



Fiche d'information destinée au public

Société : Transgene S.A.

Titre de l'expérimentation : « **Essais cliniques d'immunothérapie non spécifique par l'interleukine 2 exprimée à partir d'un adénovirus recombinant** »

Numéro de notification européen : **B/BE/03/B3**

La dissémination volontaire d'organismes génétiquement modifiés (OGM) est strictement réglementée au niveau européen par la directive 2001/18/EC du 12 mars 2001 qui remplace la directive 90/220/EEC et au niveau belge par un nouvel Arrêté Royal « réglementant la dissémination volontaire dans l'environnement ainsi que la mise sur le marché d'organismes génétiquement modifiés et de produit en contenant » remplaçant l'Arrêté Royal du 18 décembre 1998. Le processus de transposition est actuellement encore en cours.

Pour garantir l'utilisation sans risque des OGM, les clauses de l'Arrêté Royal susmentionné stipulent qu'il est interdit de mettre sur le marché des produits sans l'autorisation préalable du Ministre compétent. L'octroi d'une autorisation dépend d'une évaluation minutieuse de la biosécurité de la dissémination projetée réalisée par le Conseil de Biosécurité qui est composé de plusieurs Comités Scientifiques groupant des experts indépendants venant d'universités belges ou d'instituts gouvernementaux.

Afin d'obtenir l'autorisation nécessaire du ministre compétent, la société Transgene, dont le siège est basé à Strasbourg, France, a introduit un dossier de demande d'autorisation auprès de l'autorité compétente. Sur base de l'avis du Conseil de Biosécurité, le ministre compétent peut accorder l'autorisation à la société Transgene de réaliser les expérimentations avec le produit TG1024 (Adénovirus IL2) génétiquement modifié selon les procédures décrites dans la demande **B/BE/03/B3**.

La dissémination se fera dans de service d'Oncologie Médicale du Professeur Thierry VELU, à l'Hôpital Erasmes de Bruxelles. On prévoit que l'expérimentation débutera au premier trimestre 2004 et sera achevée en décembre 2004.

Table des matières

1	Informations générales.....	3
1.1	Description du micro-organisme génétiquement modifié (MGM).....	3
1.2	Type et but de l'essai envisagé	3
2	Activités de recherche et de développement.....	3
3	Bénéfices.....	5
4	Risques.....	5
5	Mesures de confinement, de contrôle et de monitoring.....	6
5.1	Contrôle de la dissémination du MGM ou du gène.....	6
5.2	Stabilité génétique du MGM	7
5.3	Destruction du matériel contenant le MGM.....	7
5.4	Exigences de formation.....	7
5.5	Situations d'urgences	7
5.6	Responsabilités du notifiant	8
5.7	Inspection par les autorités publiques	8
5.8	Rapport d'activités	8
6	Références.....	9
7	Glossaire	9
8	Contact.....	9
8.1	Notifiant	9
8.2	Personne de contact	9

1 INFORMATIONS GENERALES

1.1 Description du micro-organisme génétiquement modifié (MGM)

Le produit TG1024 dénommé Ad-IL2, est une suspension d'un virus génétiquement modifié du groupe adenovirus de type 5, contenant le gène de l'Interleukine 2 humaine.

L'adénovirus est un virus peu pathogène pour l'homme n'entraînant que des affections respiratoires bénignes {Takafuji, Gaydos, et al. 1979 #34660}. Il a été génétiquement modifié afin de lui enlever son pouvoir de réplication et donc sa faible pathogénicité et d'y introduire un gène qui permet au virus de faire produire la protéine Interleukine 2 (IL2), protéine naturellement exprimée chez l'homme, et ayant des propriétés immunostimulantes et anti-tumorales.

Le principe est d'injecter le produit TG1024 directement dans la tumeur des patients afin de lui permettre de produire localement la protéine IL2. La protéine IL2 pourra alors exercer son effet anti-tumoral en stimulant le système immunitaire au niveau local et à distance et cela en évitant des effets toxiques généralement observés avec la protéine IL2 administrée seule par voie intraveineuse ou sous cutanée conduisant souvent à l'arrêt du traitement.

1.2 Type et but de l'essai envisagé

L'étude codée TG1024.01 est un essai de phase I/II qui a pour objectif principal de déterminer la sécurité d'injections intra tumorales répétées du produit TG1024, et d'évaluer la dose maximale tolérée (DMT) chez des patients présentant un cancer à tumeur solide (mélanome inclus) à un stade avancé. A ce jour, cette première étape de l'étude a été évaluée en traitant à 5 doses croissantes 5 cohortes de trois patients soit un total de 15 patients.

Sur cette base, la DMT a donc été déterminée. Quatre cohortes additionnelles de trois patients chacune soit au total 12 patients, doivent permettre séquentiellement d'évaluer l'intensification des rythmes d'injections de TG1024 (cohortes 6 et 7 toutes les 2 semaines et cohortes 8 et 9, une injection par semaine), et éventuellement de combiner le produit TG1024 à un traitement de chimiothérapie, la Dacarbazine (DTIC) (cohortes 7 et 9, administration de DTIC toutes les 4 semaines).

Dès que le schéma de traitement le plus prometteur en terme de sécurité et d'efficacité sera établi sur la base des cohortes 1 à 9, 12 patients additionnels seront traités selon ce schéma thérapeutique, afin d'évaluer l'effet anti tumoral.

Cette étude permet également de déterminer les effets biologiques et les réponses immunologiques aux injections intra tumorales répétées de TG1024, ainsi qu'un possible effet à distance.

La seconde étape de l'étude s'adresse à des patients présentant un mélanome récemment diagnostiqué et n'ayant pas subi de traitement systémique préalable.

L'étude ayant déjà commencé en Suisse depuis plusieurs mois, les patients recrutés en Belgique seront inclus dans l'étude à partir de la cohorte 7.

2 ACTIVITES DE RECHERCHE ET DE DEVELOPPEMENT

Malgré des efforts intenses de recherche, le mauvais pronostic, à long terme des patients atteints de cancer métastatique, reste un besoin médical encore insatisfait. Ceci a conduit la recherche dans de nouvelles directions, en particulier l'immunothérapie et la thérapie génique.

Le but de l'immunothérapie, dans le traitement des cancers, est de stimuler le système immunitaire à reconnaître les différences entre cellules tumorales et cellules normales, afin de rejeter le cancer. Parmi les différents résultats observés, les plus remarquables ont été ceux

obtenus par des traitements à l'aide de cytokines spécifiques qui ont occasionnellement induits les plus longues réponses durables {Baniel, Grauss, et al. 1998 #2020}{Bubenik 1990 #4600}.

La cytokine Interleukine 2 est un activateur fort des fonctions cytotoxiques (cellules tueuses NK) et de la mémoire du système immunitaire (lymphocytes T). La protéine recombinante (synthétique) IL2 a été testée et son efficacité a été démontrée, sur des tumeurs de cancer du rein et des mélanomes avec un taux de réponse de 20 à 25% {Rosenberg, Aebersold, et al. 1990 #30640}. Les effets toxiques sévères associés à l'administration systémique de l'IL2 a fait de cette cytokine un candidat pour la thérapie génique. L'administration intra tumorale du gène exprimant l'IL2 limite les effets toxiques de la protéine dans le sang circulant, tout en maintenant une expression localement forte à l'intérieur de la tumeur.

La thérapie génique permet de délivrer un gène en un endroit spécifique et de permettre son expression locale. Pour cela, différents vecteurs ont été utilisés, parmi ceux-ci les adénovirus, dont le profil de sécurité est bien connu {Graham & Prevec 1992 #1970}{Schwartz, Togo, et al. 1974 #32380}.

Le laboratoire Transgene a développé son vecteur adénoviral à travers plusieurs générations de produit, testés au cours de plusieurs études de phase I, qui ont montré la bonne tolérance des produits et l'absence d'effets adverses significatifs {Tursz, LeCesne, et al. 1996 #35820}. Le produit TG1024 qui permet une meilleure expression d'IL2 que les vecteurs de précédentes générations offre une meilleure sécurité et de meilleures réponses anti-tumorales ont été observées sur des tumeurs en modèles animaux.

Les expérimentations chez l'animal ont permis de démontrer que l'administration du produit TG1024 dans les tumeurs entraînait un rejet tumoral dans 33% à 65% des cas avec une augmentation de la survie {Slos, De Meyer, et al. 2001 #33130}. De plus, l'association d'injections de TG1024 avec la radiothérapie a donné des résultats positifs dans un autre modèle animal présentant des tumeurs {Hillman, Slos, et al. 2003 #16130}. Il a été montré que des cellules immunitaires spécifiques des tumeurs traitées et toxiques pour ces tumeurs étaient augmentées par le traitement par TG1024 confirmant l'effet immunologique du traitement {Slos, De Meyer, et al. 2001 #33130}.

La toxicité du produit TG1024 a été étudiée chez l'animal, chez le rat et le chat. Chez le rat, TG1024 après administrations intraveineuse ou sous cutanée répétées n'a pas induit d'effets toxiques majeurs. Chez le chat, l'administration répétée sous cutanée de TG1024 a provoqué, à forte dose (équivalent à 3×10^{12} vp chez l'homme) la mort des animaux 5 à 10 jours après la première injection, attribuée à l'effet toxique de l'IL2. A la dose intermédiaire (équivalent à 3×10^{11} vp chez l'homme), la toxicité était moindre mais toujours présente avec la mort de 2 animaux sur 6. Les animaux traités à la faible dose (équivalent à 3×10^{10} vp chez l'homme) ont manifesté quelques signes comme de la fièvre légère mais le traitement a été globalement bien toléré. L'espèce chat présente certaines particularités physiologiques qui en fait une espèce sensible à l'administration de virus, ce qui pourrait expliquer les effets toxiques observés {Warner 1996 #37430}{Winkler 1988 #38560}.

Au vue de ces résultats, les essais chez l'homme ont débuté à une dose faible de 3×10^8 vp, soit 100 fois en dessous de la dose bien tolérée par les chats, avec une progression lente dans l'escalade des doses. Une étude de phase I a donc été initiée chez des patients atteints de mélanome métastatique ou d'un autre type de tumeur solide. L'objectif est de déterminer la sécurité d'injection intra tumorales répétées de TG1024 et de déterminer la Dose Maximale Tolérée (DMT). La dose maximale de TG1024 prévue dans cette étude est de 3×10^{11} vp. Elle est à peu près égale à la dose maximale administrée (10^9 pfu) lors des essais cliniques avec

les produits de générations précédentes qui avaient montré une bonne tolérance à ce type de produit.

La première partie de cette étude TG1024.01 a été menée en Suisse. A ce jour, vingt cinq patients ont été traités par TG1024. L'analyse montre que la tolérance du produit administré toutes les trois semaines jusqu'à la dose de 3×10^{11} vp est bonne. Le protocole de l'étude actuellement en cours, a été amendé pour l'étendre à une étude de phase I/II permettant d'intensifier le rythme des injections de TG1024 (toutes les 2 semaines, puis toutes les semaines) et d'évaluer la sécurité et l'efficacité de la combinaison avec une chimiothérapie standard (dacarbazine) chez les patients atteints de mélanome. Environ 25 patients additionnels devraient être traités dans cette deuxième partie de l'étude.

3 BENEFCES

Comme indiqué plus haut, malgré des efforts intensifs de la recherche, le mélanome métastatique reste une maladie de mauvais pronostic et nécessite de nouveaux traitements. Ceci a conduit la recherche dans de nouvelles directions, en particulier l'immunothérapie et la thérapie génique.

Le but de l'immunothérapie, dans le traitement des cancers, est de stimuler le système immunitaire à reconnaître les différences entre cellules tumorales et cellules normales, afin de rejeter le cancer. Parmi les différents résultats observés, les plus remarquables ont été ceux obtenus par des traitements à l'aide de cytokines spécifiques qui ont occasionnellement induits les plus longues réponses durables {Baniel, Grauss, et al. 1998 #2020} {Bubenik 1990 #4600}.

La cytokine Interleukine 2 est un activateur fort des fonctions cytotoxiques (cellules tueuses NK) et de la mémoire du système immunitaire (lymphocytes T). La protéine recombinante IL2 est commercialisée sous le nom de Proleukin[®] dans le traitement du cancer du rein (carcinome rénal) et dans le traitement du mélanome métastatique avec des taux de réponse de 20 à 25% {Rosenberg, Lotze, et al. 1989 #30660}. Cependant, l'IL2 par voie systémique (voie intraveineuse ou voie sous cutanée) induit des effets toxiques sévères conduisant à en faire un candidat pour la thérapie génique. Ainsi, l'administration dans la tumeur du gène exprimant l'IL2 par l'intermédiaire d'un adénovirus limite les effets toxiques de la protéine dans le sang circulant, tout en maintenant une expression localement forte à l'intérieur de la tumeur permettant d'exercer son effet anti-tumoral.

4 RISQUES

L'adénovirus sauvage provoque des infections respiratoires bénignes chez l'homme et les animaux {Takafuji, Gaydos, et al. 1979 #34660}. Ce virus génétiquement modifié a perdu son caractère pathogène, ainsi que sa capacité à se propager chez l'homme et les cellules animales, ce qui lui confère une grande sécurité par rapport au risque de dissémination. Il reste alors capable de faire produire à la cellule qu'il a infecté la protéine dont il porte le gène (interleukine 2) et d'induire une réponse immunitaire. L'adénovirus est localisé dans le noyau de la cellule infectée où il reste présent sous forme épisomale sans risque connu d'intégration dans le génome de la cellule infectée {Horwitz 1990 #2170}. Compte-tenu que l'adénovirus recombinant a perdu tout caractère répliatif, à la mort de la cellule, l'ADN viral est naturellement éliminé.

Les principaux effets secondaires connus liés à l'administration de vecteurs adénoviraux sont des symptômes de type grippal, une élévation des enzymes hépatiques, une baisse des plaquettes. La survenue de ces effets dépendent de la voie d'injection et de la dose administrée {Clayman, El-Naggar, et al. 1998 #6800} {Gahøry-Søgaard, Molinier-Frenkel, et

al. 1997 #12490}{Stewart, Lassam, et al. 1999 #34110}{Liebert 2002 #22310}{Stephenson 2001 #33950}.

Les principaux effets secondaires connus liés à l'administration systémique d'IL2 (Proleukin[®]) sont : hypotension, toxicité rénale et hépatique, difficulté respiratoire (dyspnée), fièvre, nausée, vomissements, perte de poids, érythème et rash cutanés, anémie. Tous ces effets sont réversibles à l'arrêt du traitement {Sleijfer, Janssen, et al. 1992 #33150}{Stein, Malkovska, et al. 1991 #34000}.

Jusqu'à ce jour, les principaux effets secondaires associés à l'administration intra-tumorale de TG1024 rapportés par les patients sont de la fatigue, un érythème et une douleur au site d'injection, de la fièvre, des frissons, nausée et vomissements, une perte d'appétit, des maux de tête et des vertiges. Fatigue, rougeur, inflammation et gêne au site d'injection ont également été rapportés avec les précédentes générations de ce type de vecteur.

5 MESURES DE CONFINEMENT, DE CONTROLE ET DE MONITORING

5.1 Contrôle de la dissémination du MGM ou du gène

Conditions de stockage et d'utilisation :

Le produit TG1024 est une préparation congelée et doit être conservée à une température égale ou inférieure à -70°C, dans un congélateur fermé à clef sous la responsabilité de l'investigateur et / ou du pharmacien. Les ampoules sont distribuées uniquement par autorisation écrite de l'investigateur principal aux membres de l'équipe spécialement désignés.

Préparation pour l'administration :

Le produit à l'étude sera dilué avec le tampon de formulation TG0004 de manière à obtenir la concentration appropriée. La suspension virale à injecter sera préparée sous une hotte à flux laminaire immédiatement avant administration. Un protocole de préparation contenant des instructions détaillées pour le mélange sera fourni par le laboratoire Transgene au pharmacien/investigateur de l'étude.

La suspension virale sera administrée par injection intra-tumorale dans la tumeur primaire ou secondaire, en utilisant une seringue de 1 ml.

Suivi des patients :

Des prélèvements sanguins sont effectués sur les patients avant puis 1 à 2h après les deux premières injections, et 24h après la première injection dans les cohortes des patients n° 1 à 7, afin de suivre la dissémination virale potentielle. La dissémination virale est analysée par test PCR (recherche de la présence de l'ADN viral) et éventuellement par culture (recherche de particules virales infectieuses).

Les données disponibles à ce jour montrent la présence d'ADN du virus dans le sang des patients, mesurée par des tests spécifiques (PCR), 1 à 2 heures après les injections mais rarement et faiblement 24 heures après l'injection de TG1024.

Pour les cohortes de patients n° 8 et 9, une cinétique complète de la dissémination virale est prévue chez les 3 patients de chaque cohorte en recherchant la présence de particules virales, sur des prélèvements de sang, d'urine, de fèces et de gorge, avant et durant quatre jours après les injections de TG1024 du jour 1 et du jour 15. Le suivi virologique ainsi que d'autres tests

biologiques ne seront pas réalisés chez les 18 patients suivants afin d'alléger le suivi des patients.

5.2 Stabilité génétique du MGM

Sur chaque lot de produit destiné à des essais cliniques, des contrôles sont effectués qui garantissent l'intégrité et la fonctionnalité du génome de l'adénovirus recombinant.

L'expression et la fonctionnalité de l'interleukine 2 est également contrôlée, sur chaque lot.

La production des particules d'adénovirus recombinant se fait sur des cellules spécifiques de laboratoire PERC6. Le génome de l'adénovirus recombinant a été spécifiquement conçu pour ne pas avoir de régions homologues avec le génome des cellules de production PERC6. Par conséquent, le risque de générer des virus réplicatifs est peu probable, ce paramètre étant aussi systématiquement contrôlé pour chaque lot de produit.

D'autre part, l'adénovirus recombinant a été délété dans son génome de régions indispensables à sa réplication (régions E1 et E3). Il ne peut pas répliquer dans l'environnement naturel et a donc besoin des cellules spécifiques de laboratoire. L'adénovirus recombinant ne se réplique pas chez l'homme et les autres mammifères, aucune instabilité génétique n'est attendue, après l'administration chez les patients.

Cependant, on ne peut pas exclure que l'adénovirus recombinant du produit TG1024 lors d'une coinfection d'une même cellule humaine avec un adénovirus sauvage puisse échanger son matériel génétique et réacquérir une capacité à répliquer. La probabilité de survenue d'un tel événement est extrêmement faible et n'impliquerait qu'un nombre limité de particules virales alors rapidement éliminés par le système immunitaire et qui par conséquent serait sans conséquences pour la santé.

5.3 Destruction du matériel contenant le MGM

Dans les services hospitaliers où seront traités les patients par le TG1024, une procédure détaillée pour la préparation du produit sera fournie au personnel impliqué dans la préparation du produit. Une fiche technique décrivant la procédure pour l'injection, les conditions d'élimination des déchets et la conduite à tenir au cas où le produit TG1024 serait répandu accidentellement seront placés dans la chambre. Tous les déchets liés à l'utilisation du produit devront être conservés dans un conteneur spécifique clos, qui sera décontaminé suivant les procédures standard de l'hôpital pour le matériel infectieux.

5.4 Exigences de formation

Lors de la visite d'initiation organisée par le notifiant (promoteur) de l'essai auprès du personnel médical, toutes les personnes impliquées dans l'essai clinique, médecin, infirmiers (ières), pharmacien seront informés en détail des objectifs et du déroulement de l'essai clinique ainsi que de la nature du produit à manipuler, des éventuels risques liés au produit, des procédures de manipulation à suivre et des mesures à prendre en cas de dispersion accidentelle du produit. Toutes ces recommandations sont également décrites dans un document de synthèse regroupant les informations sur le produit intitulé « Brochure Investigateur » et dans des fiches techniques remis au personnel impliqué dans l'essai.

5.5 Situations d'urgences

Tout au long du traitement, les patients recevant le produit TG1024 sont suivis par l'équipe médicale sur le plan biologique et clinique pour chaque injection de TG1024 qu'ils reçoivent

une fois par semaine. Un événement inattendu qui surviendrait pourra alors être détecté rapidement, pris en charge immédiatement et géré au cas par cas.

Concernant la manipulation du produit au sein de l'hôpital Erasme, des recommandations sont données par le notifiant dans les situations suivantes :

. En cas de dispersion accidentelle du produit (ampoules de produit cassées), toutes les surfaces contaminées doivent être traitées selon les procédures standards de désinfection de l'Hôpital.

. En cas de blessure par une aiguille contaminée, la blessure sera désinfectée immédiatement avec du peroxyde d'hydrogène et recouvert d'une gaze stérile. La personne consultera le médecin en charge de l'essai clinique pour recevoir les recommandations de surveillance et sera suivie pendant une période d'au moins 2 semaines.

. En cas de contamination de la peau, une désinfection locale avec du peroxyde d'hydrogène sera faite et la surface de la peau contaminée sera ensuite bien nettoyée à l'eau savonneuse.

. En cas de contamination de l'œil, il faudra bien rincer avec de l'eau. Un examen ophtalmologique sera alors pratiqué dans un court délai.

. En cas d'ingestion du produit, il est recommandé de ne pas faire vomir et de contacter immédiatement le médecin en charge de l'essai ou un autre médecin. La personne sera alors suivie pendant une période d'au moins 2 semaines.

5.6 Responsabilités du notifiant

L'autorisation que le Ministre compétent peut éventuellement donner au notifiant stipule que le notifiant est civilement responsable pour tous les dommages qui pourraient éventuellement être causés à la santé des humains ou des animaux ainsi qu'à l'environnement des suites de la dissémination.

5.7 Inspection par les autorités publiques

Des inspecteurs sont mandatés pour inspecter si lors des essais le notifiant se conforme aux conditions de l'autorisation et pour enquêter sur d'éventuels manquements. Dans le cas où des manquements ou des fraudes seraient identifiés, le notifiant s'expose à des sanctions.

5.8 Rapport d'activités

A la fin de l'essai clinique, un rapport d'activités rédigé par le notifiant sera remis à l'autorité compétente. Ce rapport d'activités comprendra au minimum les données suivantes :

- le site et la période de dissémination,
- la nature précise du MGM réellement disséminé,
- le(s) but(s) de l'essai,
- les mesures qui ont été prises pour prévenir toute dissémination involontaire de matériel transgénique,
- si applicables, les mesures qui ont été prises pour protéger le sujet (patient/animal) pendant l'administration du médicament à l'étude contenant le MGM,
- si applicables, les mesures qui ont été prises pour protéger les proches du patient traité,
- les mesures qui ont été prises pour protéger les travailleurs qui ont manipulé le matériel contenant le MGM,
- les méthodes utilisées pour la destruction du matériel inutilisé ou contaminé,
- les résultats de l'étude,
- un résumé des données relatives au monitoring de la dispersion du MGM par le patient/animal,

- un résumé des données relatives au monitoring de la présence du MGM ou d'ADN recombinant dans l'environnement.

6 REFERENCES

7 GLOSSAIRE

Ad	Adénovirus
Administration systémique	Administration par intraveineuse ou sous cutanée
DTIC	Dacarbazine
IL2	Interleukine 2
MGM	Micro-organisme Génétiquement Modifié
OGM	Organisme Génétiquement Modifié
Pfu	Plaque Forming Unit
Vp	Particule virale

vp et pfu sont des unités de mesure du nombre de virus

8 CONTACT

Si vous avez des commentaires concernant ce dossier public ou nos activités ou si vous souhaitez obtenir des informations supplémentaires, vous pouvez nous contacter à l'adresse donnée ci-dessous.

Vous pouvez également consulter le résumé de la notification (SNIF) sur le site Web du centre de Recherche de la Commission Européenne (<http://gmoinfo.jrc.it/>). Des commentaires peuvent être adressés à la Commission via ce site Web.

8.1 Notifiant

Nom de la société ou du centre de Recherche : **Transgene S.A.**
Adresse : **11 rue de Molsheim 67000 STRASBOURG**
Téléphone : **(33) (0)3 88 27 91 00**
Fax : **(33) (0)3 88 27 51 41**
e-mail : communication@transgene.fr
Site Web : www.transgene.fr

8.2 Personne de contact

Nom de la personne de contact : **Catherine MATHIS**
Adresse : **11 rue de Molsheim 67000 STRASBOURG**
Téléphone : **(33) (0)3 88 27 91 00**
Fax : **(33) (0)3 88 27 51 41**
e-mail : communication@transgene.fr