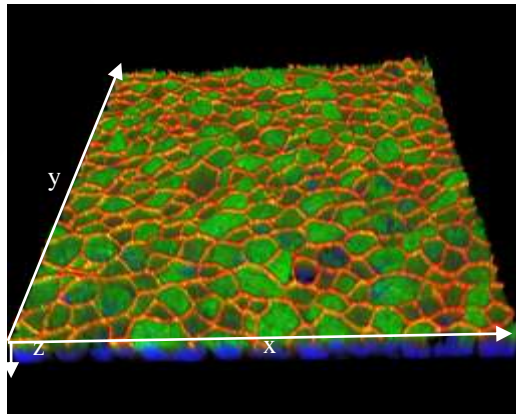


Expansion



ZO-1 Keratin 8 Nucleus

α Tubulin

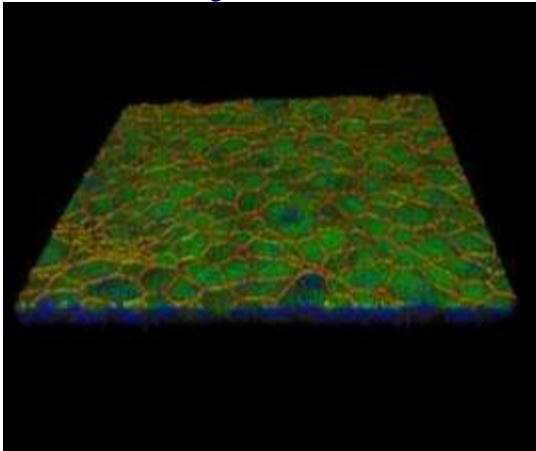


Pranke et al, Scient Report 2017
Pranke et al. AJRCCM 2019
Masson et al. J Cyst Fibr 2018
Noel et al. Submitted

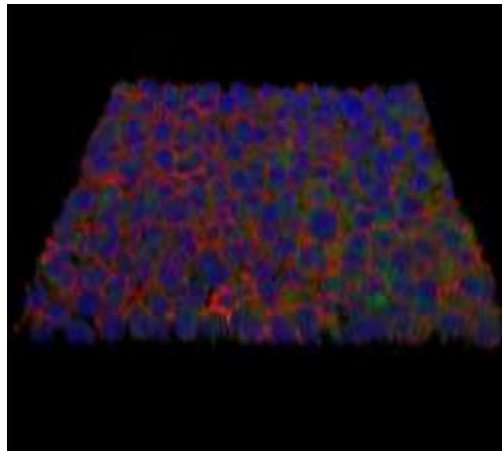
Mesure de l'activité de CFTR

3D reconstitution

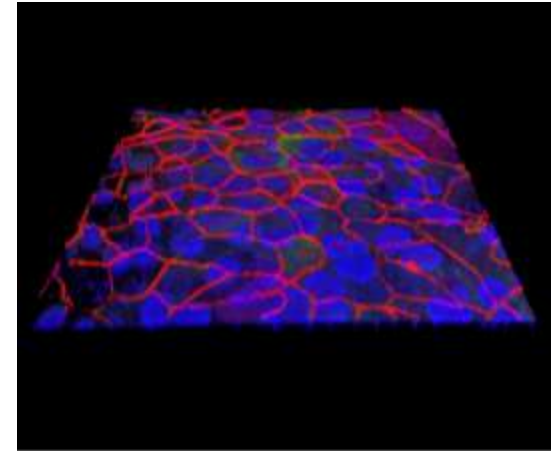
Sujet sain



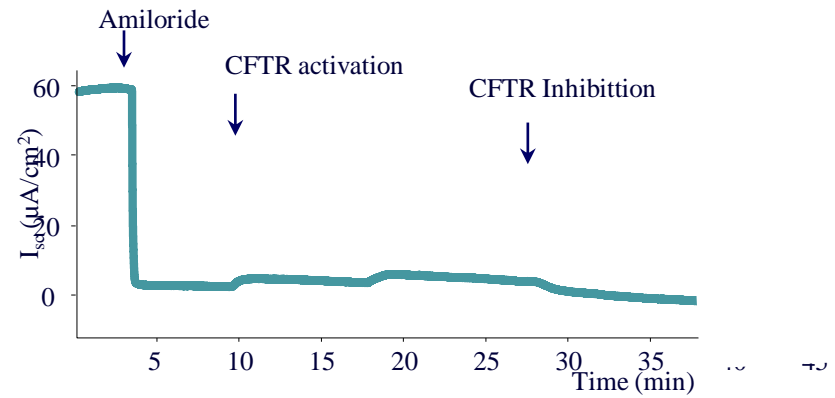
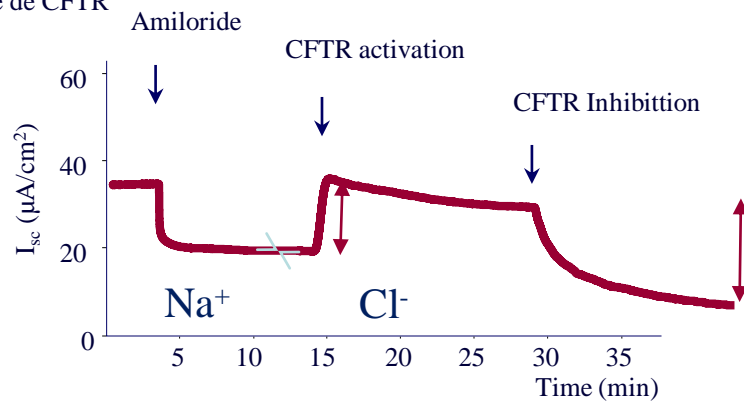
F508del/F508del



Y122X/Y122X

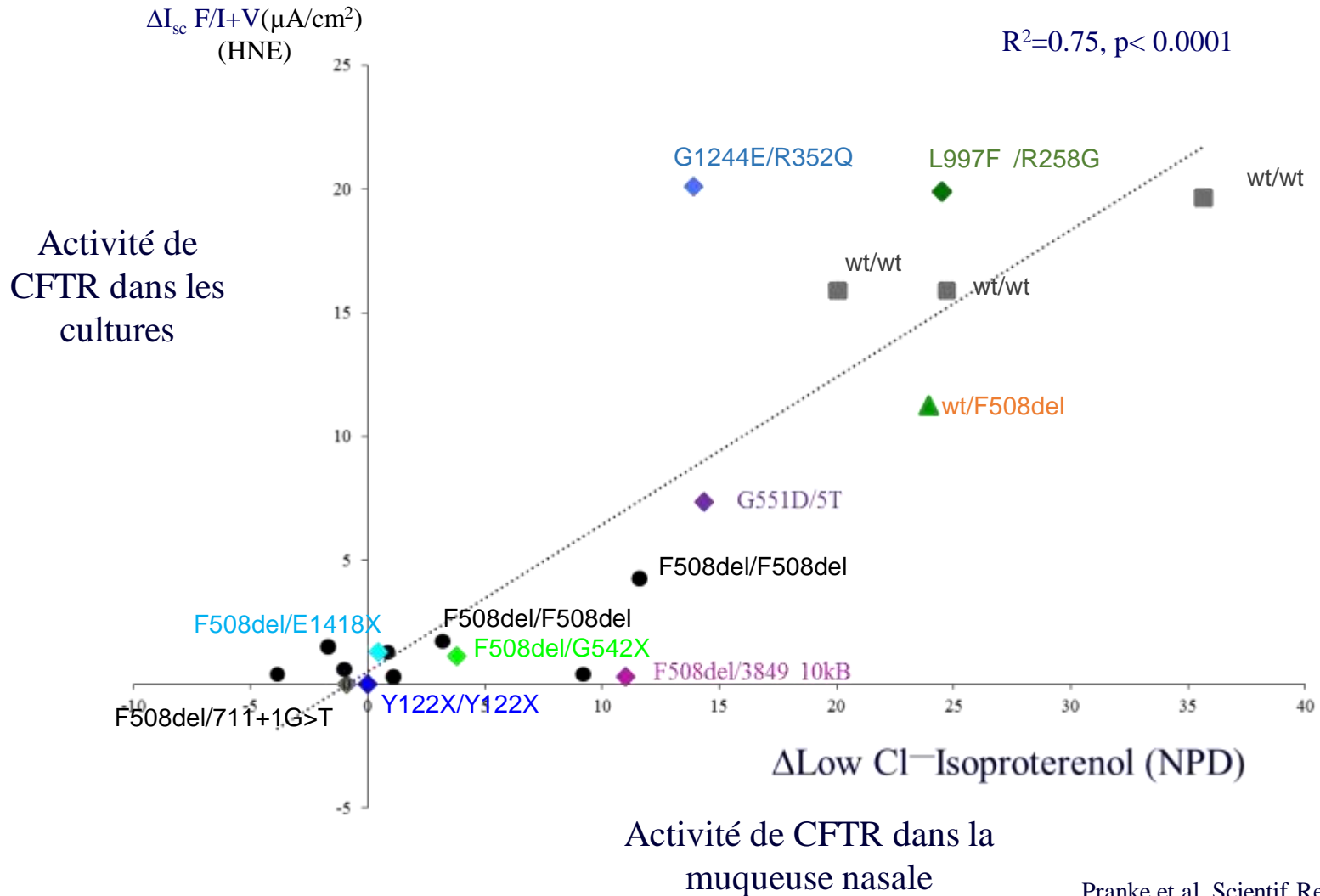


Activité de CFTR



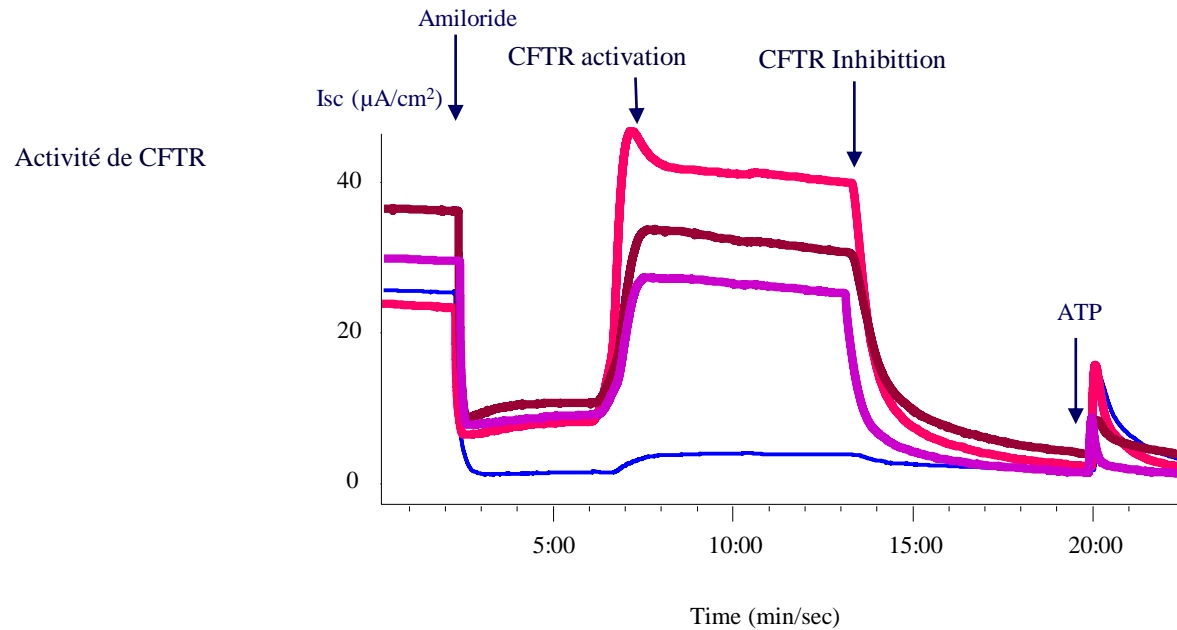
Correlation avec le niveau d'activité de CFTR chez le patient

Différentie des niveaux d'activité différents de CFTR (fonction résiduelle)



Evalue l'activité de modulateurs de CFTR Sur des mutations spécifiques

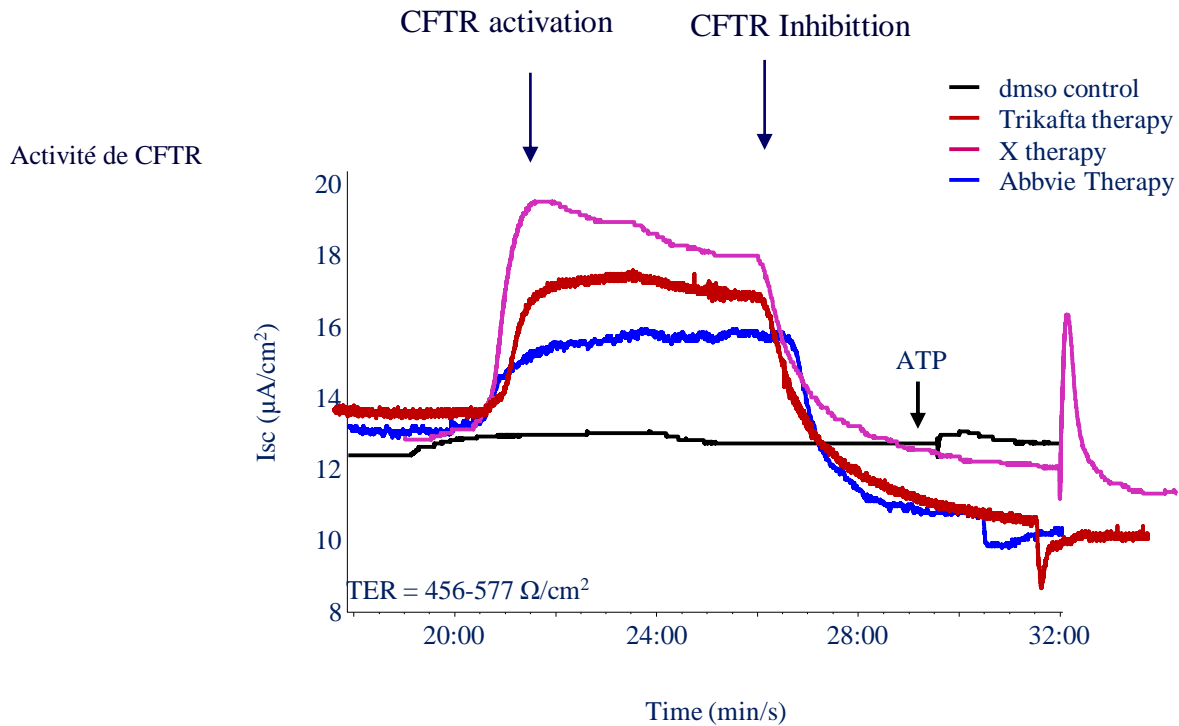
3849+10kb C>T/3849+10kb C>T



- Scramble oligonucleotide
- Antisense ASO X
- Antisense ASO Y
- Antisense ASO Z

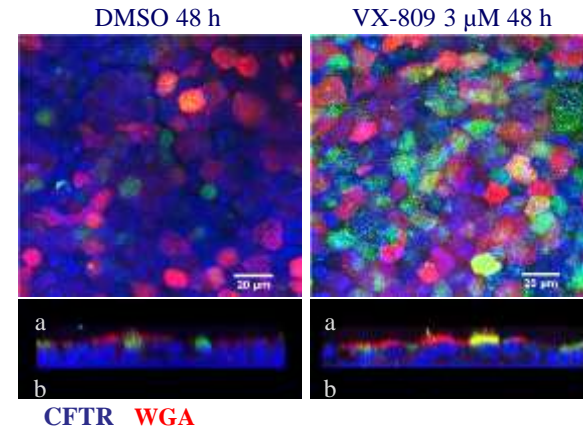
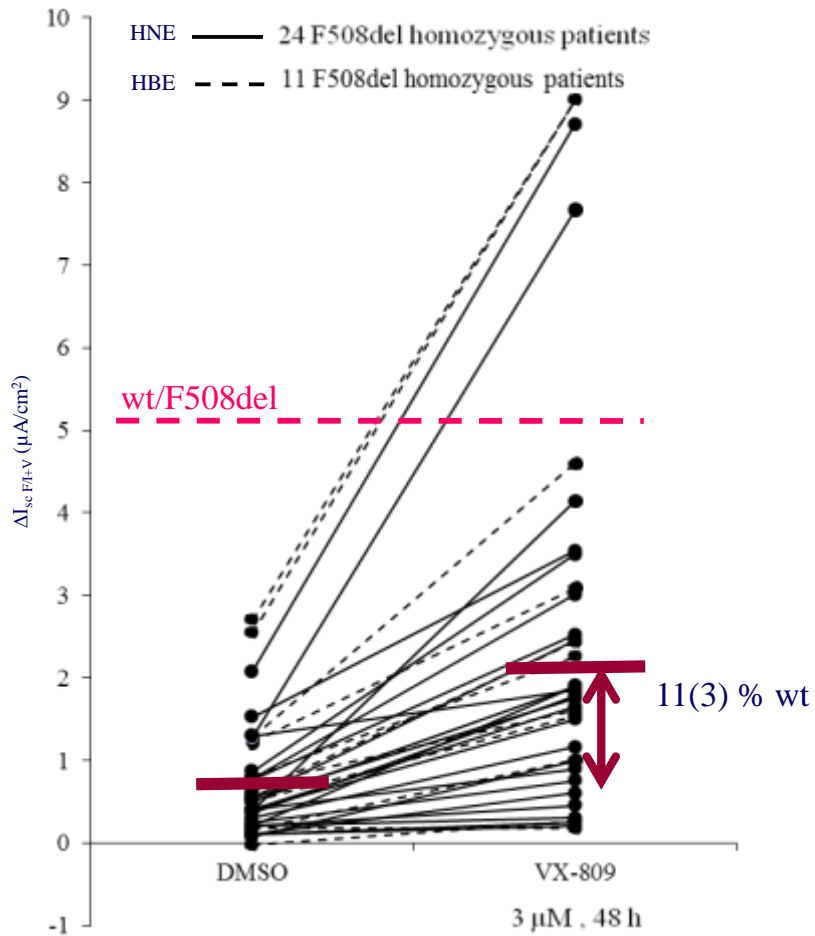
Compare l'activité de différents modulateurs Sur des mutations spécifiques/rares

G91R



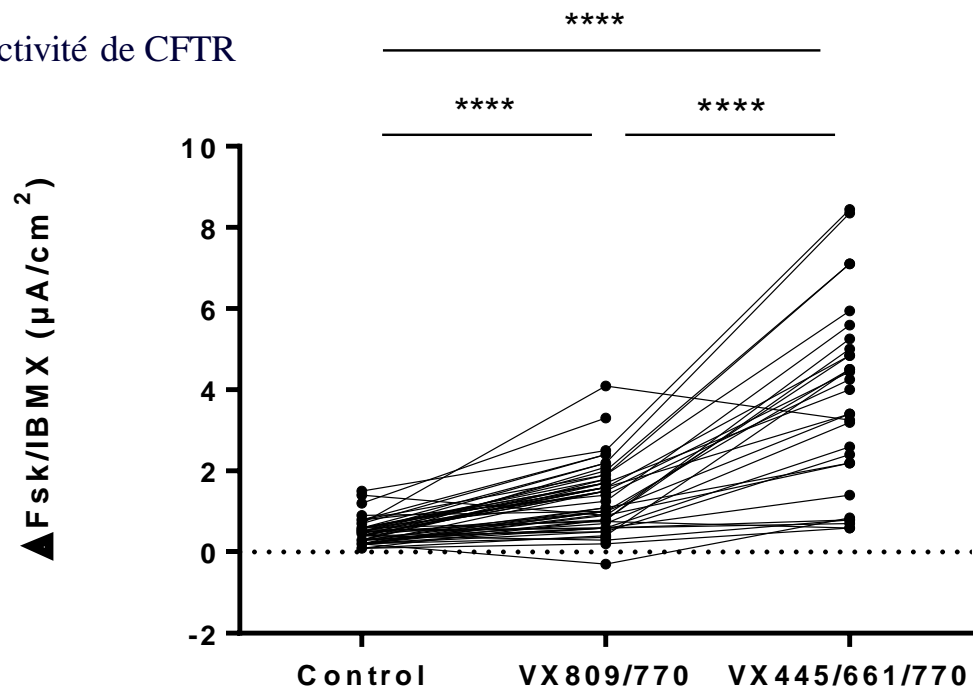
Compare l'activité de différents modulateurs Sur des mutations fréquentes Orkambi/F508del

Activité de CFTR

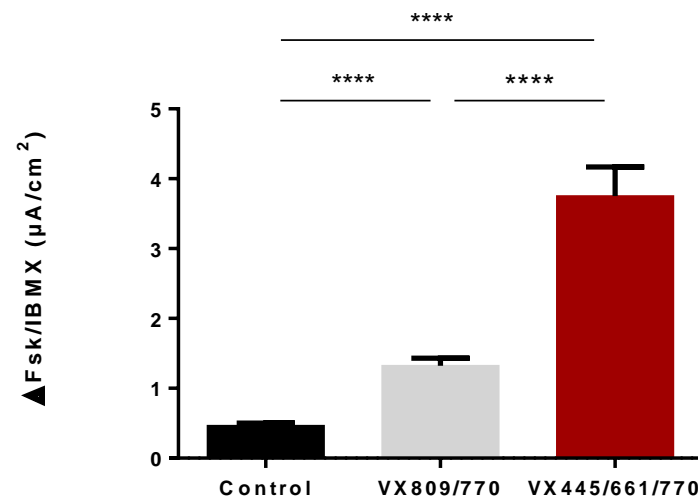


Compare l'activité de différents modulateurs Sur des mutations fréquentes Orkambi-Trikafta/F508del

Activité de CFTR

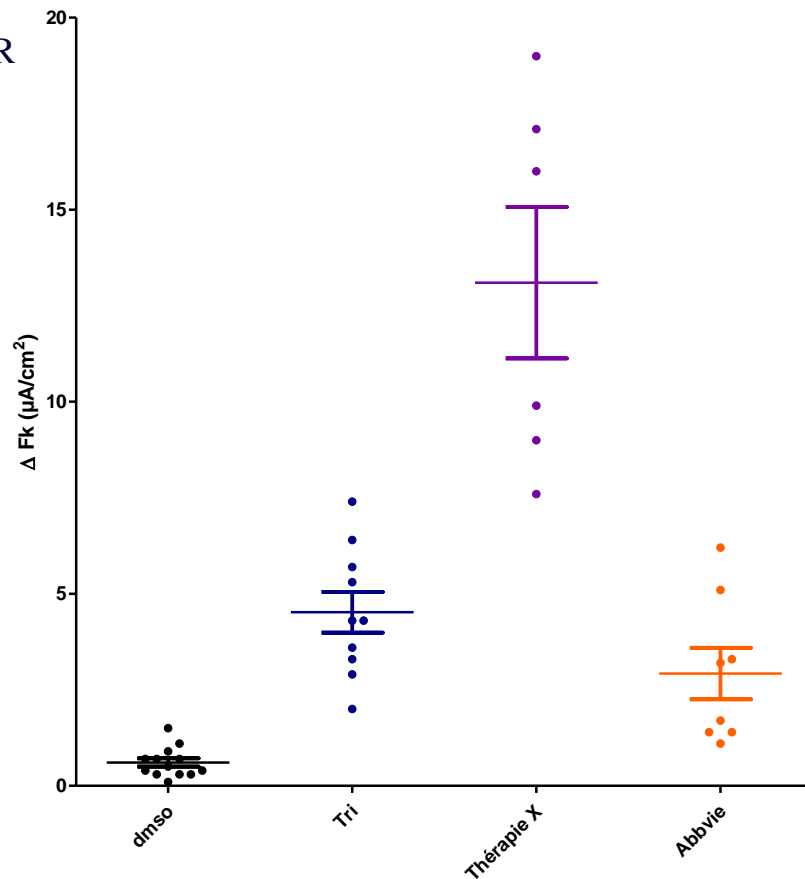
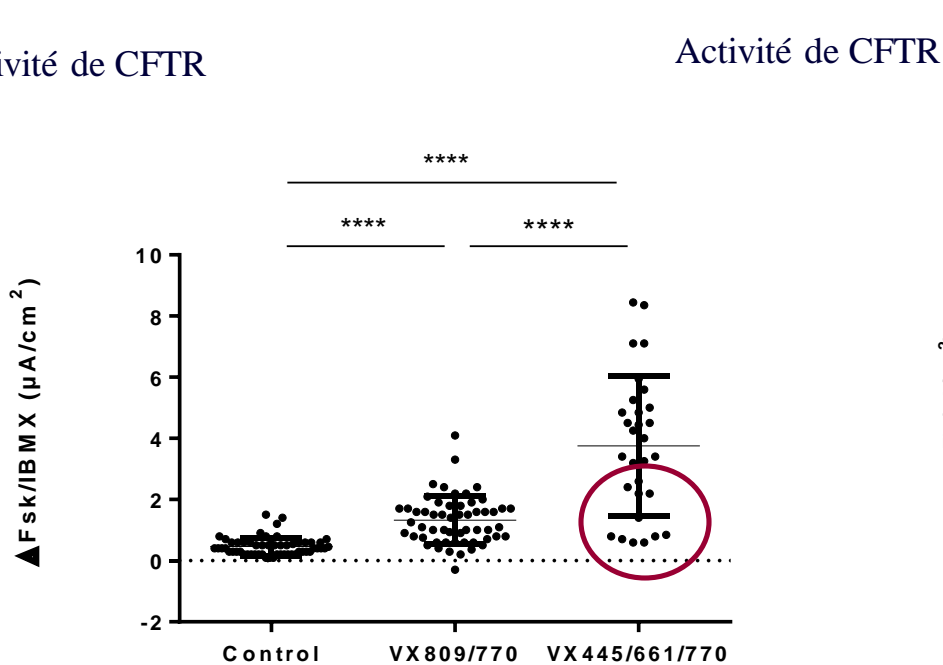


Activité de CFTR



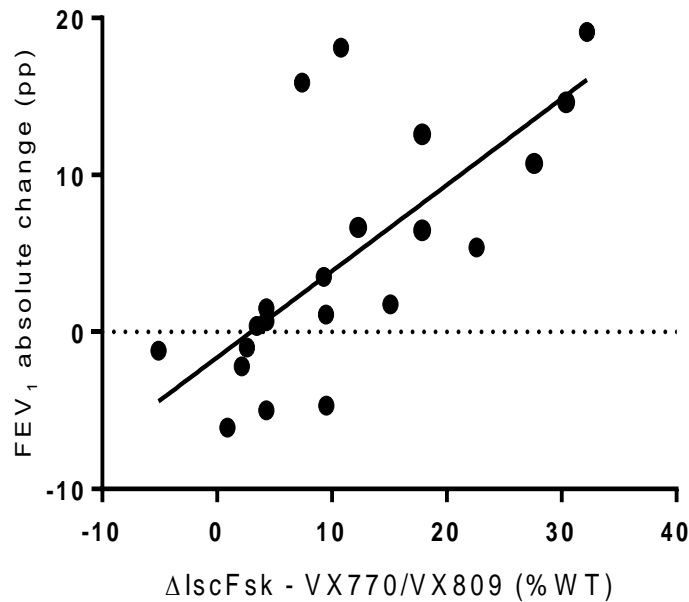
Compare l'activité de différents modulateurs Sur des mutations fréquentes Orkambi-Trikafta-Autres/F508del

Activité de CFTR

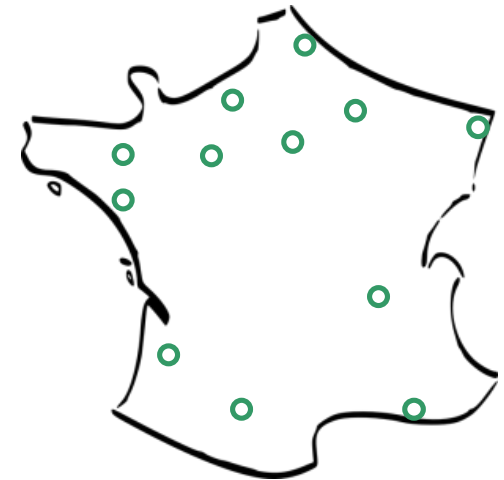


Corrélation de la correction du transport de chlorure par modulateurs de CFTR à l'évolution du VEMS à 6 mois

Résultats préliminaires



Primary nasal cells–Predict-CF

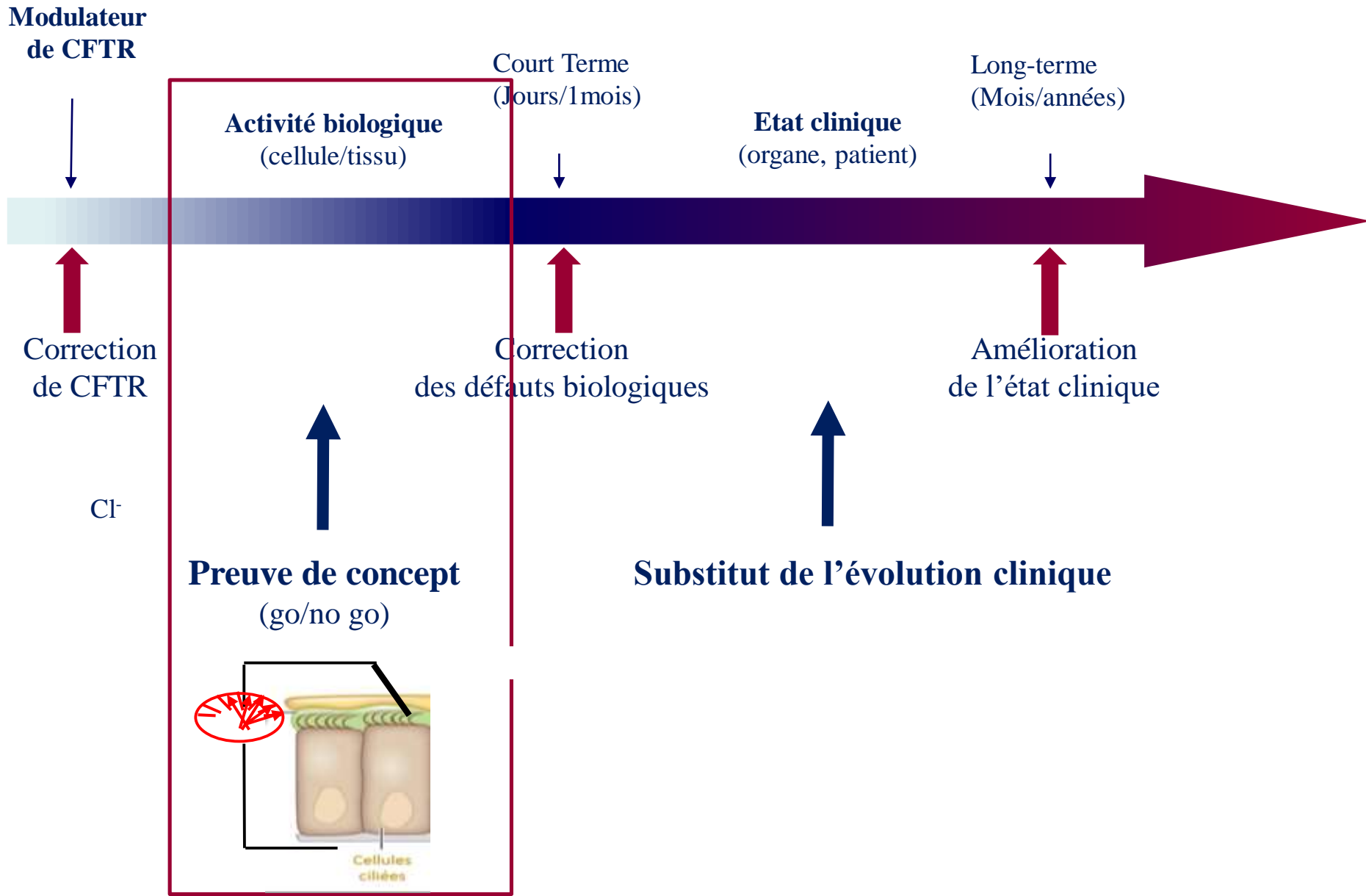


Spearman, $r = 0.71$

P-value 0.01

N = 16

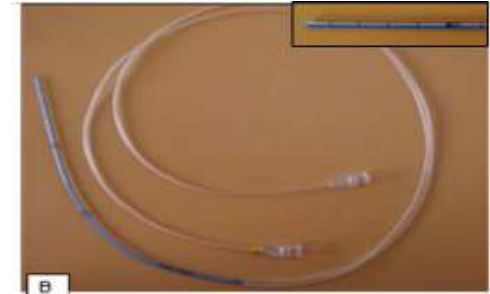
Biomarqueurs prédictifs de la réponse aux modulateurs de CFTR



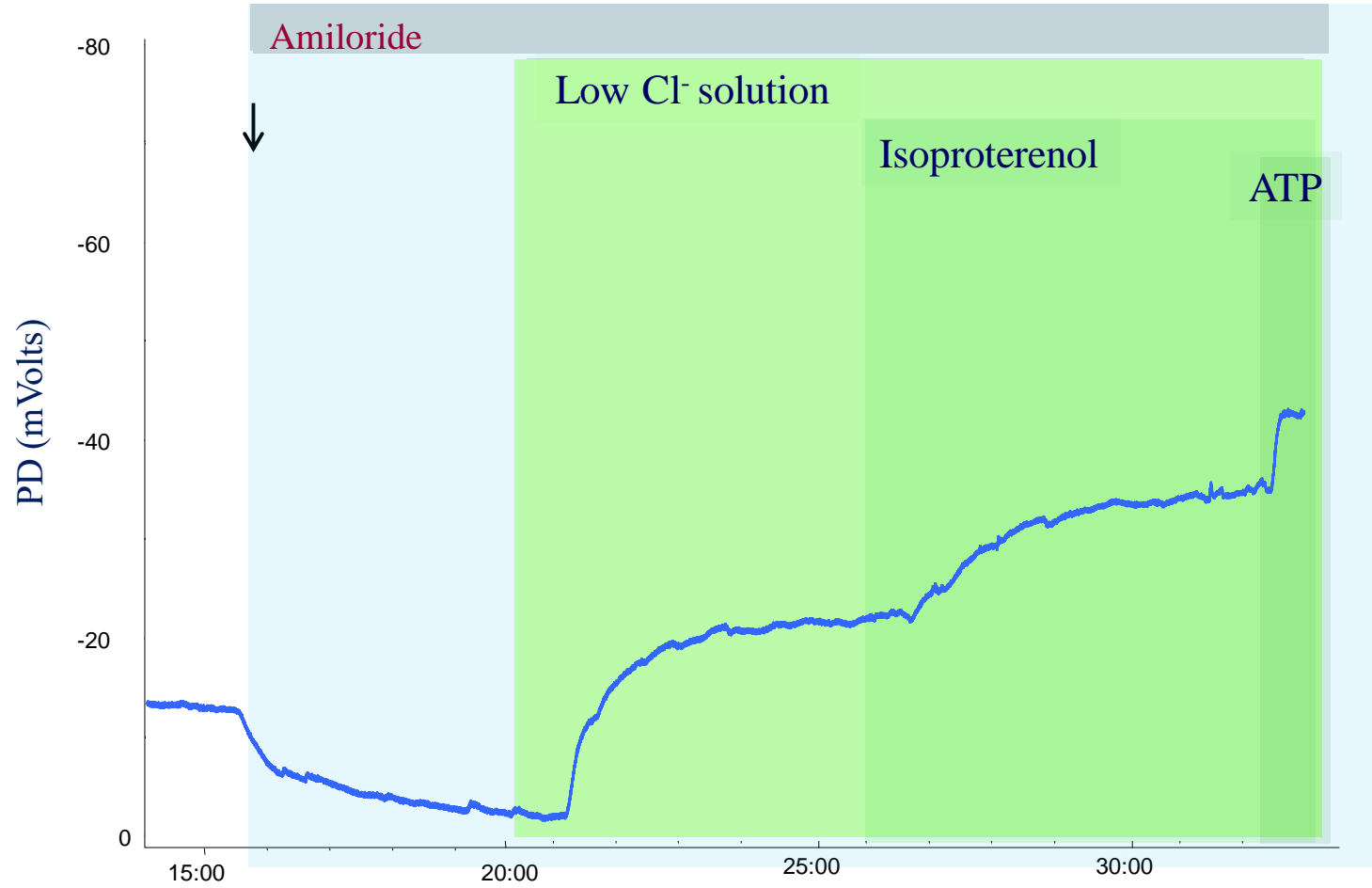
Différence de Potentiel nasal

Electrode de Mesure

Electrode de Référence

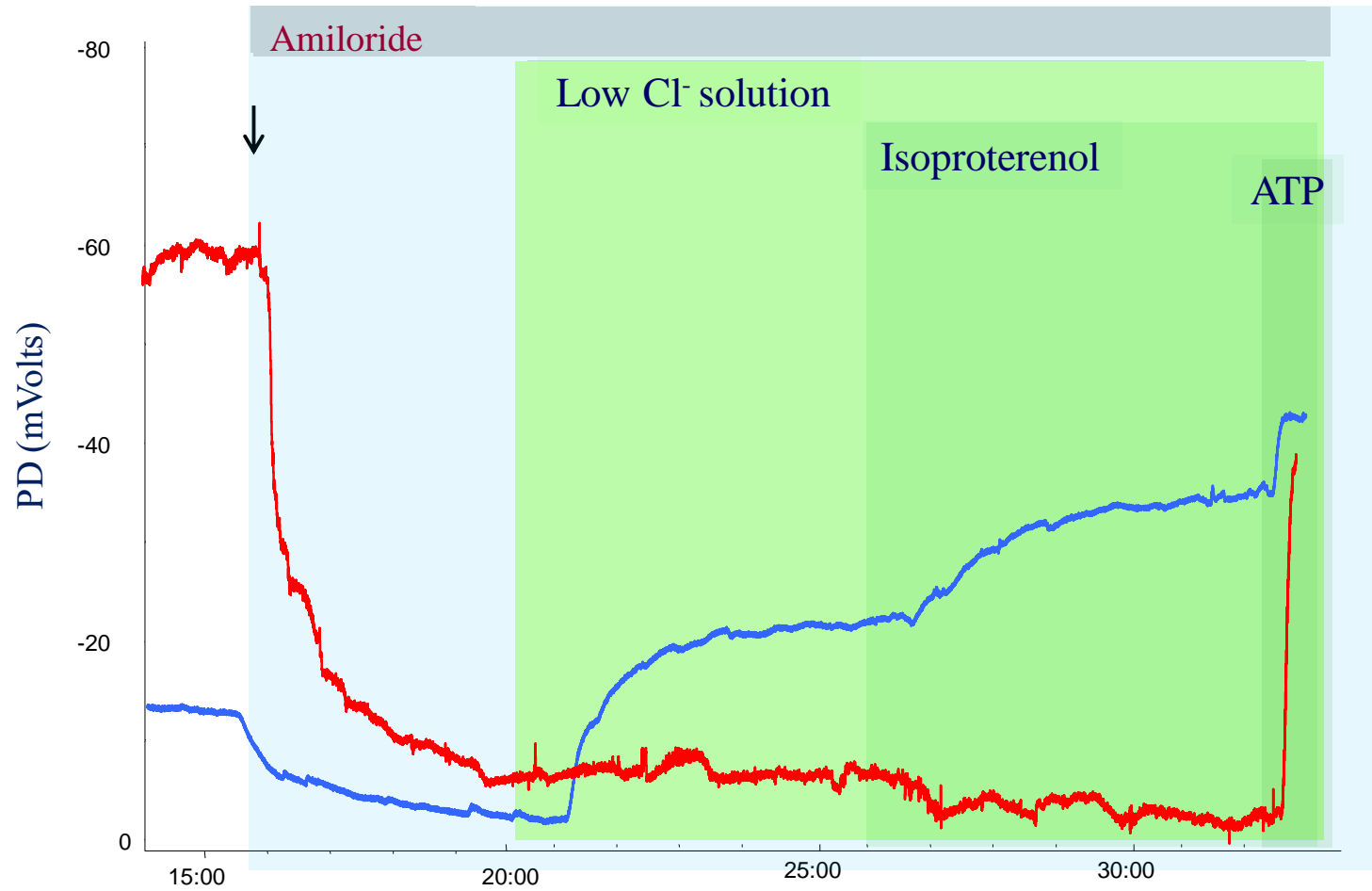


Sujet sain



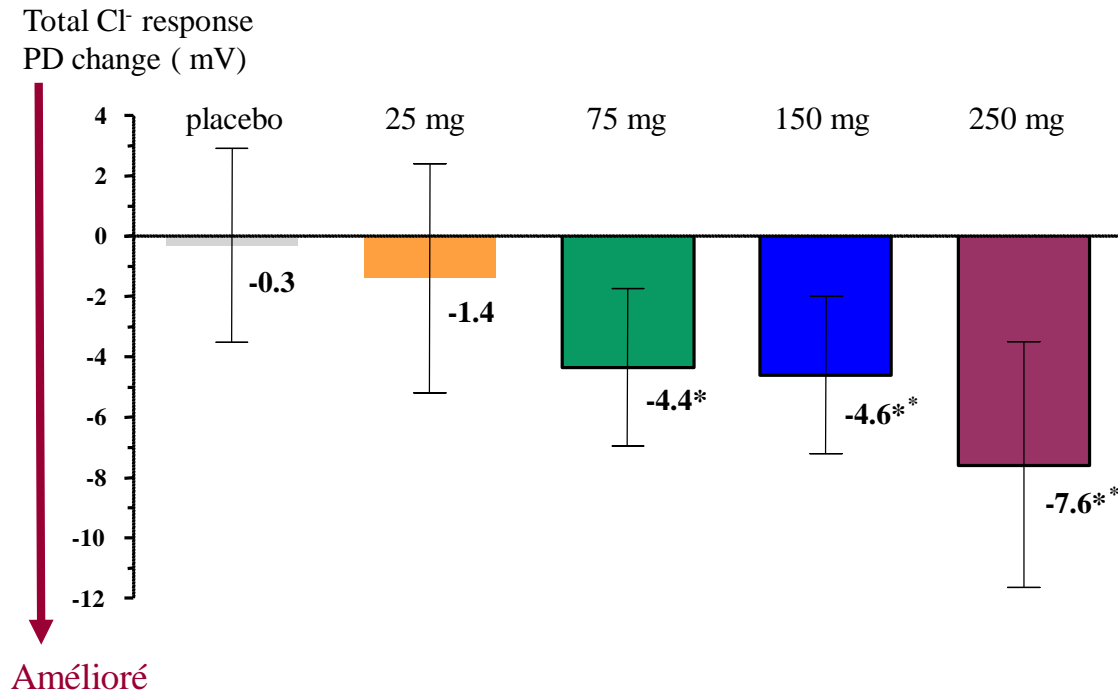
Sujet sain

Sujet Malade



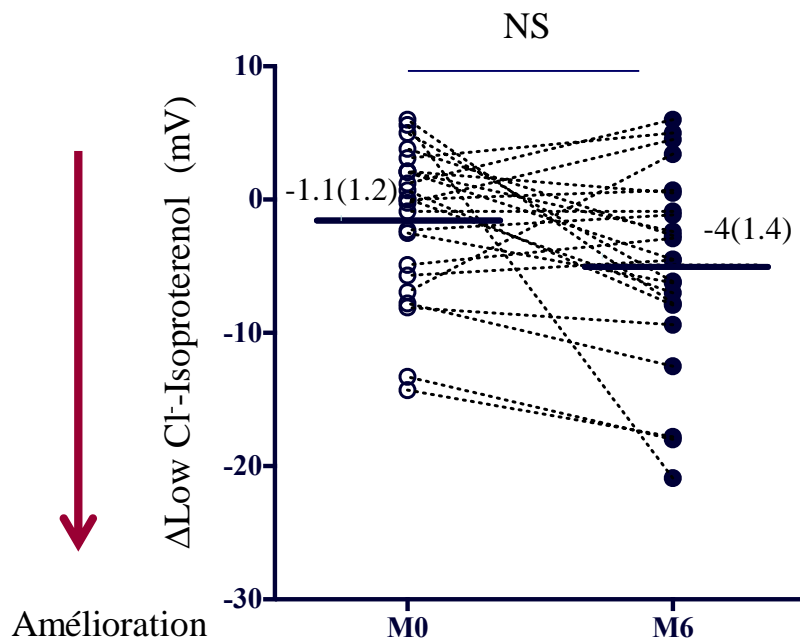
Amélioration de la DDP à 2 semaines de traitement par kalydeko (G551D)

Dose dependant change in Cl⁻ transport

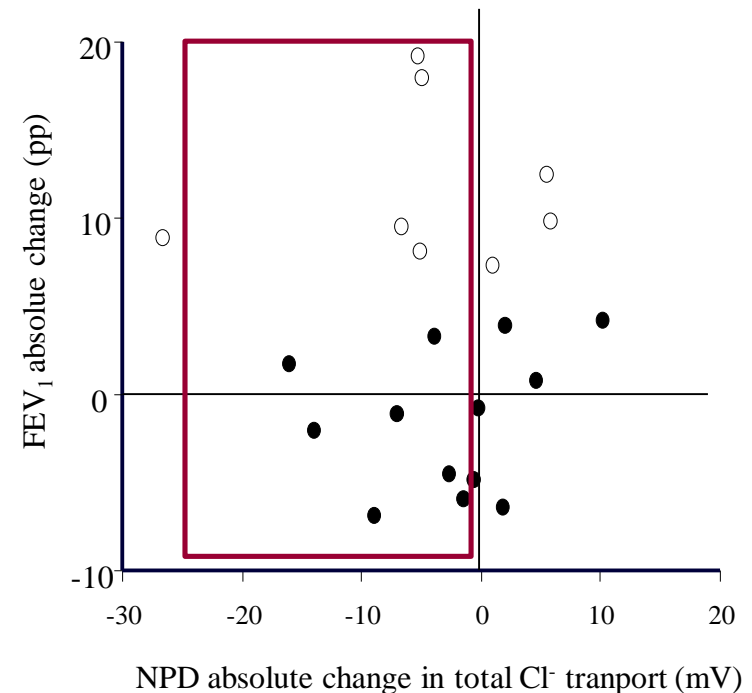


Pas de corrélation de la variation de la DDP nasale à l'amélioration du VEMS à 6 mois d'Orkambi®

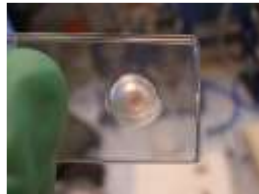
Amélioration de la DDP



Variation de la DDP x VEMS à 6 mois

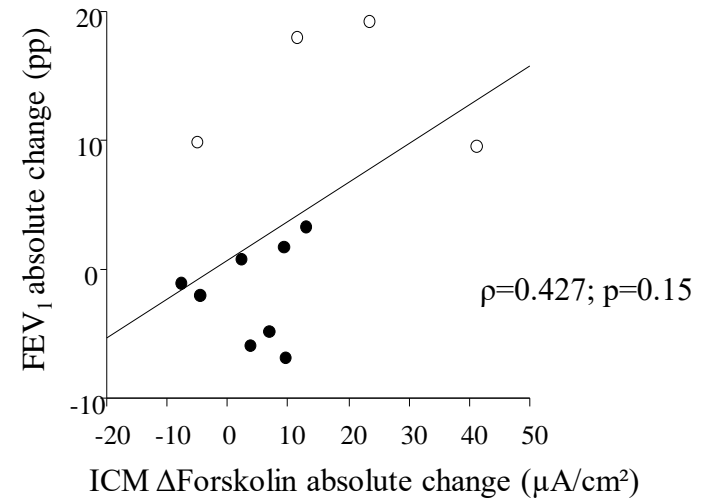
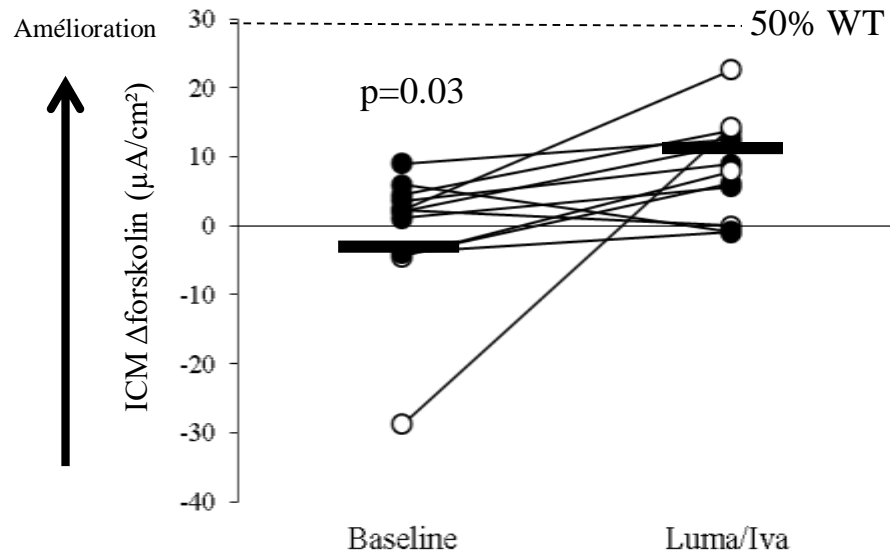


Pas de corrélation de la variation de la DDP rectale à l'amélioration du VEMS à 6 mois d'Orkambi®



Amélioration de la DDP à 6 mois

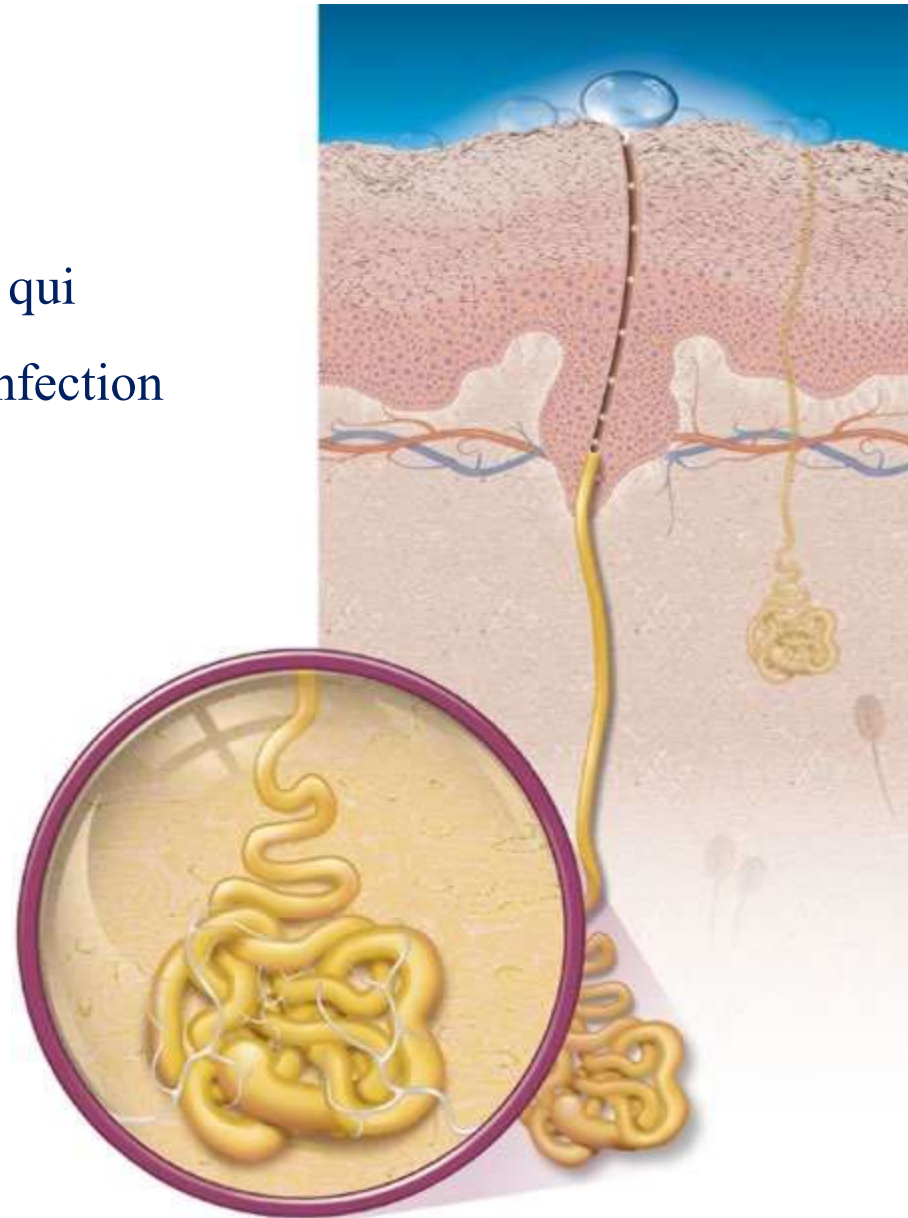
Variation de la DDP x VEMS à 6 mois



Test de la sueur

- Reflète fonction de CFTR dans un organe qui n'est pas affecté par l'inflammation ou l'infection
- Standardisation
- Noninvasif
- Partout possible!
- Faible variabilité intrapatient

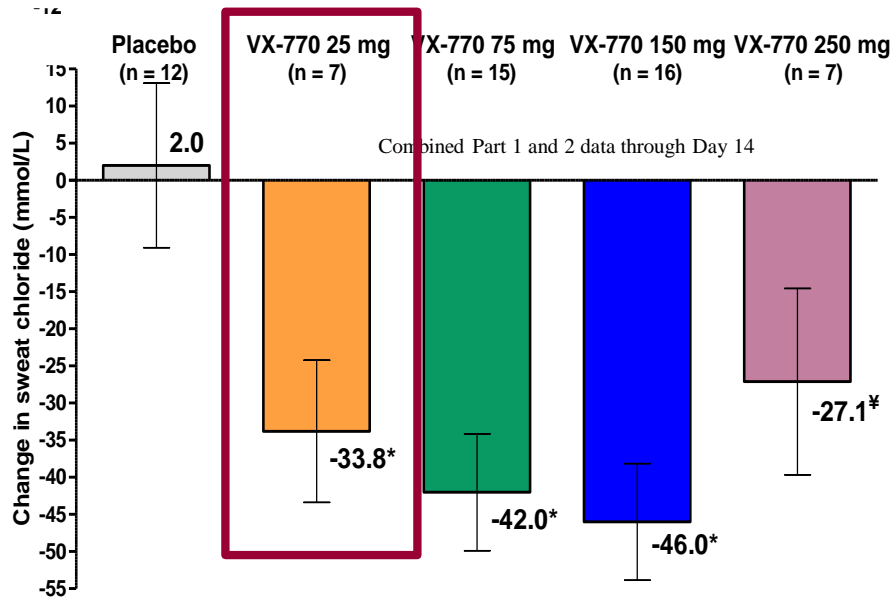
Collaco et al. AJRCCM 2016
Vermeulen et al. JCF 2017



Sato et al. JCI 1984

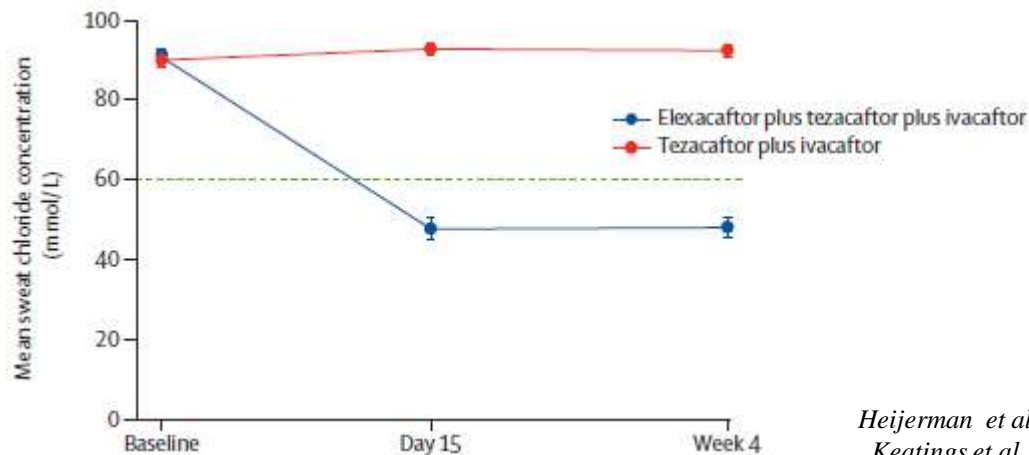
Amélioration à très court terme sous modulateurs

Gamme dynamique large



Sensible à de faibles variations de CFTR (10%)

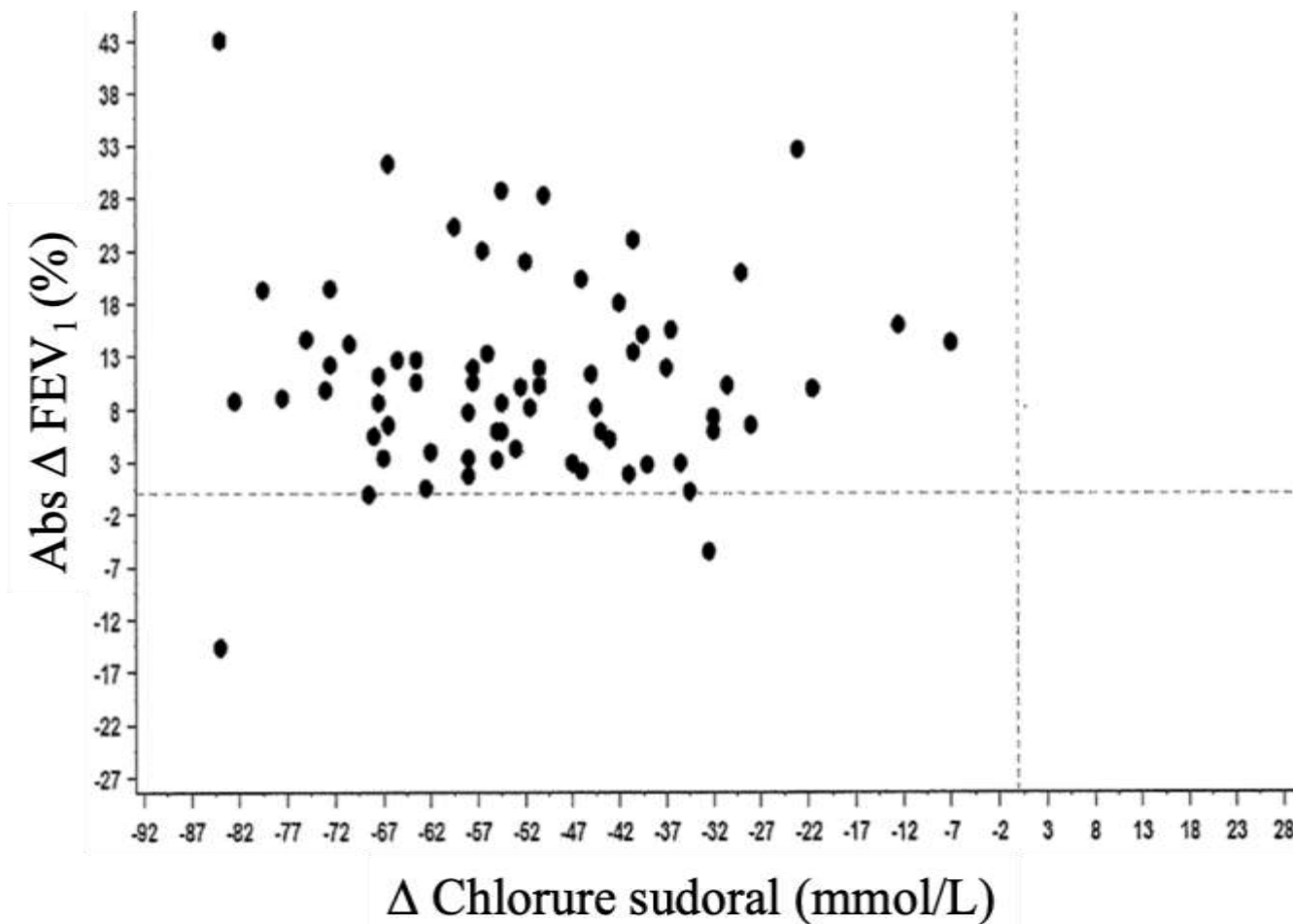
Accurso et al, NEJM 2010, JCF 2013



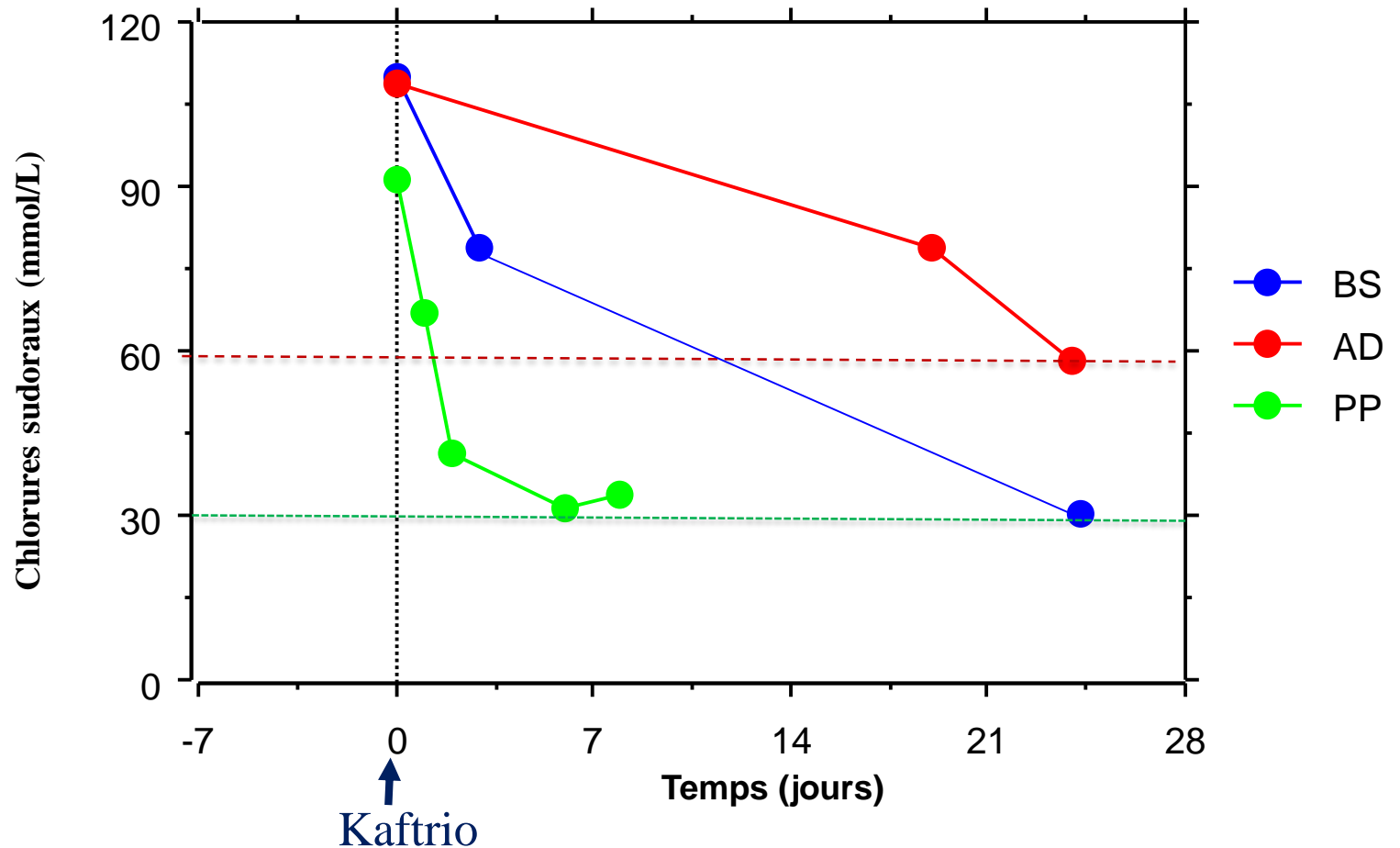
Variation maximale dès 2 semaines

Heijerman et al, NEJM 2019
Keatings et al, NEJM 2018

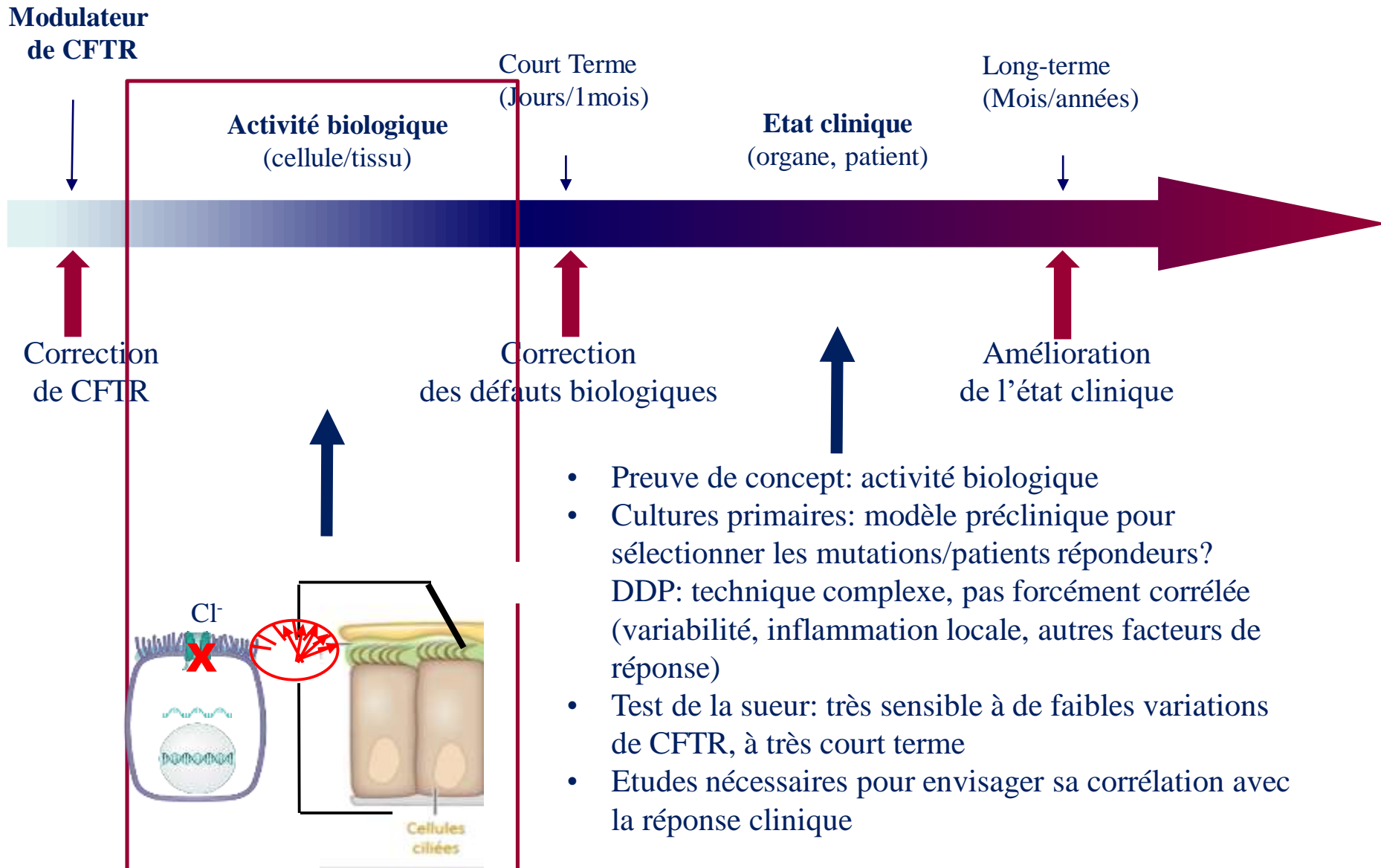
Mais pas de corrélation avec les paramètres respiratoires à plus long terme



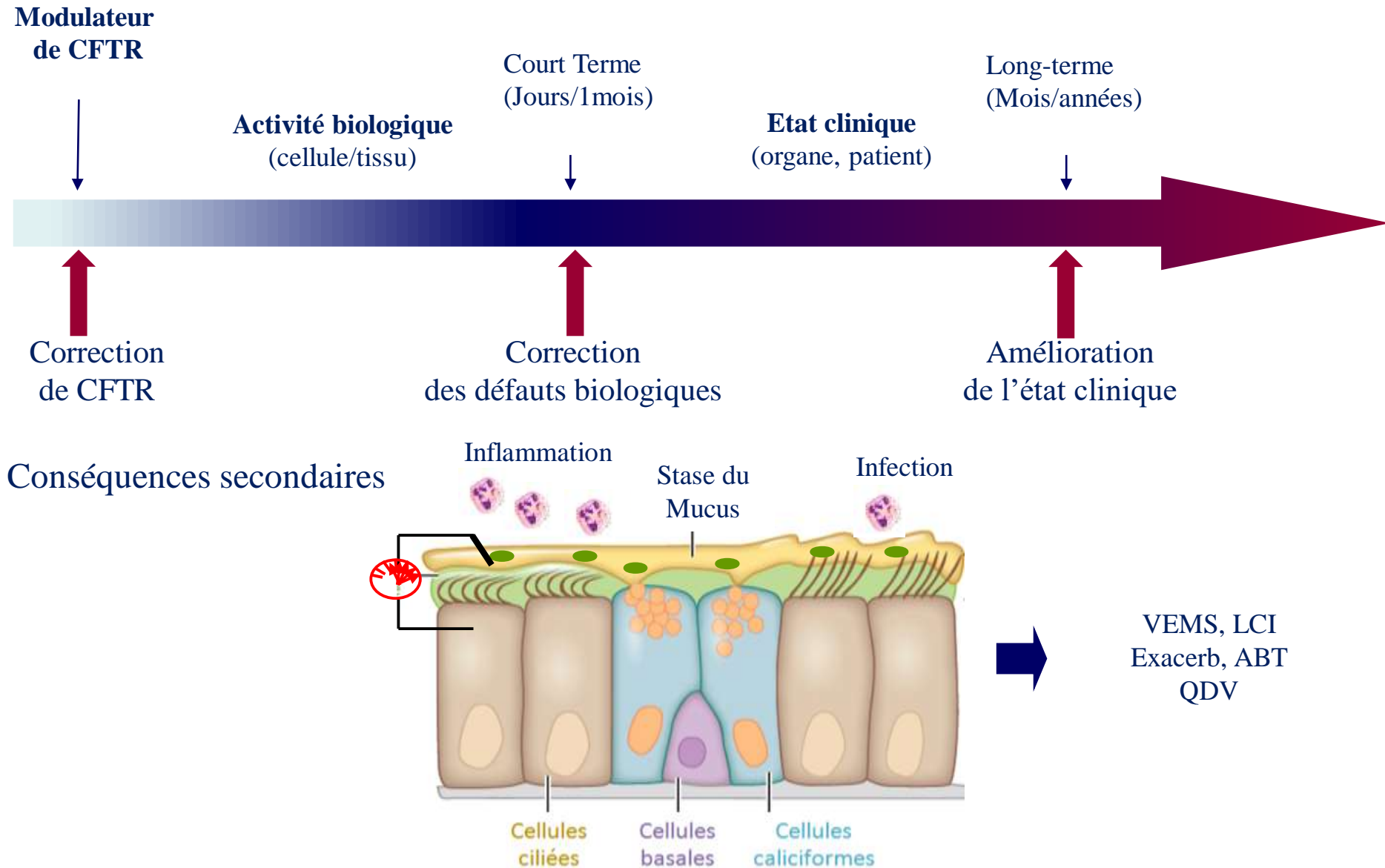
Cinétique variable selon les patients indicateur de la réponse clinique?



Biomarqueurs prédictifs de la réponse aux modulateurs de CFTR



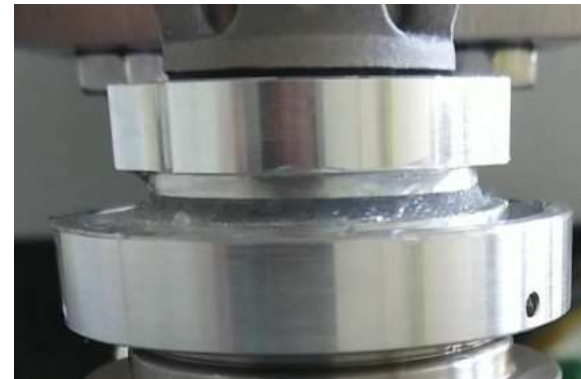
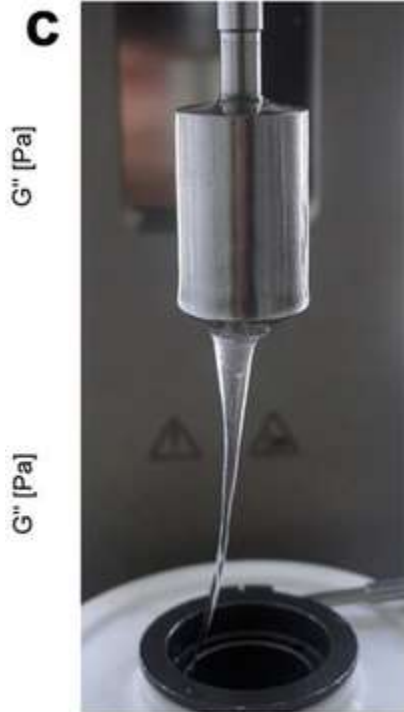
Biomarqueurs prédictifs de la réponse aux modulateurs de CFTR



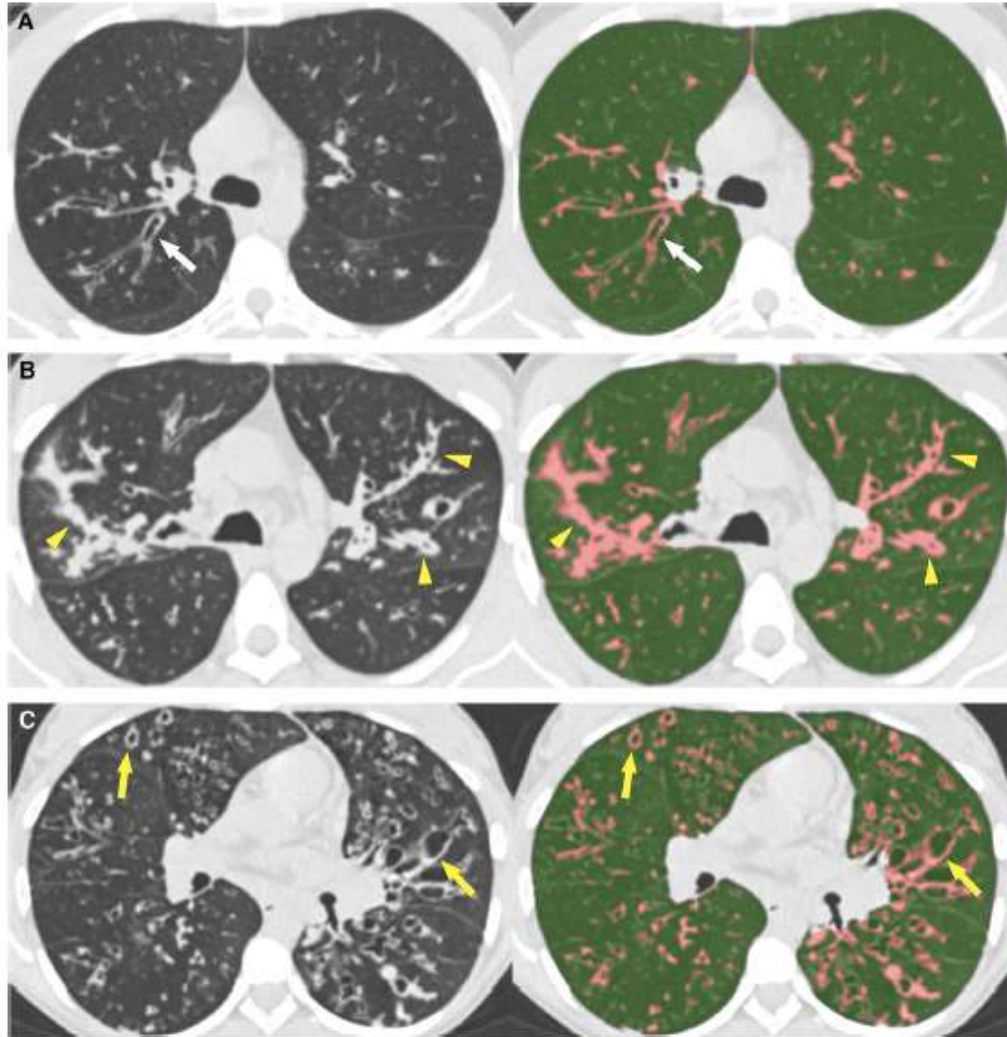
Viscosité des sécrétions bronchiques

« En moins de deux heures, j'ai remarqué des premiers changements subtils. Le mucus dans mes poumons a commencé à changer. J'ai entendu de petits craquements. J'avais l'impression que quelque chose de profond se larchait.

En l'espace de quatre heures, j'ai commencé à tousser presque constamment, ce mucus a commencé à glisser hors de mes poumons avec une facilité que je ne savais pas possible. « La purge » commençait. Et je savais que ma vie ne serait jamais comme avant..... »



Radiomique

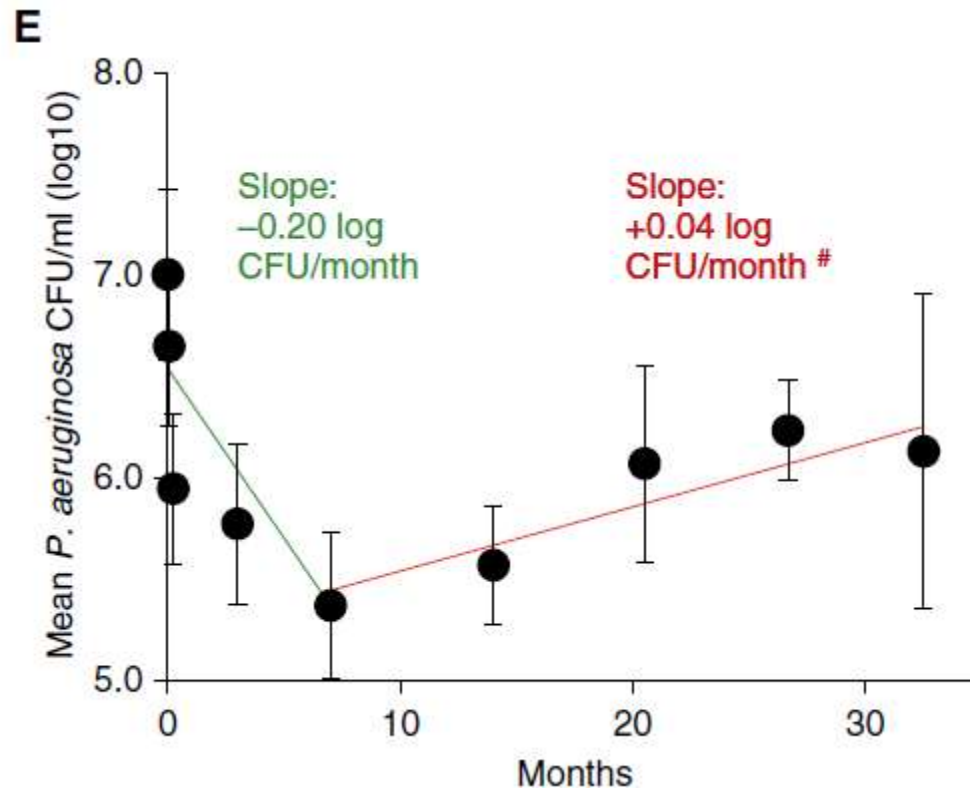


Infection, dysbiose

Abondance, présence: CFU, PCR

Qualité : diversité du microbiote, mycobiome

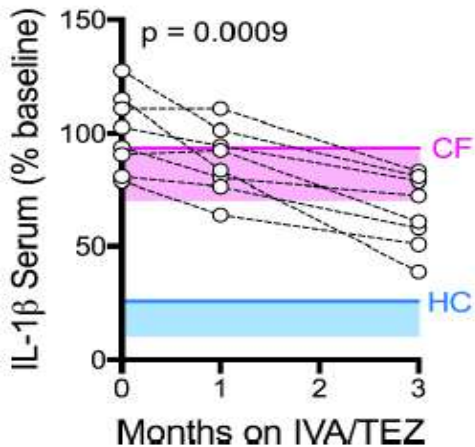
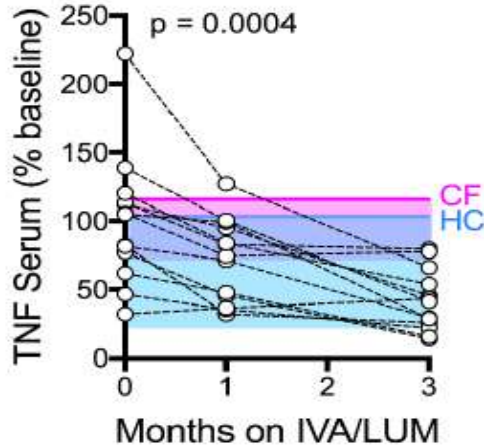
Etude Lumivabiota



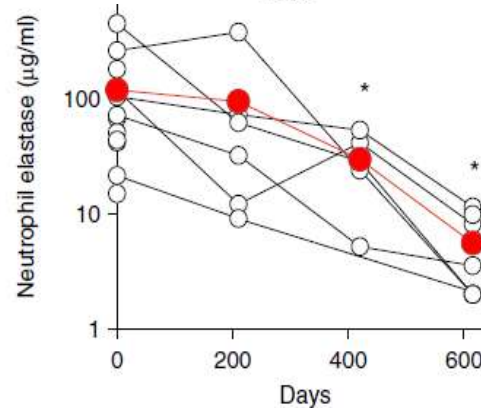
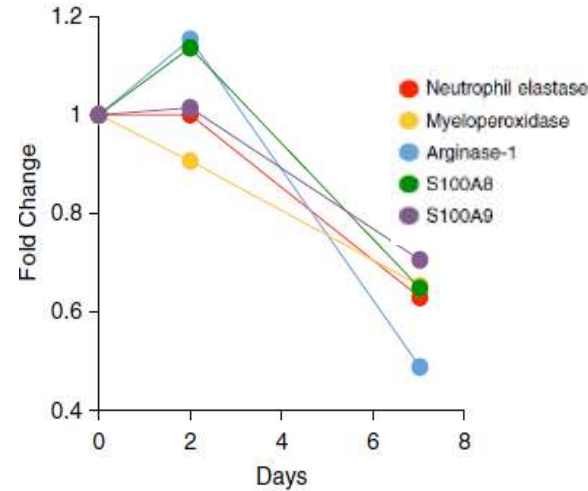
Hisert et al. AJRCCM 2017
Ronan et al. Chest 2018
Harris et al. Ann ATS 2019
Enaud et al. Microorganisms 2018

Inflammation : court terme vs long terme

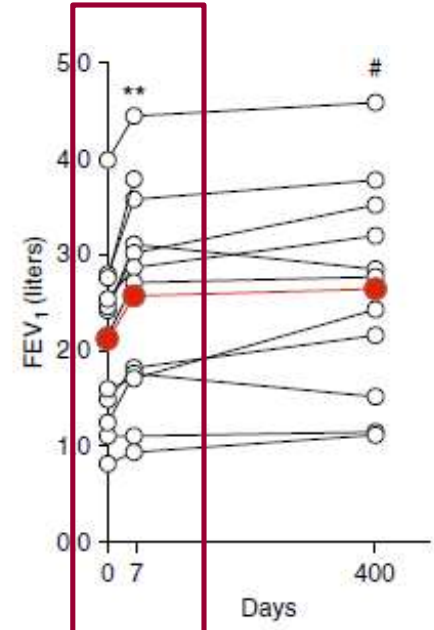
Serum



Sputum



L'amélioration du VEMS n'est pas corrélée



Choix des biomarqueurs, standardisation du recueil

Biomarqueurs de l'inflammation

Travail SFM



Standardisation
du prélèvement:
Expectoration induite

In vivo

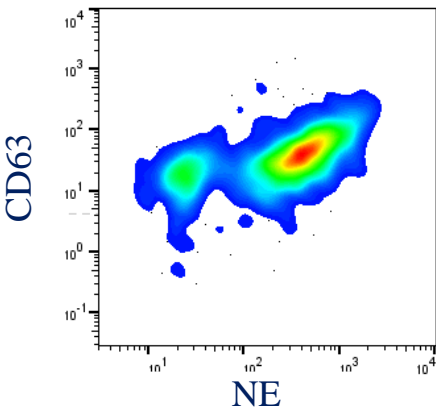
Secrétions bronchiques

IL-8, IL-6, IL1 β , MMP-9, IL10
Neutrophile Elastase (NE)
NE liée à la membrane

Sensibilité
Spécificité
Corrélation a VEMS

Lepissier et al. Submitted

PMN - NE

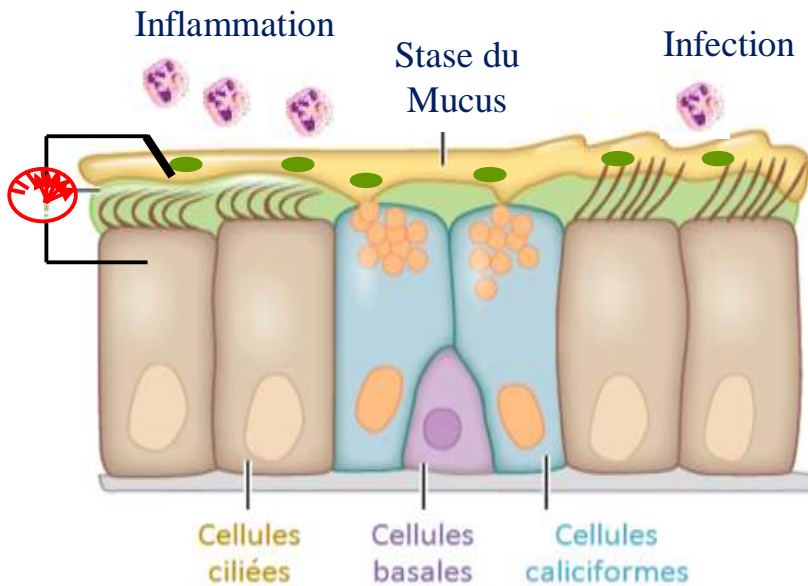
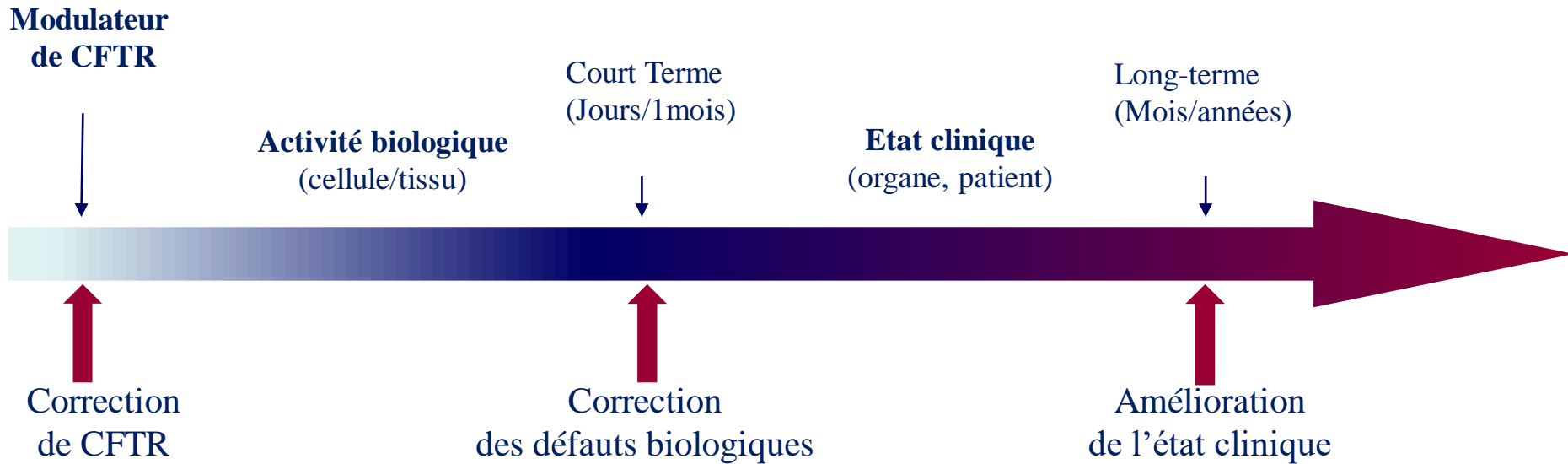


Etude préliminaire, conditions de conservation

340 échantillon collectés
Échantillons rapatriés de 9 centres
n=100 à M0 & n=80 à M6

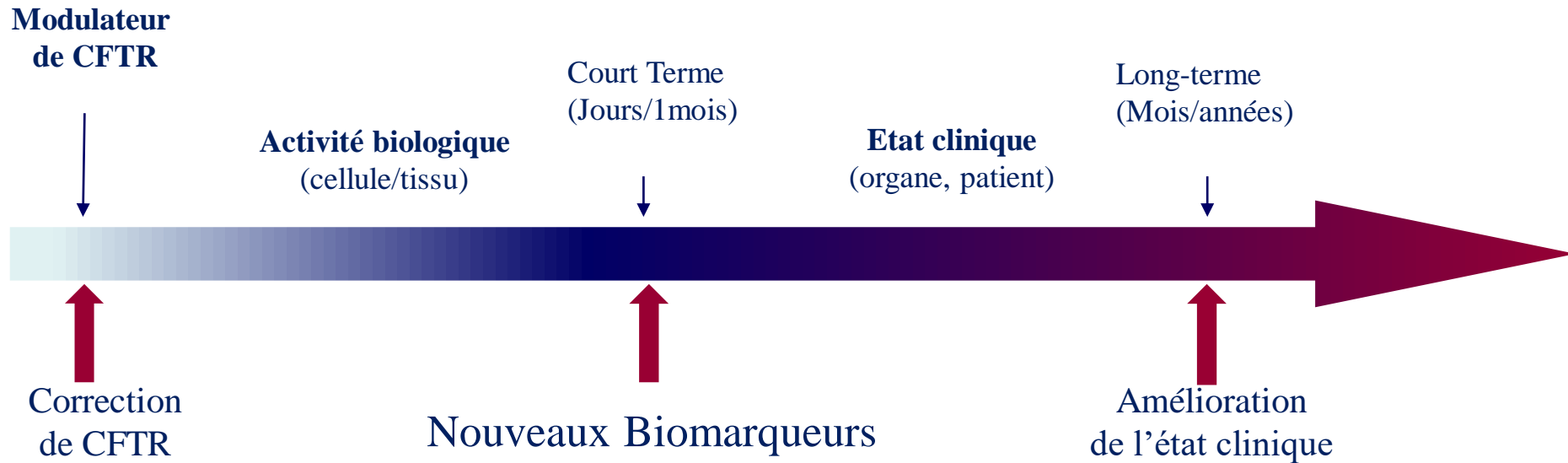
Multiplex
ELISA

Biomarqueurs prédictifs de la réponse aux modulateurs de CFTR



- Marqueurs précoces ou pronostiques?
- Standardisation nécessaire
- Connaître la variabilité
- Etudes pour déterminer leur caractère prédictif à long terme
- Tout particulièrement chez les sujets peu asymptomatiques (cohorte pédiatrique+++)

Biomarqueurs prédictifs de la réponse aux modulateurs de CFTR



Approche omique

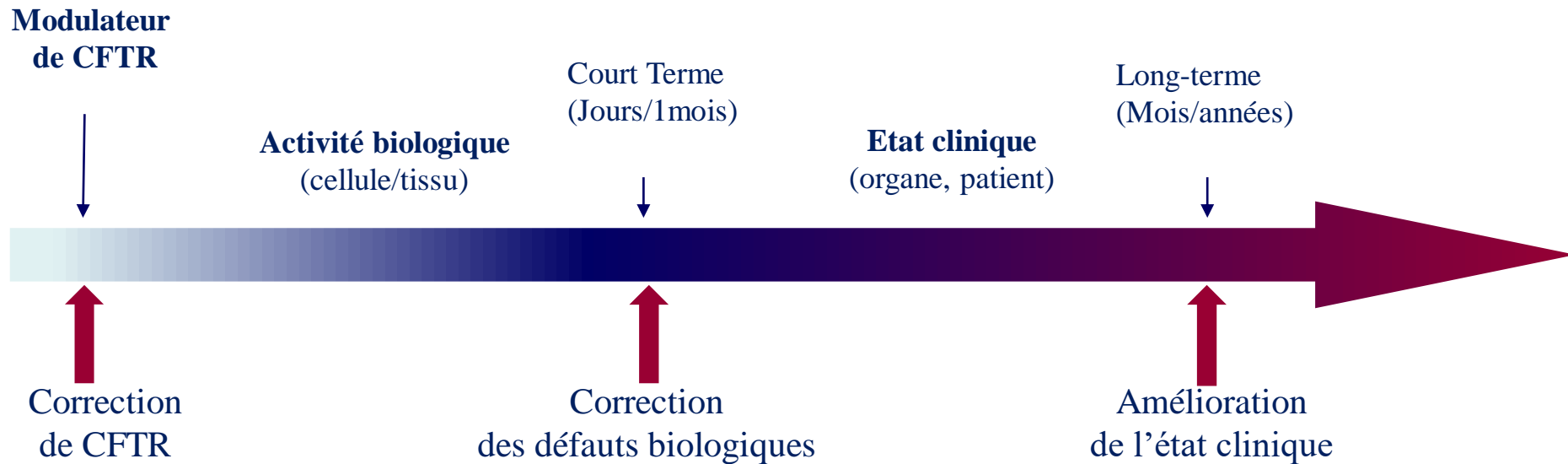
- Pharmacologie: dosage, CYP 450
- Sérum, urine, sueur, air exhalé, cellules
- Transcriptomique, protéomique, métabolomique, volatolomique,

Koh, et al, Am J Respir Cell Mol Biol 2020
Gauthier et al, Int J Molecular Sciences 2020

Biomarqueurs prédictifs de la réponse aux modulateurs de CFTR en 2021?

- De nombreux biomarqueurs ont démontré leur capacité à évaluer la bioactivité des médicaments : marqueurs de réponse précoce
- Variation du chlorure sudoral: variation importante et ultra précoce. Caractériser la cinétique de variation et la réponse ultérieure clinique
- Cultures primaires: très utiles pour envisager efficacité sur mutants rares, aide pour attribution compassionnelle, élargissement des indications. Corrélation à évolution clinique ultérieure?
- DDP: renseigne sur la bioactivité mais pas forcément corrélé à évolution ultérieure. Variabilité importante (inflammation locale)
- Biomarqueurs de l'infection (densité bactérienne des expectorations) : essais en phase précoce
- Microbiome (et réponse de l'hôte) : biomarqueurs novateurs exploratoires mais nécessite des études supplémentaires
- Biomarqueurs inflammatoires dans les expectorations et le sang corrélés avec la correction du CFTR à court terme; nécessité d'études à long terme
- Études spécifiques pour les nouveaux biomarqueurs par approche « omique »

Biomarqueurs prédictifs de la réponse aux modulateurs de CFTR



Suivi des cohortes de patients pour appréhender la valeur pronostique des biomarqueurs et orienter les stratégies thérapeutiques

Raccourcissement des essais cliniques

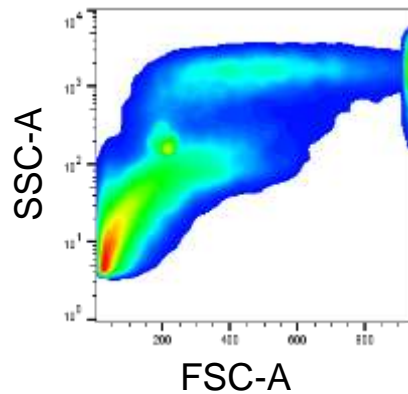
Orienter les options thérapeutiques

- Choix des modulateurs
- Co-thérapies
- Alléger le traitement de base

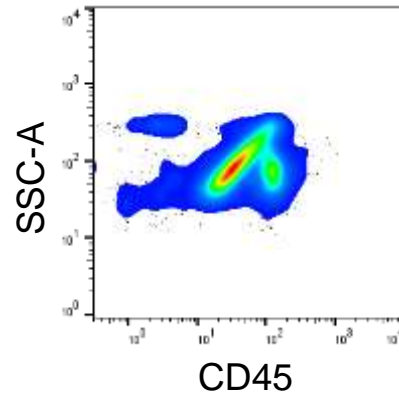
Biomarqueurs de l'inflammation

Analyse de l'activité des polynucléaires neutrophiles

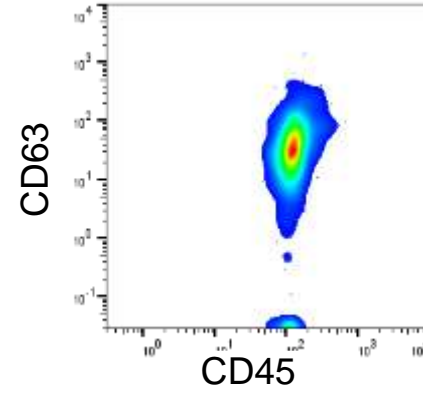
Prélèvement entier



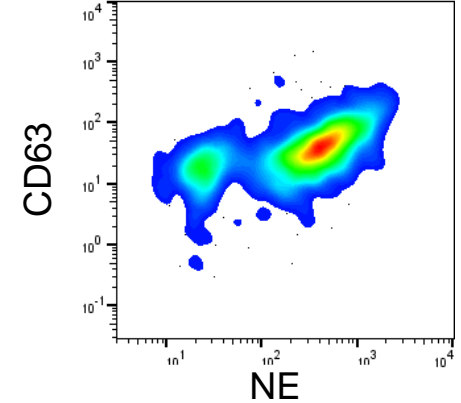
Cellules vivantes



PMN

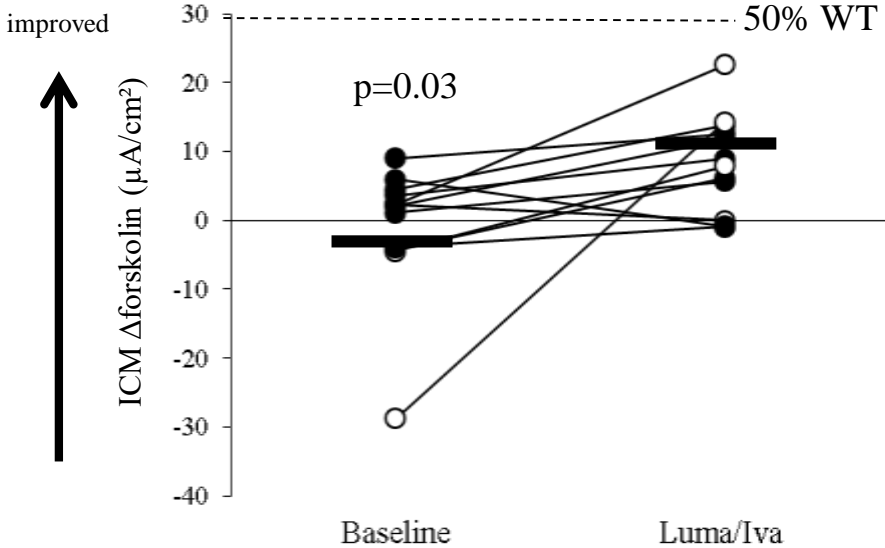


PMN - NE

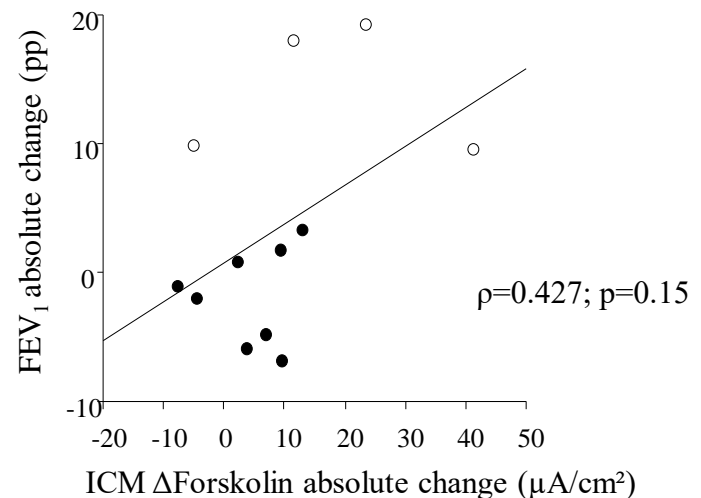


In vivo CFTR correction in the rectal mucosa is correlated with respiratory change at 6 months of Orkambi and *in vitro* correction in nasal cell cultures

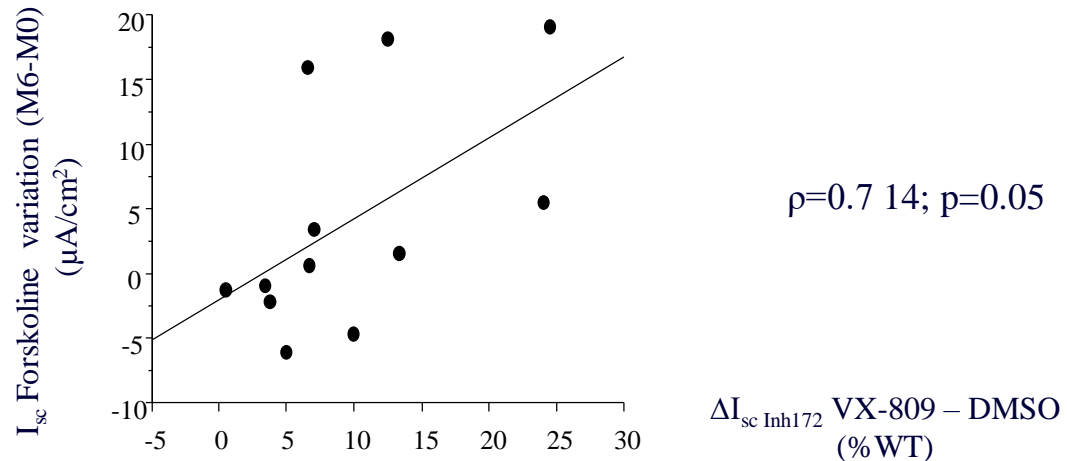
ICM(Δ forskoline) change at 6 months



ICM vs. FEV₁ change at 6 months



ICM change at 6 months is correlated to CFTR correction in nasal cells

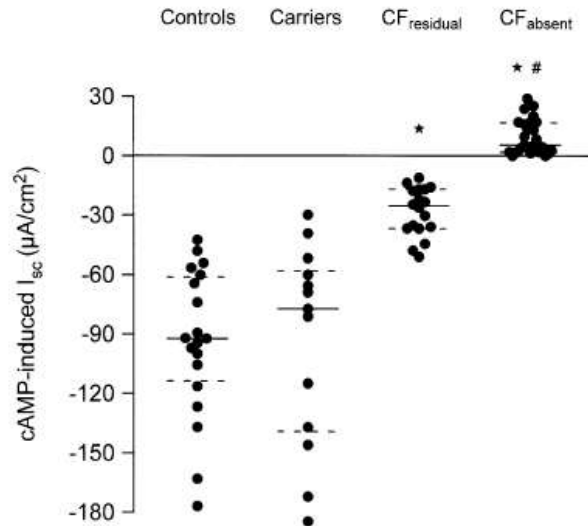


Masson et al. JCF 2019
Prabke et al, AJRCCM 2020

Cl⁻ transport change in the rectal mucosa is not correlated to FEV₁ at 2 mths/6 mths treatment of Luma/Iva



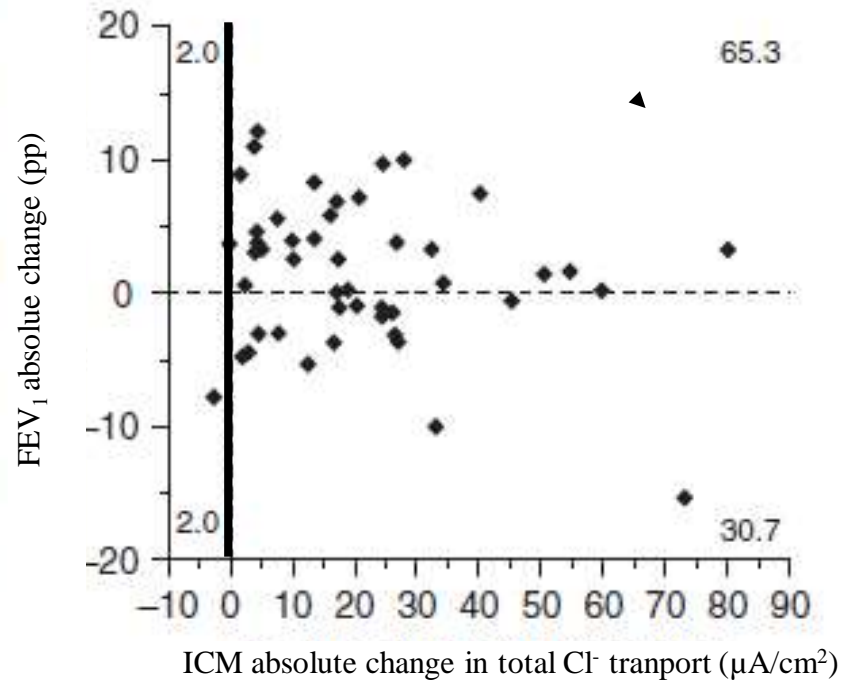
Intestinal Current Measurement Cl⁻ transport



Normal

Bronsveld et al, JCI 2001; Hirtz et al. Gastroenterol 2004
Derichs et al. Thorax 2010 Sousa et al. Plos One 2011

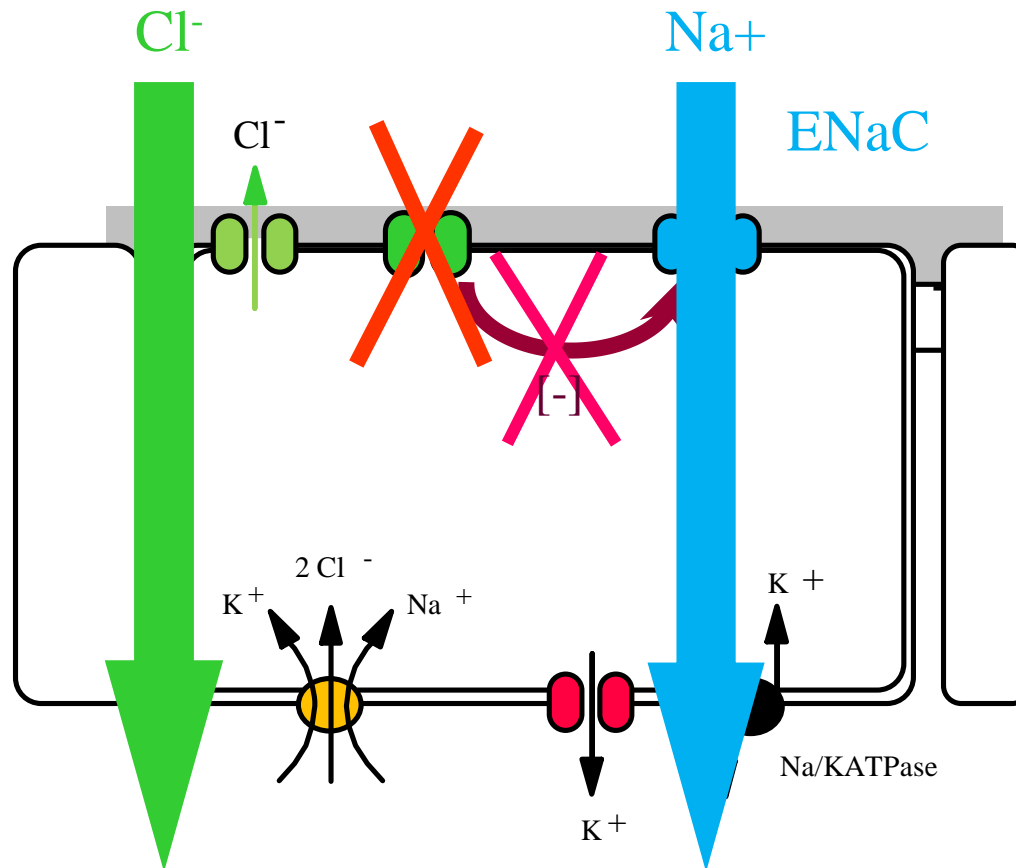
ICM vs FEV₁ change at 2 months



Improved

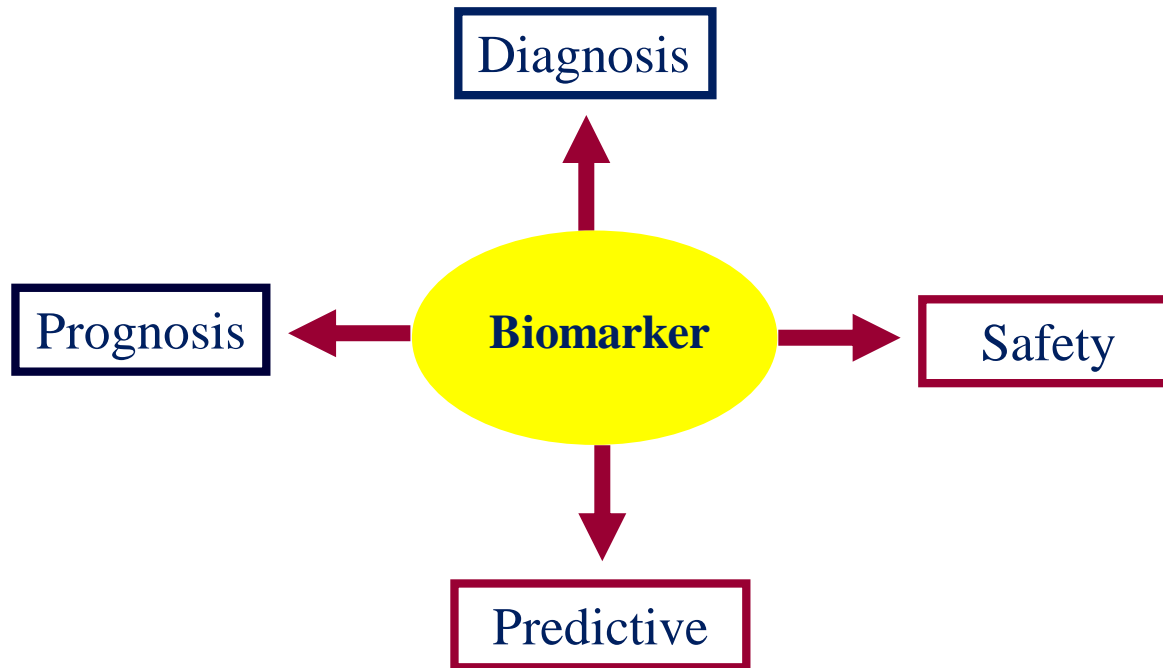
Graeber et al. AJRCCM 2018
Masson et al. JCF 2019
Pranke et al AJRCCM 2019

CFTR dysfunction/absence ENaC hyperactivation

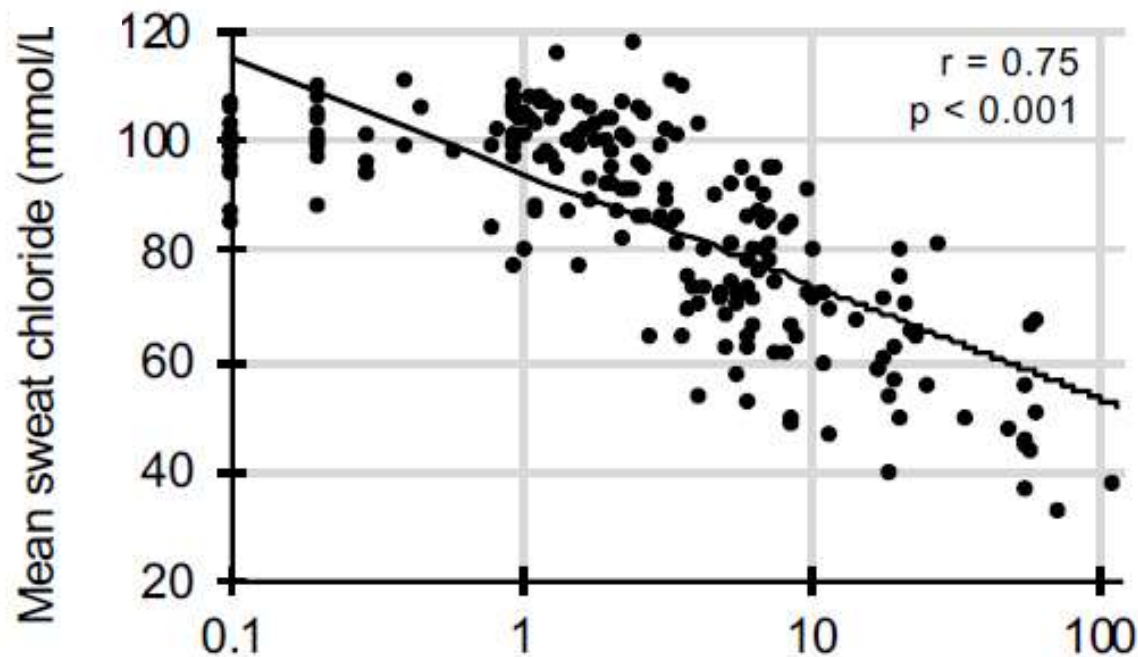


What is a biomarker?

« a characteristic that is objectively measured and evaluated as an indicator of normal biologic processes, pathogenic processes, or pharmacologic response to a therapeutic intervention »



Sweat Chloride is biologically relevant,
e.g., correlates with *in vitro* CFTR activity



CFTR Cl⁻ transport in cell lines with various genotype