

UNIVERSITÉ DE NANTES

UFR SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES

ANNÉE 2022

N

THÈSE
pour le
DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE
par
Victor DEBRUN

Présentée et soutenue publiquement le 9 Décembre 2022

Les anticorps bispécifiques approuvés en oncologie : formats, applications et analyse réglementaire de leur demande d'autorisation de mise sur le marché européen

Président :

Marc-Antoine BAZIN, Pharmacien, Maître de Conférences, UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Nantes.

Membres du jury :

Mr Jean-Michel ROBERT, Pharmacien, Professeur des Universités, UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Nantes.

Mme Ana Maria BÜHLMANN, Docteur en sciences, HOFFMANN-LA ROCHE AG, Bâle.

Mr Alexandre SERVE, Pharmacien, HOFFMANN-LA ROCHE AG, Bâle.

Remerciements

Mes remerciements vont,

Aux membres du jury,

À Monsieur **Marc-Antoine BAZIN**, pour avoir accepté d'assurer la présidence de ma thèse,

À Monsieur **Jean-Michel ROBERT**, je vous remercie d'avoir encadré et dirigé cette thèse, pour vos conseils et votre disponibilité.

À Madame **Ana Maria BÜHLMANN**, pour m'avoir aidé dans la réalisation de ce travail et la participation à ce jury. Merci également pour tout le temps accordé et les conseils précieux délivrés depuis mes premiers jours à Roche.

À Monsieur **Alexandre SERVE**, pour avoir accepté de participer à ce jury et pour ta bienveillance lors de mon stage de fin d'étude.

À ma famille pour m'avoir soutenu durant ces longues années d'études,

À mes parents pour m'avoir donné le goût d'étudier et votre aide sans faille depuis toujours.

J'espère que cette thèse vous donnera l'occasion d'en savoir un peu plus sur mon travail que je ne vous décris pas dans les plus grands détails.

À mes amis,

À tous mes bigs rencontrés à la faculté de Pharmacie de Nantes, pour avoir été totalement ensemble pour le travail, les paris sportifs et les scieries pendant 6 ans. À Danny, merci pour tous tes précieux conseils pendant mes études.

À mes amis de Saint-Nazaire, merci d'avoir été là lorsqu'il le fallait. À certains d'entre vous, grâce à la soutenance de cette thèse, m'appeler Docteur ne sera plus incorrect. Cela dit, je précise encore une fois que je ne serai toujours pas médecin mais bien pharmacien.

À mes amis de golf, mes « fils », pour votre amitié depuis des années.

À mes amies Bâloises jamais à court de thé, pour le soutien mutuel dans l'écriture de nos thèses.

Remerciements	2
Liste des abréviations	5
Liste des figures	7
Liste des tableaux	7
Liste des annexes	8
Introduction	10
Partie 1 : Mode de production des anticorps bispécifiques	12
1.1. Introduction aux anticorps	12
1.2. Histoire du développement des bispécifiques et leurs plateformes de production	14
1.3. Les plateformes et les challenges	16
1.3.1. Anticorps bispécifiques IgG-like	17
1.3.1.1 La technique des quadromes/triomabs :	18
1.3.1.2. Knobs-Into-Holes	20
1.3.1.3. Plateforme CrossMab	22
1.3.1.4. Plateforme ART-Ig (Asymmetric Re-engineering Technology - Immunoglobulin)	24
1.3.1.5. Plateforme DuoBody	25
1.3.2. Anticorps bispécifiques basés sur des plateformes non-IgG-like	27
1.3.2.1. Plateforme BiTE®	27
1.3.3. Conclusion sur les plateformes :	28
1.4. Applications thérapeutiques des anticorps bispécifiques :	30
1.4.1. Oncologie	30
1.4.1.1. Les anticorps bispécifiques dans les hémopathies malignes	33
1.4.1.2. Les anticorps bispécifiques dans les tumeurs solides	34
1.4.2. Autres domaines d'applications (aires thérapeutiques et diagnostiques)	35
Partie 2 : Analyse des procédures de mise sur le marché des anticorps bispécifiques approuvés en oncologie	37
1. La réglementation européenne	38
1.1. La procédure centralisée	38
1.2. AMM conditionnelle	41
1.3. Médicaments orphelins	42
1.4. Variation de type II	43
2. Les anticorps bispécifiques approuvés :	44
2.1. REMOVAB® (catumaxomab) [21]	44
2.2. BLINCYTO® , blinatumomab [47] :	49
2.2.1. Demande initiale d'autorisation de mise sur le marché	49
2.2.2. Conversion de l'AMM conditionnelle (variation de type II) [62]	54
2.3. RYBREVANT® (amivantamab) [63]:	57

2.4. LUNSUMIO (mosunetuzumab) [65] :	62
3. Comparaison des procédures	67
3.1. Indications	67
3.2. Stratégies de demande de mise sur le marché	67
3.3. Évolution de la sécurité autour des anticorps bispécifiques	70
3.4. Évaluation par le CHMP	72
Conclusion :	74
Bibliographie :	75
Annexes	81

Liste des abréviations

ADCC	Antibody Dependent Cell-mediated Cytotoxicity
ADCP	Antibody Dependent Cell-mediated Phagocytosis
ADN	Acide désoxyribonucléique
ADNr	ADN recombinant
AMM	Autorisation de mise sur le marché
ARN	Acide ribonucléique
ART-IG	Asymmetric Re-engineering Technology - Immunoglobulin
ATMP	Advanced Therapy Medicinal Product
BiTE	Bispecific T-cell engager
BPL	Bonnes Pratiques de Laboratoire
C1q	Component 1q
CAR-T	Chimeric antigen receptor T
CDC	Complement Dependent cytotoxicity
CEA	Carcinoembryonic antigen
C _H	Constant heavy chain
CHM	Complexe majeur d'histocompatibilité
CHMP	Committee for Human Medicinal Products
C _L	Constant light chain
CMA	Conditional Marketing Authorization
COMP	Committee for Orphan Medicinal Products
CR	Complete remission
CRh	Complete remission with partial hematologic recovery
CRS	Cytokines release syndrome
EGFR	Epidermal growth factor receptor
EMA	European Medicine Agency
EPAR	European Public Assessment Report
EpCAM	Epithelial cell adhesion molecule
Fab	Fragment antigen-binding
Fc	Fragment constant
FcRn	Neonatal Fc receptor
FL	Follicular Lymphoma
GPC3	Glypican 3

GSCH	Greffe de cellules souches hématopoïétiques
HLE-BiTE	Half-life extended Bispecific T-cell engager
HSG	histamine-succinyl-glycine
ICH	International Council for Harmonization
IgG	Immunoglobuline G
IV	Intraveineux
LAL	Leucémie aiguë lymphoblastique
MET	Mesenchymal-epithelial transition
MRD	Minimal residual disease
NK	Natural Killers
OS	Overall survival
PASS	Post-approval Safety study
PD-1	Programmed cell death protein 1
PFS	Progression-free survival
PRAC	Pharmacovigilance Risk Assessment committee
PSMA	Prostate specific membrane antigen
RCP	Résumé des caractéristiques du produit
RMP	Risk Management Plan
RSI	Request for supplementary information
RWD	Real world data
SAG	Scientific advisory group
SAG-O	Scientific advisory group Oncology
scFv	simple chaine fragment variable
SO	Specific obligation
TAA	Tumor-associated antigen
TCR-CD3	T-cell co-receptor CD3
V _H	Variable heavy chain
V _L	Variable light chain

Liste des figures

Figure 1 : Structure de base d'une immunoglobuline G [10]	13
Figure 2 : Résumé des étapes clés du développement des anticorps bispécifiques approuvés.	14
Figure 3 : Les différentes combinaisons possibles résultantes de l'association de chaînes lourdes et légères différentes. [17]	16
Figure 4 : Schéma du catumaxomab interagissant avec ses cibles [18]	18
Figure 5 : Représentation schématique (A) et tridimensionnelle (B) du mosunetuzumab [27]	19
Figure 6 : Les différents formats générés par la plateforme ART-IG (A) [28] et les déchets associés à ceux-ci (B) [30]	21
Figure 7 : Représentation schématique (A) et tridimensionnelle (B) du glofitamab [30] [35]	22
Figure 8 : Représentations schématiques du principe de l'utilisation de charges électrostatiques selon le modèle ART-IG (A) et de la molécule d'emicizumab (B) [4] [38]	23
Figure 9 : Schéma représentation la formation de la molécule d'amivantamab en utilisant le principe de la plateforme DuoBody [43]	25
Figure 10 : Représentation schématique de la formation du blinatumomab (A) et de ses interactions avec ses cibles (B). [47] [48]	26
Figure 11 : Évolution du nombre d'anticorps bispécifiques développés au cours des années et leur distribution selon l'aire thérapeutique ciblée. [14]	30
Figure 12 : Évaluation standard (A) et accélérée d'un médicament par la procédure centralisée.	39
Figure 13 : Aperçu de la procédure d'évaluation d'une variation de type II par le CHMP.	41
Figure 14 : Design clinique de l'étude pivot IPREM-AC-01.	43
Figure 15 : Aperçu de l'évaluation de REMOVAB® avec les étapes clés de la procédure.	47
Figure 16 : Design clinique de l'étude pivot MT103-211.	48
Figure 17 : Aperçu de l'évaluation de la demande initiale d'AMM de BLINCYTO® avec les étapes clés de la procédure.	52
Figure 18 : Design clinique de l'étude pivot TOWER (00103311)	53
Figure 19 : Aperçu des étapes clé de la procédure de variation de type II de BLINCYTO®.	55
Figure 20 : Design de l'étude pivot CHRYSALIS.	56
Figure 21 : Aperçu de l'évaluation de RYBREVANT® avec les étapes clés de la procédure.	59
Figure 22 : Schéma du traitement par mosunetuzumab dans l'étude pivot GO29781.	61
Figure 23 : Aperçu de l'évaluation de LUNSUMIO® avec les étapes clés de la procédure.	64
Figure 24 : Nombre de jours entre le début de l'évaluation et l'opinion du CHMP	67

Liste des tableaux

Tableau 1 : Résumé des caractéristiques des principales plateformes utilisées pour la production des anticorps bispécifiques.	28
Tableau 2 : Les différents grade de CRS avec leurs symptômes associés. [54]	31
Tableau 3 : Résumé des molécules en développement dans le lymphome non-hodgkinien. [9]	32
Tableau 4 : Posologie retenue pour la demande d'AMM de LUNSUMIO en lymphome folliculaire.	62
Tableau 5 : Résumé des caractéristiques des études pivots pour chaque produit, ainsi que si celle-ci était accompagnée d'une revue systématique de la littérature ou d'étude basée sur des données en conditions de vie réelles.	66
Tableau 6 : Comparaison des principales caractéristiques de la procédure d'évaluation suivie par chaque anticorps bispécifique.	70
Tableau 7 : Présence ou non d'objections majeures selon les différents aspects du développement de chaque molécule	71

Liste des annexes

Annexe 1 : molécules dont les autorisations de mise sur le marché ont été basées sur une étude pivot à simple bras (période 2006-2021)	81
Annexe 2 : Molécules en oncologie ayant obtenu une AMM conditionnelle (2019-2022)	82

Introduction

En 2020, l'Organisation Mondiale de la Santé a estimé le nombre de morts dues au cancer à presque dix millions, le cancer du poumon étant le plus représenté [1], faisant donc partie des causes principales de décès dans le monde. Ainsi, un des enjeux majeurs de la médecine depuis presque un siècle est la recherche de nouvelles thérapies dans ce domaine. La thérapeutique en oncologie a été marquée par trois événements majeurs qui ont fait évoluer celle-ci durant le vingtième siècle : la découverte des rayons-X par W.K. Roentgen en 1895, l'utilisation de modèles tumoraux animaux transposables dans la recherche, et la première mastectomie réalisée par Halsted [2].

Pour ce qui est de la thérapie médicamenteuse, la première stratégie à avoir été développée est la chimiothérapie dès le début du vingtième siècle. Par l'appellation de cette méthode, il est communément admis qu'elle regroupe principalement des agents qui affectent la synthèse de macromolécules ou la fonction proliférative de certaines cellules en interférant avec l'acide DésoxyriboNucléique (ADN) ou l'acide ribonucléique (ARN) qui, une fois leur but atteint, conduit à l'apoptose cellulaire.

Après cette première ère de découvertes (médicaments, chirurgie et radiothérapie) qui a vu ses dernières se combiner pour en améliorer l'efficacité, une autre approche est apparue, grâce aux importantes avancées en termes de séquençage génétique et recherche biomédicale, celle de la médecine personnalisée. Celle-ci s'oppose à la chimiothérapie car, au lieu d'attaquer d'importants complexes protéiques ou d'inhiber de manière générale certaines fonctions cellulaires, elle va interagir avec des cibles thérapeutiques nouvellement identifiées. Cette nouvelle ère fut portée par le développement de nouvelles molécules : les anticorps monoclonaux [3]. Le potentiel de cette nouvelle classe thérapeutique fut découvert après que la technique des hybridomes autorisa leur développement dans les années 1970 et les premiers représentants, le rituximab et trastuzumab, (autorisés dans le traitement du lymphome et du cancer du sein respectivement) sont arrivés sur le marché dans les années 1990 [2] en révolutionnant la prise en charge du cancer. On estime que la combinaison des anticorps monoclonaux avec la chimiothérapie a significativement augmenté l'espérance de vie des patients ainsi que leur survie à cinq ans [4]. Leur principe est que les deux épitopes qui les composent vont cibler un unique antigène (dits monospécifiques) en le liant grâce

à un système de reconnaissance clé-serrure. Cette précision a notamment permis d'avoir un impact significatif sur les effets secondaires importants entraînés par la chimiothérapie peu sélective. Depuis, il y a approximativement une centaine de ces molécules qui ont été désignées comme médicaments, nombre qui ne cesse d'évoluer, ciblant de nombreux antigènes et utilisés dans divers domaines médicaux tels que les maladies auto-immunes ou l'oncologie.

Cependant, la complexité et l'hétérogénéité de chaque cancer limite l'utilisation d'anticorps monoclonaux spécifiques de tumeurs, ajoutée au fait que la plupart des patients traités avec ce type de thérapie ne peuvent généralement pas faire l'objet de retraitement à cause des résistances développées (obstacle principal), ont fait qu'il y avait un besoin urgent de trouver de nouveaux agents anticancéreux plus efficaces et plus efficaces. Dès lors, peu après la découverte de cette première génération d'anticorps, la recherche médicale s'est intéressée à la mise au point de molécules composées de deux chaînes d'immunoglobulines de différentes spécificités fusionnées en une seule molécule, ceci permettant l'anticorps de mettre en contact rapproché deux antigènes différents (exemple : deux protéines) : ce sont les anticorps bispécifiques. Cela fait maintenant plus de trois décennies que ces derniers sont étudiés afin de pallier aux limites des anticorps monospécifiques mentionnées au-dessus, cette fonctionnalité améliorée déclenchant potentiellement moins d'effets secondaires et nécessitant moins d'injections. De plus, du point de vue des entreprises biopharmaceutiques, cette avancée permet de réduire le nombre d'essais cliniques mais également de réduire les coûts de production en combinant deux molécules en une seule. Aujourd'hui plus d'une centaine de molécules sont en cours d'essais cliniques [3], avec une vaste majorité d'entre elles étant étudiées en oncologie. L'objectif de ce document est de décrire les différents formats des anticorps bispécifiques en oncologie, puis d'analyser les différentes évaluations réglementaires dont ont fait l'objet ceux étant approuvés pour ainsi voir comment ces molécules prometteuses ont été reçues par l'Agence Européenne du Médicament (EMA).

Partie 1 : Mode de production des anticorps bispécifiques

1.1. Introduction aux anticorps

Depuis maintenant plusieurs dizaines d'années, différents types de traitements de plus en plus ciblés et efficaces ont été mis en place pour stimuler le système immunitaire des patients pour combattre le cancer, ceci incluant les immunothérapies, les inhibiteurs de points de contrôle, les vaccins, les anticorps monoclonaux et autres. Le but de ces thérapies ciblées étant de nuire spécifiquement aux cellules tumorales et leur microenvironnement tout en épargnant les cellules et tissus sains, permettant ainsi de diminuer les effets indésirables pour les patients. Depuis l'autorisation de mise sur le marché européen en 1998 du premier anticorps monoclonal [5], le rituximab (MABTHERA®, Roche) traitant le lymphome non-hodgkinien, les anticorps monoclonaux sont devenus les plus utilisés et sont devenus l'immunothérapie de référence en pratique clinique pour traiter les tumeurs cancéreuses. Leur principe est de se lier à des cibles retrouvées uniquement sur des cellules cancéreuses et d'entraîner leur inactivité par blocage ou bien leur lyse par activation du système immunitaire du patient.

L'Agence Européenne du Médicament, dans sa guideline sur le développement, la production, la caractérisation et spécification des anticorps monoclonaux et produits relatifs [6] (EMA/CHMP/BWP/532517/2008) datée de Juillet 2016, donne la définition suivante :

- *Les anticorps monoclonaux sont des immunoglobulines (Ig) avec une spécificité définie, dérivés d'une lignée cellulaire monoclonale. Leur activité biologique est caractérisée par une liaison spécifique à un ligand (communément appelé antigène), et repose sur une fonction immunitaire telle que la cytotoxicité cellulaire anticorps-dépendante (ADCC) et la cytotoxicité complément-dépendante (CDC). Les anticorps monoclonaux peuvent être générés par la technologie de l'ADN recombinant (ADNr), la technique des hybridomes, par immortalisation de lymphocytes B ou autres technologies.*

Chez l'Homme, les immunoglobulines G (IgG) sont les anticorps les plus communs que l'on trouve dans le sérum humain. Elles peuvent être divisées en quatre catégories allant de IgG1 à IgG4 [7], ces sous-classes étant différentes dans leurs régions constantes, notamment au niveau

chaînes gamma et des ponts disulfures, mais sont toutes similaires au niveau de la structure. Les immunoglobulines G sont des glycoprotéines dont le poids total est d'environ 150 kDA dont la structure de base, stabilisée par des ponts disulfures donnant une forme de Y (figure 1), est constituée de plusieurs entités :

- Deux chaînes peptidiques légères, contenant chacune un domaine variable (V_L) et un domaine constant (C_L), qui peuvent être de type kappa ou lambda,
- Deux chaînes lourdes, chacune contenant généralement trois domaines constants (C_H) et un domaine variable (V_H), de sous-type gamma pour les IgG. Une chaîne polysaccharidique peut également se greffer sur la partie constante de chacune des chaînes lourdes.

Ces chaînes polypeptidiques sont symétriques et forment plusieurs groupes distincts :

- De deux sites de liaison à l'antigène (fragment antigen-specific binding : Fab), constitués par les domaines variables des chaînes lourdes et légères (vH et vL), qui peuvent lier des antigènes naturels et artificiels avec une haute affinité et spécificité,
- Et une région Fc (fragment cristallisable). Cette dernière va se lier à des récepteurs ou des protéines du système immunitaire comme les récepteurs $Fc\gamma$ ($Fc\gamma R_s$) ou le complexe protéique C1q qui induiront différentes fonctions effectrices (réactions pro-inflammatoires). Cette région peut aussi être reconnue par un récepteur appelé le récepteur néonatal ($FcRn$) qui est présent sur l'endothélium vasculaire et appartient à la famille des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de type I notamment impliqué dans la régulation de la demi-vie des IgG [8]. Son rôle est de capturer les IgG circulantes qui seront recyclées dans les endosomes avant de retourner dans la circulation, garantissant ainsi le maintien d'une concentration élevée de celles-ci dans la circulation pour leur distribution dans les différents tissus. Ce récepteur peut aussi faire fonction de présentation d'antigène notamment aux macrophages ou cellules dendritiques [9].

Ceci explique pourquoi l'ensemble de la structure de l'immunoglobuline G est intéressante à modifier car, au-delà du site de liaison à l'antigène qui est spécifique, un seul changement dans la séquence d'acide-aminée ou sur la chaîne oligosaccharidique du domaine Fc peut avoir un impact

majeur sur les caractéristiques de l'immunoglobuline comme sa stabilité, son affinité de liaison ou sa demi-vie.

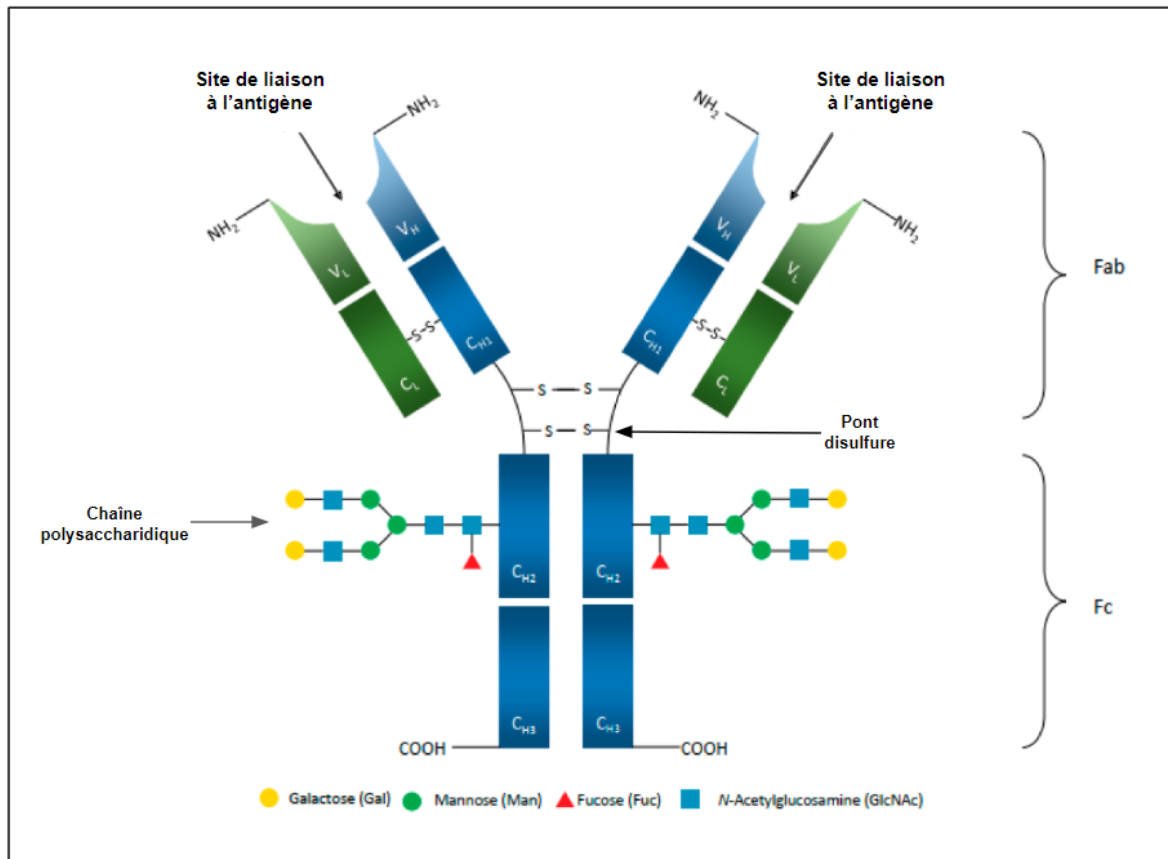


Figure 1 : Structure de base d'une immunoglobuline G [10]

1.2. Histoire du développement des bispécifiques et leurs plateformes de production

Malgré l'efficacité des IgG naturelles et des anticorps monoclonaux monospécifiques, leur limitation vient du fait qu'ils ne peuvent pas cibler simultanément les lymphocytes T cytotoxiques et les cellules tumorales, les anticorps ayant besoin d'être modifiés pour acquérir une telle fonctionnalité. La seule exception naturelle vient des IgG4 qui à cause de leur région charnière instable, sous certaines conditions spécifiques d'oxydo-réduction, sont capables d'échanger *in vivo* de région Fab, donnant naissance à une molécule bivalente (propriété découverte en 1999 [11]). Cependant, les anticorps avec deux spécificités prédéfinies différentes ne sont pas retrouvés dans la nature (uniquement artificiels) [12].

C'est ainsi que peu après le développement des premiers anticorps monoclonaux, l'idée d'améliorer leur efficacité en fabricant une molécule d'anticorps possédant deux sites de liaison à l'antigène spécifiques différents et donc étant capable de lier deux antigènes différents, autrement appelé anticorps bispécifique, a germé. Le premier fut décrit par Nisonoff et ses collègues il y a plus de 50 ans [13], qui ont réussi à coupler deux sites de liaison à l'antigène différents (issus du lapin) par un procédé d'oxydation légère. Depuis, ces anticorps bispécifiques se sont présentés comme une véritable alternative en immunothérapie car ils fournissent une réponse immunitaire plus robuste et plus précise que les anticorps naturels peuvent fournir.

Cependant, leur manufacture est complexe : la principale contrainte rencontrée lors du développement des anticorps bispécifiques vient du fait que les deux types de chaînes (figure 1), lourdes et légères, lorsqu'elles ne sont pas mélangées comme souhaité, donnent lieu à une variété de produits non désirés (seize combinaisons possibles). D'autres problèmes comme l'immunogénicité, une instabilité trop importante, ou de faibles rendements de production ont également été rencontrés et ont poussé les chercheurs à mettre en place différentes stratégies pour accomplir la synthèse voulue. Grâce aux nouveaux concepts et aux avancées techniques significatives réalisées au cours des précédentes décennies (figure 2) plus d'une centaine de formats d'anticorps bispécifiques sont désormais connus [14]. Les principales plateformes à l'origine des anticorps bispécifiques approuvés (ou en cours d'évaluation par l'EMA) sont présentées dans la section suivante.

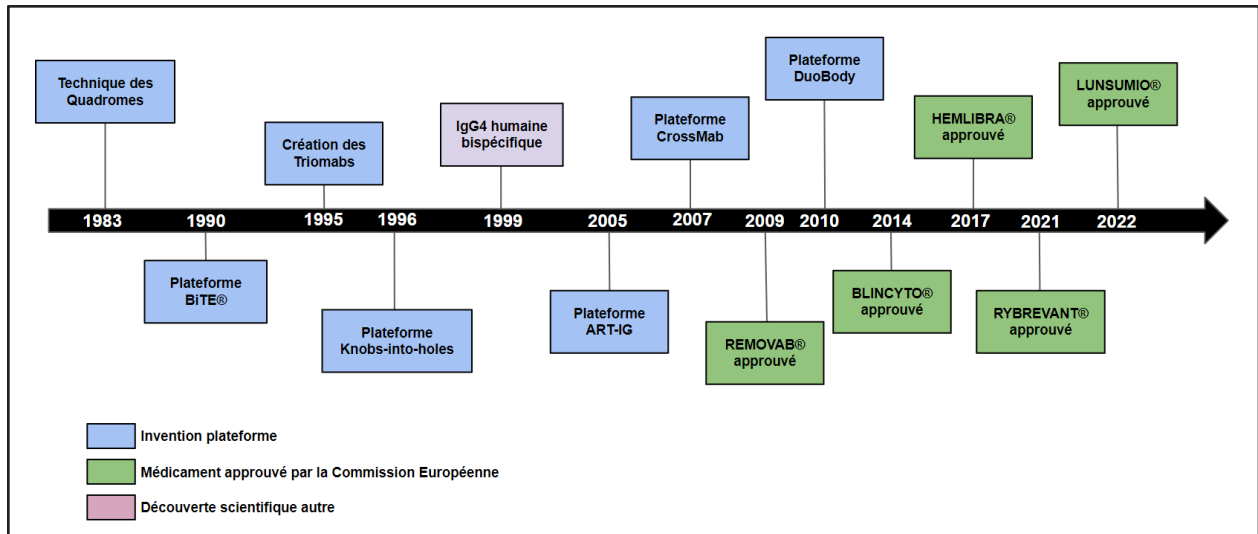


Figure 2 : Résumé des étapes clés du développement des anticorps bispécifiques approuvés.

1.3. Les plateformes et les challenges

Pour s'affranchir des limitations chimiques et pharmacologiques mentionnées au-dessus, de nombreuses approches ont été testées, comme la technologie des quadromes (une des premières mises en place), celle des knobs-into-holes (traduction : « nœuds dans la cavité ») ou encore la technologie CrossMab [9]. Le but de cette section va être de présenter de manière non exhaustive les principales plateformes moléculaires de développement de ces structures, avec une attention particulière pour celles ayant servi pour les molécules ayant été approuvées et celles à un stade avancé d'évaluation par l'EMA.

Pour les présenter, la classification qui sera utilisée fait partie des plus communément admises pour discriminer les anticorps bispécifiques, ici en deux catégories, à savoir celle contenant ceux basés sur la structure d'une immunoglobuline G (IgG-like), et l'autre contenant ceux qui ne sont pas basés sur cette même structure (non-IgG-like).

Chacun ayant leurs spécificités:

- Anticorps bispécifiques IgG-like : leur masse moléculaire importante fait qu'ils sont plus facile à purifier, ils ont une meilleure solubilité et stabilité, une demi-vie et une affinité plus grande entraînant de fait une activité biologique plus importante. Cette activité vient de leur région Fc qu'ils ont conservé et qui va entraîner l'activation de fonctions effectrices

comme vu précédemment (telles ADCC et CDC) ou bien encore une phagocytose dépendante des anticorps (ADCP : antibody-dependent phagocytosis)

- Anticorps bispécifiques non-IgG-like : leurs effets thérapeutiques viennent de la mise en contact des deux antigènes uniquement car ils n'ont pas de régions Fc. Leur production est plus simple à produire et sont moins source d'immunogénicité [15], mais bien que leur masse moléculaire plus faible leur permettent d'avoir une plus grande pénétration dans les tissus tumoraux, leur demi-vie est relativement plus courte et nécessitent donc plusieurs doses [16].

1.3.1. Anticorps bispécifiques IgG-like

La génération d'anticorps bispécifiques IgG-like est difficile car leurs sites de liaison à l'antigène sont l'assemblage des domaines variables d'une chaîne lourde et d'une chaîne légère qui sont issues de deux chaînes lourdes et deux chaînes légères différentes entre elles, donnant lieu à une formation asymétrique (à cause des deux régions Fab générées). En pratique, lorsqu'elles sont mises en contact, ce mélange de paires peut donner en tout seize combinaisons. Cependant six tétramères sont identiques et quatre sont uniques (6,25% de probabilité) pour un total de dix molécules différentes (figure 3). L'anticorps bispécifique, la molécule désirée, a donc 12.5% de probabilité d'être formé. Les autres paires qui ont été formées sont soit non-fonctionnelles ou bien des entités monospécifiques. Afin d'orienter et de maximiser l'assemblage de sites de liaison voulus, de nombreuses techniques ont été développées dans les trois dernières décennies.

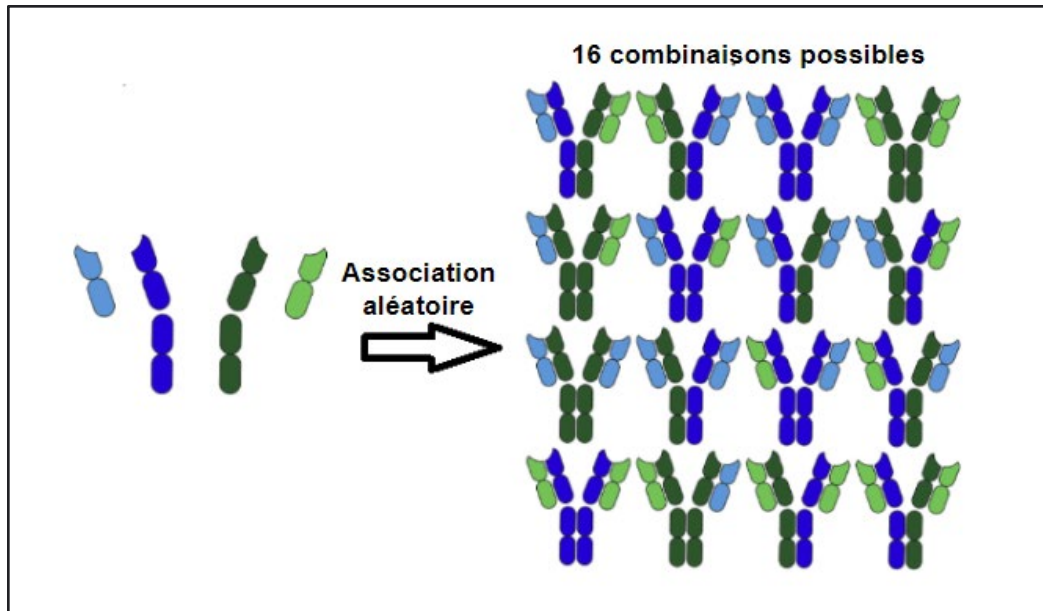


Figure 3 : Les différentes combinaisons possibles résultantes de l'association de chaînes lourdes et légères différentes. [17]

1.3.1.1 La technique des quadromes/triomabs :

Il s'agit de la technique la plus ancienne de celles présentées ici car la technologie des hybridomes fut inventée en 1983 par Milstein et Cuello. [18]. Cette technologie des quadromes consiste en la fusion de deux hybridomes distincts, l'association aléatoire des chaînes légères et lourdes d'immunoglobuline donnant naissance à des anticorps bispécifiques. À partir de cette technologie, Lindhofer et Al [19] ont publié en 1995 un article décrivant une amélioration majeure de celle-ci : les triomabs sont nés. Ce succès aussi impressionnant qu'inattendu repose sur la fusion originale d'une combinaison de sous-classe d'IgG issues d'espèces différentes : une IgG2a de souris et une IgG2b de rat [10]. En réalisant cette technique, ils ont constaté que les chaînes lourdes et légères de même espèce s'associaient de manière préférentielle, contrairement à ce qui pouvait se voir lors de la production de quadromes rat/rat ou souris/souris, ce qui a eu un impact majeur sur le taux d'anticorps bispécifiques fonctionnels. Cet anticorps bispécifique hybride présente l'intérêt d'une purification (séparation des anticorps monoclonaux dont il est issu) facile en utilisant une élution par gradient de pH sur colonne de protéine A [20]. De plus, contrairement aux anticorps bispécifiques produits jusque-là en utilisant un fragment Fc humain, la région Fc hybride

(souris/rat) qui était créée interagissait avec des récepteurs humains Fc activateurs comme FcγRI et FcγRIII mais pas les inhibiteurs (FcγRIIB). Cette dernière caractéristique leur a valu l'appellation de triomabs car trispécifiques : les deux régions de fixation à l'antigène et la région Fc. Un aspect négatif de cette technique est l'immunogénicité résultante de l'origine des deux composantes de l'anticorps bispécifique : des anticorps humains anti-souris et anti-rat ont été retrouvés chez certains patients [21].

Ainsi, c'est en utilisant cette technique, que le catumaxomab (REMOVAB®, Fresenius Biotech), premier anticorps bispécifique recommandé en 2009 par l'EMA indiqué dans les ascites malignes chez les patientes atteintes d'un cancer ovarien, fût produit. Les régions variables de la molécule ciblent spécifiquement l'antigène EpCAM (epithelial cell adhesion molecule) surexprimés sur les cellules tumorales, et l'antigène CD3 exprimé sur les lymphocytes T. Les chercheurs ont montré que cet anticorps bispécifique anti CD3/anti-EpCAM pouvait donc induire la lyse des cellules tumorales en les mettant en contact avec les lymphocytes T, mais qu'il était également capable d'induire la mort des cellules tumorales grâce à sa région Fc. En effet, la région Fc reconnaît préférentiellement les récepteurs Fcγ de type I (CD64), IIα (CD32a) et III (CD16) présents sur les macrophages, les cellules dendritiques et les cellules NK [22]. Cependant, la dose maximale tolérée (DMT) est relativement basse à cause de cette activation généralisée des lymphocytes T, notamment en injection intraveineuse.

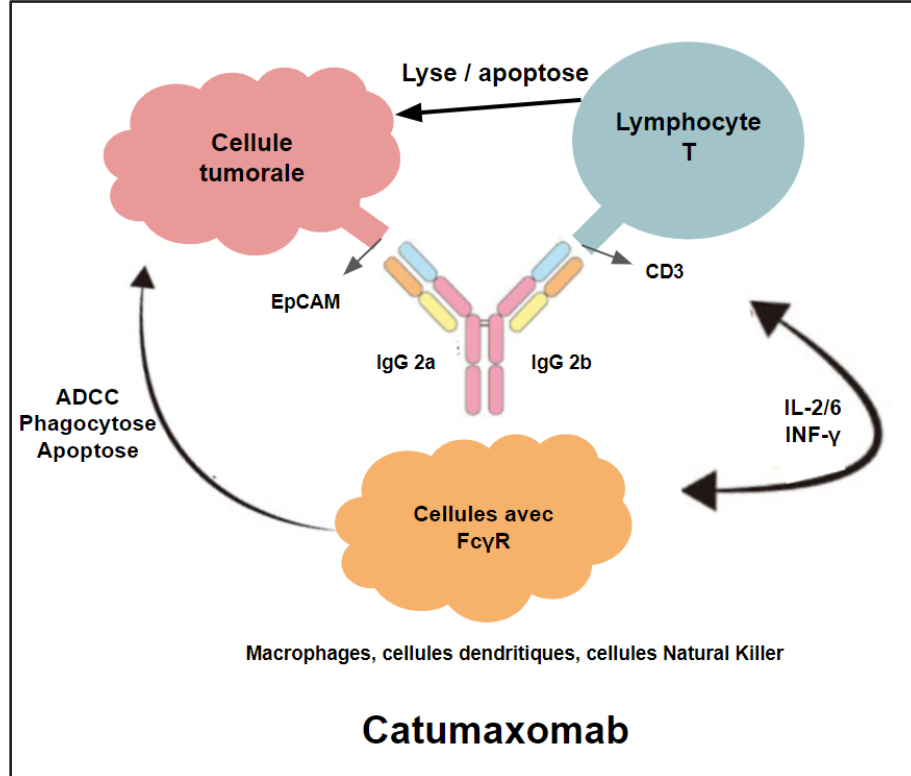


Figure 4 : Schéma du catumaxomab interagissant avec ses cibles [18]

1.3.1.2. Knobs-Into-Holes

La technique du “knobs-into-hole” (traduction : « nœuds dans le trou »)[18] est un procédé inventé en 1996 par Paul Carter et Al à Genentech, une entreprise américaine, pour améliorer le rendement de production des anticorps bispécifiques. Le principe est de remplacer un petit acide aminé par un autre plus large sur une chaîne lourde de la région Fc d’un homodimère pour former un “nœud” (knob) et dans le même temps, substituer un grand acide aminé par un autre plus petit dans la chaîne lourde du fragment Fc d’un autre homodimère pour former un “trou” dans lequel l’autre substitut viendra s’insérer pour former préférentiellement un hétérodimère. Après de nombreux tests [23], il s’est révélé que la combinaison donnant le rendement de paires voulues le plus élevé était celle utilisant une mutation T366Y sur une chaîne et Y407T sur l’autre (92% de pureté contre 57% avec des chaînes natives). Les années qui ont suivi la mise au point de cette

technique ont principalement consisté à améliorer les techniques de purification autour des produits issus de cette approche pour faciliter le développement à grande échelle [24]. Cependant, la stabilité de la structure de l'anticorps bispécifique résultant est réduite à cause de cette modification. Plus tard, une évolution de cette technique est apparue plus tard afin de la rendre plus stable : d'une part deux mutations (S354C et T366W) pour former le "nœud" et quatre mutations (Y349C, T366S, L368A, and Y407V) pour former le "trou" au lieu d'une seule sont introduites, d'autre part un pont disulfure est ajouté entre les chaînes lourdes [25]. Bien que cette technologie permette un assemblage correct de chaînes lourdes, cela n'empêche pas les mauvaises combinaisons avec les chaînes légères, c'est pour cela qu'elle est souvent combinée avec d'autres technologies (voir ci-dessous).

L'anticorps bispécifique mosunetuzumab (LUNSUMIO®, Roche), approuvé par la Commission européenne en juin 2022 [25] contre le lymphome folliculaire, est fabriqué en utilisant cette technique. Il s'agit d'un anticorps humanisé basé sur la structure d'une IgG1 dont une région Fab est dirigée contre les antigènes CD20 (présents sur les lymphocytes T) et l'autre contre les antigènes CD3 (présent sur les cellules tumorales), et dont le fragment cristallisable a été modifié pour le rendre inactif [26] (figure 5).

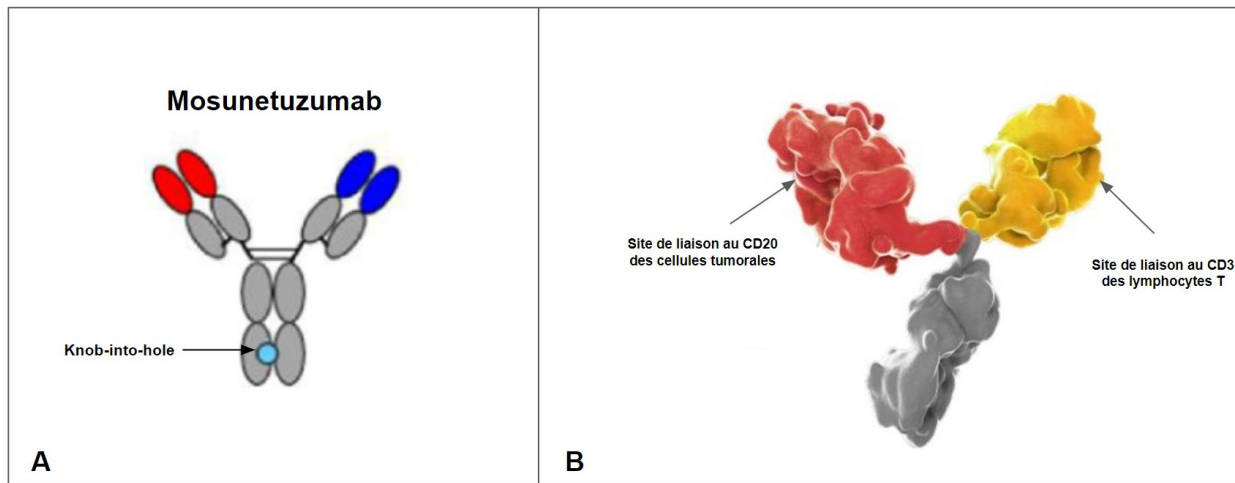


Figure 5 : Représentation schématique (A) et tridimensionnelle (B) du mosunetuzumab [27]

1.3.1.3. Plateforme CrossMab

Bien que la technique des “knobs-into-holes” fut développée dans les années 1990 et permettent une association correcte des chaînes lourdes entre elles, l’association contrôlée des chaînes légères restait elle un des enjeux majeurs, et avant que la technologie alternative CrossMab ne soit inventée en 2007 [4] par Roche, une entreprise suisse, ce problème était seulement contré en associant des chaînes légères commune (de même spécificité). La principale limite de cette parade était que cela limitait considérablement la diversité des anticorps pouvant être générés. Ainsi, la technologie CrossMab, combinée à d’autres méthodes permettant l’association contrôlée des chaînes lourdes comme la technique “knobs-into-holes” (principalement), permet donc l’association contrôlée de différentes chaînes légères pour former l’anticorps bispécifique souhaité, sans avoir besoin de respecter ce principe de chaînes légères communes [28].

Plusieurs formats (figure 6A) peuvent être générés par cette technique mais pour tous le principe est qu’un bras de l’anticorps bispécifique voulu est laissé intact :

- CrossMab^{Fab} :
 - Ce format comprend l’échange totale d’une chaîne lourde avec une chaîne légère dans la région Fab (la chaîne lourde devient donc la nouvelle chaîne légère, et vice versa). En les fusionnant à la région charnière du fragment Fc, on obtient le format voulu. Cependant dans ce format, deux déchets sont générés (figure 6B): un dimère de chaînes lourdes non fonctionnel et un fragment Fab. Malgré cela, la génération du format voulu peut être favorisée par une surexpression significative des chaînes légères cibles pour que les déchets produits soient en quantité non significative.

Au lieu d’avoir un échange complet de chaînes au niveau du site de liaison à l’antigène, on peut simplement avoir un échange partiel :

- CrossMab^{CH1-CL} :
 - Qui est un échange de parties constantes uniquement (CH1-CL). Dans ce format, il n’y a pas de déchet produit. Il a été montré que cette méthode est la plus efficace et est celle la plus utilisée
- ou CrossMab^{VH-VL} :

- Qui est un échange de parties variables uniquement (VH-VL). De même que pour le format CrossMab^{Fab} un déchet est produit : un anticorps monoclonal dit de Bence-Jones (figure 6B). Pour éviter cette formation, des paires naturellement chargées ont été identifiées dans la section Fab dans laquelle l'échange n'est pas voulu, puis ont été ensuite modifiées de telle sorte que leur interchangeabilité soit impossible [29] (charges opposées).

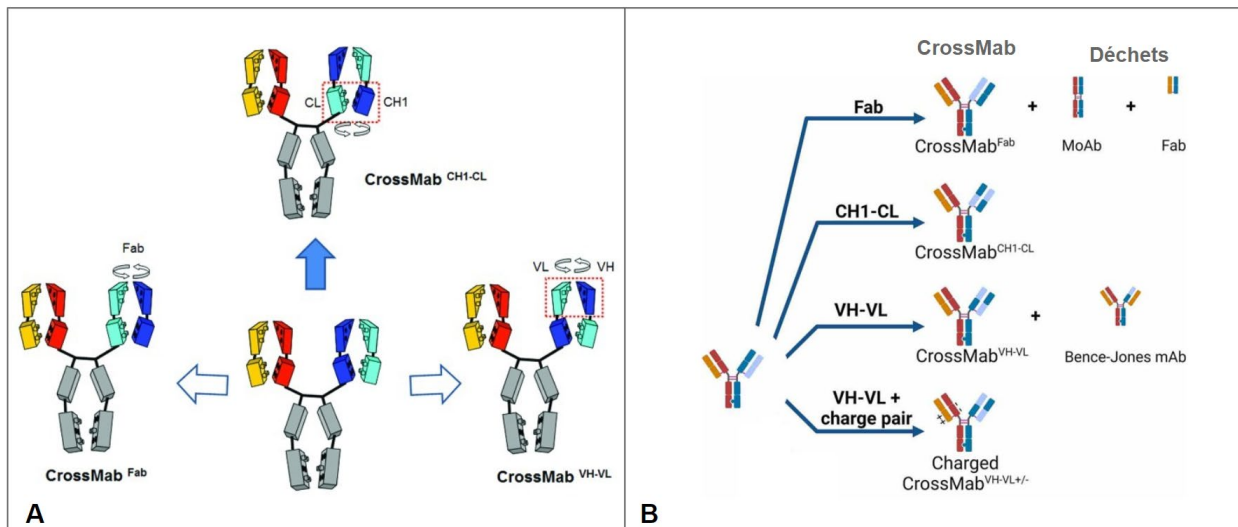


Figure 6 : Les différents formats générés par la plateforme ART-IG (A) [28] et les déchets associés à ceux-ci (B) [30]

Cependant, il faut savoir que des déchets indésirables peuvent être produits indépendamment de cette technique comme des parties manquantes d'anticorps sur les chaînes légères ou encore des homodimères hole-hole/knob-knob (lorsque combinée avec cette technique). Comme cette approche présente de nombreux avantages en termes de production (consistante et avec des rendements de l'ordre du gramme par litre), de stabilité ou encore de développement par rapport aux autres techniques, elle a également été utilisée pour d'autres formats comme les anticorps bispécifiques non-IgG-like. L'intérêt est également que cette plateforme peut combiner deux (voire plus) sites de liaison à l'antigène pour cibler plus d'antigènes ou bien introduire une bivalence envers une même cible comme le format 2:1. [31] [32]

A date de Septembre 2022, on compte un anticorps bispécifique en oncologie produit selon cette technologie en cours d'évaluation par l'EMA, le glofitamab [33]. En ophtalmologie, une autre molécule utilisant la même plateforme, faricimab (VABYSMO®), a été recommandée par

l'Agence Européenne du Médicament en juillet 2022 [34]. Le glofitamab est un anticorps bispécifique humanisé basé sur une IgG1 de souris, dont la région Fc est rendue silencieuse, et qui utilise des régions variables dérivés de l'obinutuzumab, un autre anticorps monoclonal utilisé en oncologie. Il est produit selon le format CrossMab^{VH-VL} 2 +1 (figure 7A) avec des interactions de charge ce qui signifie qu'il contient trois régions Fab : d'une part il est bivalent pour les antigènes CD20, présents sur les cellules tumorales, et d'autre part monovalent pour lier les antigènes CD3ε, présents sur les lymphocytes T (figure 7B). Cette configuration lui permet, lorsqu'il est mis en compétition avec les anticorps monoclonaux de référence (obinutuzumab et rituximab), d'avoir une affinité supérieure aux antigènes CD20 et ce même à des doses plus faibles [26]. Il est actuellement évalué dans le traitement du lymphome non-hodgkinien par l'Agence Européenne du Médicament.

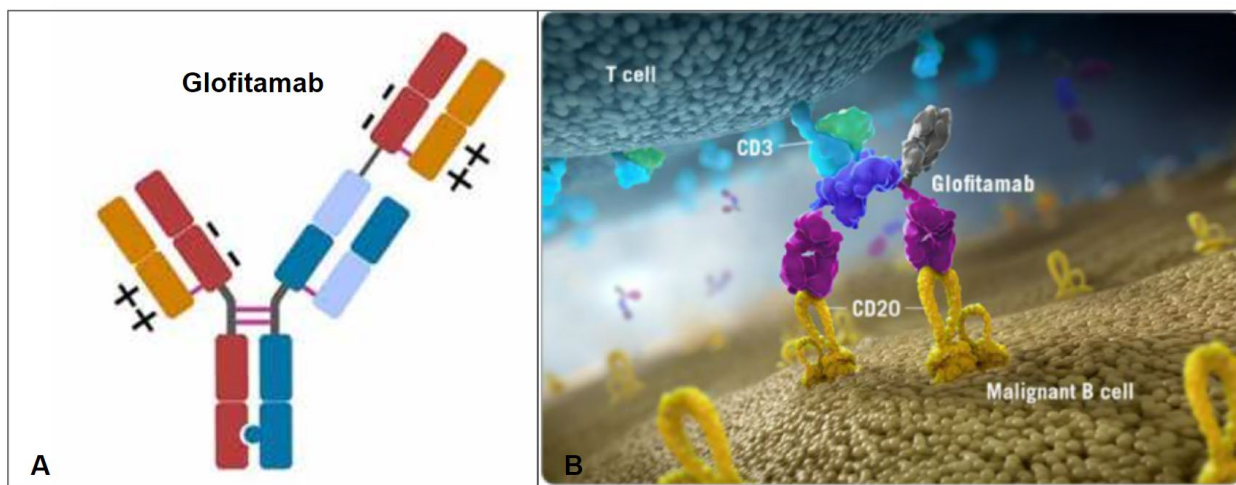


Figure 7 : Représentation schématique (A) et tridimensionnelle (B) du glofitamab [30] [35]

1.3.1.4. Plateforme ART-Ig (Asymmetric Re-engineering Technology - Immunoglobulin)

La technologie ART-IG (Asymmetric Re-engineering Technology - Immunoglobulin) a été développée en 2005 [4] par Chugai, une entreprise Japonaise, qui se veut être la combinaison de trois méthodes d'ingénierie moléculaire [36] :

- L'introduction d'une chaîne légère commune pour réduire le nombre de combinaisons possible entre les chaînes lourdes et légères ;

- L'introduction d'une charge opposée dans la région Fc des deux chaînes lourdes pour faciliter la purification (figure 8),
- L'utilisation de la charge électrostatique des deux chaînes lourdes pour faciliter l'expression de l'anticorps bispécifique souhaité car de cette manière la production des hétérodimères issus des deux anticorps originaux est favorisée (et la production des homodimères réduite) [37].

L'application de ces trois techniques permet d'obtenir un procédé qui peut générer l'anticorps bispécifique souhaité à échelle industrielle (2500 litres) avec un rendement et une pureté similaire aux anticorps monoclonaux. La molécule d'emicizumab (HEMLIBRA®, Roche) est produite par ce procédé, qui est la première approuvée par l'EMA (en 2018) dans une autre aire thérapeutique que l'oncologie car autorisée dans le traitement de l'hémophilie A. C'est un anticorps bispécifique anti-facteur IXa/anti-facteur X [38] avec une activité similaire au facteur VIII sans en avoir la structure, donc n'induisant pas le développement d'inhibiteurs dirigés contre celui-ci [39].

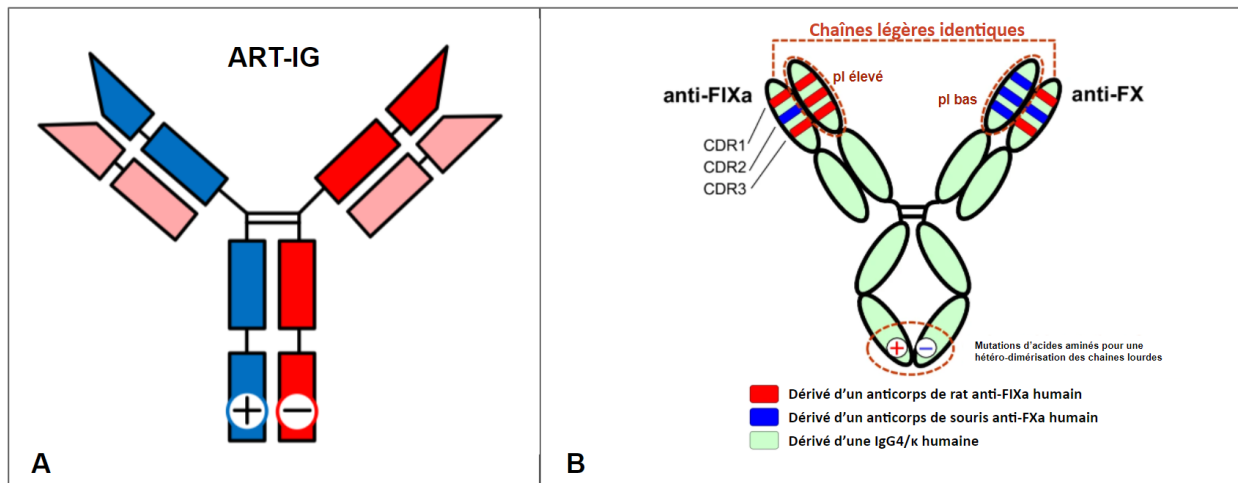


Figure 8 : Représentations schématiques du principe de l'utilisation de charges électrostatiques selon le modèle ART-IG (A) et de la molécule d'emicizumab (B) [4] [38]

1.3.1.5. Plateforme DuoBody

Comme dit précédemment le site de liaison à l'antigène de l'immunoglobuline G de type 4 peut être, de manière spontanée, recombiné et échangé pour former un anticorps bispécifique : ce procédé est appelé "Fab-arm exchange" (FAE)[40]. Cette technologie a été développée en 2010 par Genmab, une entreprise danoise, qui est basée sur ce principe à procéder à un échange de chaînes au niveau du site de liaison mais de manière contrôlée (controlled Fab-arm exchange ou cFAE) [18]. En introduisant une mutation (K409R et F405L) sur les deux chaînes lourdes (région constante C_{H3}), la plateforme DuoBody va agir comme promoteur du bon déroulement de cet échange de bras entre les deux anticorps pour former l'anticorps bispécifique souhaité. Ainsi dans cette méthode deux anticorps monoclonaux basés sur la structure de IgG1 contenant une mutation sont d'abord exprimés séparément. Ensuite, ces derniers sont mis dans des conditions de réduction spécifiques *in vitro* qui les séparent en deux moitié d'anticorps, puis l'assemblage se fait par la suite, dans des conditions d'oxydation cette fois, pour former l'anticorps bispécifique. Cette technologie génère les anticorps bispécifiques souhaités à hauteur de 95% de rendement (<5% d'homodimères et <1% de multimères) dotés d'une très grande stabilité (résistance à la chaleur notamment). L'utilisation de cette technique permettrait également de créer des molécules avec une immunogénicité moindre comparée aux autres techniques [41].

La molécule d'amivantamab (RYBREVANT®, Janssen Pharmaceuticals), autorisée en Décembre 2021 par la Commission Européenne dans le traitement du cancer du poumon, est produite selon cette technologie (figure 9). Cet anticorps bispécifique contient un épitope dirigé contre les récepteurs du facteur de croissance épidermique (EGFR) et un autre dirigé contre les récepteurs de transitions épithélium-mésenchyme (MET) et agit selon les trois mécanismes suivants [42] :

- En se fixant aux récepteurs EGFR/MET, il empêche la cascade d'activation qui en découle d'avoir lieu (empêchant donc la prolifération et survie cellulaire).
- Lorsqu'il est fixé aux récepteurs, ces derniers vont être internalisés et dégradés.
- Comme tout anticorps, le fragment Fc va entraîner le recrutement de cellules de l'immunité comme les macrophages ou cellules NK qui vont induire la mort des cellules tumorales.

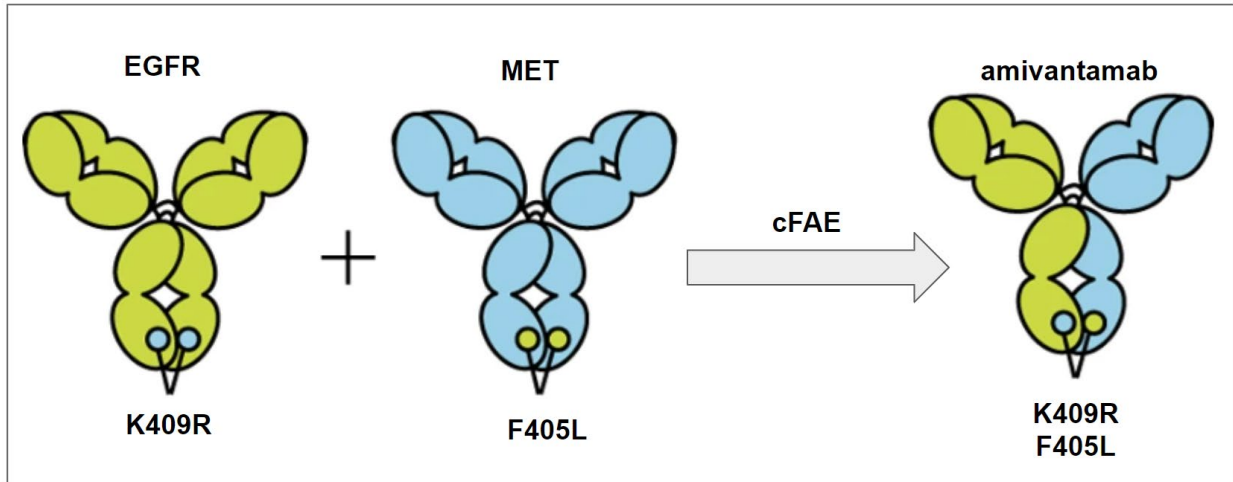


Figure 9 : Schéma représentation la formation de la molécule d'amivantamab en utilisant le principe de la plateforme DuoBody [43]

1.3.2. Anticorps bispécifiques basés sur des plateformes non-IgG-like

1.3.2.1. Plateforme BiTE®

La plateforme Bispecific T-Cell Engager (BiTE) est propriété d'Amgen, une entreprise pharmaceutique américaine, depuis l'acquisition de l'entreprise Micromet Inc. en 2012 qui avait initialement développé cette technologie dans les années 1990 à partir des travaux précédents de Mack et Al [31]. Ces entités, d'un poids moléculaire d'environ 50 kDa, sont le résultat de la fusion d'un fragment variable simple chaîne (scFv) d'un anticorps anti-CD3ε avec un fragment scFv d'un antigène associé à la tumeur (TAA, tumor-associated antigen) grâce à un court peptide de liaison (GGGGS) [44]. Un aspect particulièrement positif est que leur production peut être réalisée à grande échelle de manière rapide et relativement simple [45]. Comparés aux anticorps bispécifiques basé sur le format d'une IgG, ils n'ont pas de région Fc ce qui leur confère des avantages, comme par exemple être moins immunogènes ou avoir une meilleure pénétration dans les tissus tumoraux, et des inconvénients comme une demi-vie bien plus courte (environ deux heures) ou le besoin d'une longue perfusion continue. Par ailleurs, Amgen est en train de développer une deuxième génération de sa plateforme dans cette optique, dite HLE-BiTE (Half-

Life Extended Bispecific T-Cell Engager [46]) qui, en greffant un fragment Fc à la plateforme BiTE de base, va permettre d'obtenir une demi-vie plus longue (jusqu'à sept jours).

Le blinatumomab (BLINCYTO®, Amgen) fut le deuxième anticorps bispécifique à être approuvé en 2015 par la Commission Européenne et le premier (et seul, à date de Juin 2022) à l'être en utilisant la plateforme BiTE développée par Micromet. Il est constitué d'un fragment scFv d'un anticorps murin anti-CD19 fusionné à un scFv murin anti-CD3 et est indiqué dans le traitement de la leucémie aiguë lymphoblastique.

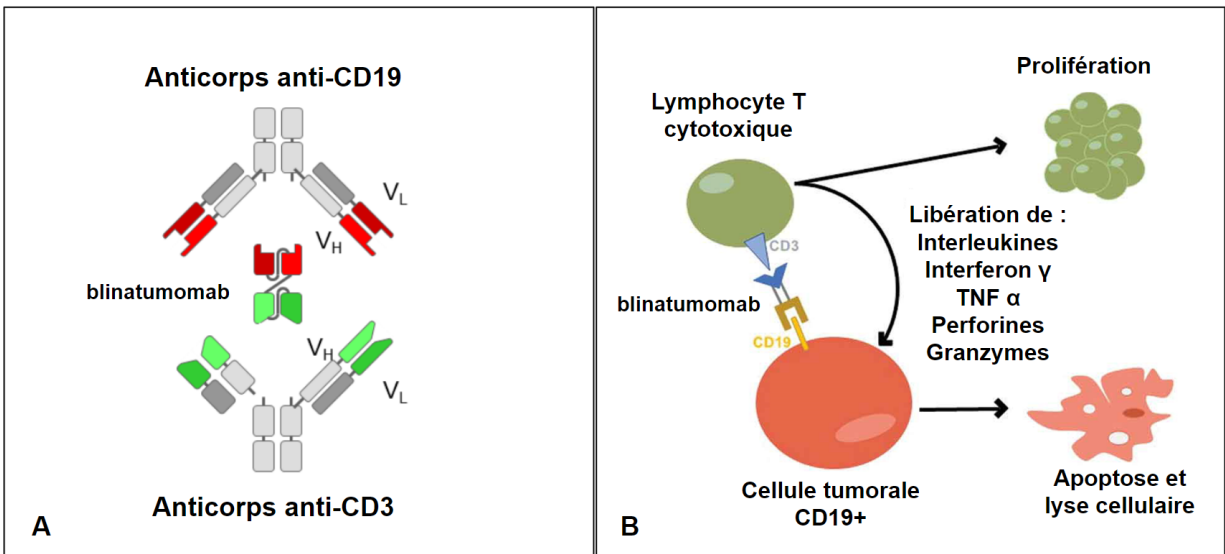


Figure 10 : Représentation schématique de la formation du blinatumomab (A) et de ses interactions avec ses cibles (B). [47] [48]

1.3.3. Conclusion sur les plateformes :

Dans cette première partie, seuls quelques exemples de plateformes ont été présentés en s'appuyant sur les molécules déjà approuvées ou en cours d'évaluation par l'Agence Européenne du Médicament. Ces dernières ont été créées pour répondre aux difficultés d'association des paires entre elles, souvent développées en parallèle et utilisées de manière complémentaire car ayant des caractéristiques bien différentes (tableau 1). Cependant, une fois que le format d'anticorps souhaité est produit, d'autres contraintes entrent en jeu comme par exemple :

- Le développement d'anticorps bispécifiques qui nécessitent une fixation simultanée aux deux antigènes rend d'autant plus complexe leur développement car de nombreux paramètres ont dès lors un impact significatif comme l'affinité, la valence, la spécificité ou le format [14]. Par exemple, lorsque les deux antigènes ciblés sont sur la même cellule, la valence de l'anticorps avec la cible peut affecter non seulement l'interaction monospécifique (avidité) mais également l'interaction avec l'efficacité de la liaison avec un second épitope. D'autres paramètres comme l'architecture spatiale (l'orientation du paratope) peuvent également influencer négativement l'engagement avec la cible et in fine avoir un impact sur l'activité biologique. Cela explique pourquoi l'étape de drug discovery est compliquée car la sélection dans les répertoires doit tenir compte de toutes ces contraintes. L'objectif est donc de discriminer des formats directement adaptés à la cible ou bien choisir des formats facilement modifiables pour accélérer le développement et maximiser les chances de réussites. En opposition, lorsque les deux sites de liaison peuvent se lier de manière séquentielle, l'orientation spatiale de l'anticorps n'a que peu d'influence et peut être éventuellement ajustée en changeant de format.
- La flexibilité de la structure est aussi un paramètre discriminant pour le choix final de l'anticorps bispécifique notamment lorsque d'autres sous-types d'IgG sont utilisés (IgG2 et IgG4) pour réduire la toxicité induite par le fragment Fc.
- Enfin, il faut que le format choisi soit compatible avec de potentielles modifications structurelles qui peuvent être apportées par la suite afin d'améliorer le profil pharmacocinétique, ajuster le profil fonctionnel (glycosylation pour améliorer la réponse immunitaire ADCC [49]) ou bien faciliter le processus de fabrication.

Plateforme	Technique d'association	Avantages	Inconvénients	Exemple de produit
Triomab	Chaines lourdes/légères d'espèce identique	- Purification facile - Rendement plus important que les quadromes	Immunogénicité	REMOVAB®
Knobs-into-holes	Chaines lourdes	- Augmentation du rendement - pureté plus importante	- Instabilité - Problème d'association des chaines légères non résolu - Association knob/knob ou hole/hole possible	LUNSUMIO®
ART-IG	Chaines lourdes + chaines légères	- Combine plusieurs techniques - Production à échelle industrielle possible	Peu décrits	HEMLIBRA®
BiTE	Fragments variables simple chaîne	- production relativement simple et rapide en grande quantité - meilleure pénétration dans les tissus	- demi-vie courte - perfusion en continue	BLINCYTO®
CrossMab	Chaines légères	- Plus grande diversité de production d'anticorps - Combinaison avec d'autres techniques possible - Stabilité importante - Rendement important - multivalence possible	- génération de déchets	Glofitamab Faricimab
DuoBody	Chaines légères	- Rendement très élevé - stabilité importante - immunogénicité diminuée	Technique de production exigeante industriellement	RYBREVANT®

Tableau 1 : Résumé des caractéristiques des principales plateformes utilisées pour la production des anticorps bispécifiques.

1.4. Applications thérapeutiques des anticorps bispécifiques :

1.4.1. Oncologie

En Août 2019 une équipe de chercheurs (Labrijn et Al.) a conduit une étude sur les différentes aires thérapeutiques dans lesquelles les anticorps bispécifiques étaient en cours d'exploration [14]. Bien que le paysage des molécules en voie de développement évolue de plus en plus vite, cette étude décrit bien la tendance : sur un total de plus de 85 anticorps bispécifiques en cours de développement clinique, 86% d'entre eux ciblaient des pathologies cancéreuses (figure 11). Les données les plus récentes donnent quinze anticorps bispécifiques en cours d'études de phase III en cancérologie [50]. Comme les lymphocytes T sont les cellules immunitaires les plus abondantes (environ 75% des lymphocytes), et qu'ils circulent constamment dans l'organisme à la recherche d'antigènes étrangers grâce à leur complexe moléculaire TCR-CD3 (T-cell receptor) exprimé à leur surface, ils ont été désignés comme choix par les chercheurs dans le développement

des bispécifiques. Ainsi, la majorité des anticorps bispécifiques en cours d'essais précliniques et cliniques cibles les lymphocytes T (38 sur les 57 en cours de développement en oncologie en 2019 [17], en ayant un fragment d'anticorps spécifique anti-CD3 (majoritairement CD3 ϵ), l'autre bras ciblant un antigène spécifique à la tumeur (TAA) comme par exemple CD20, CD38 ou encore HER2. L'intérêt est que l'anticorps bispécifique, lorsqu'il fixe ces deux antigènes respectivement, entraîne la formation d'une synapse cytolytique entre le lymphocyte T et la cellule tumorale. Ce mécanisme mime le mécanisme mis en place naturellement lors de la présentation d'un antigène par un complexe d'histocompatibilité majeur (CHM) de classe 1 ou 2 aux lymphocytes T. Cependant, bien que la théorie soit assez simple, en pratique de nombreux facteurs cellulaires et moléculaires entrent en jeu pour que la formation de cette synapse soit optimale comme l'affinité et l'avidité des deux bras de l'anticorps bispécifique, mais également par l'épitope, la densité et la fluidité des cibles (sur le lymphocyte et la cellule tumorale) [51]. Autre que les CD3, des anticorps anti-CD5 peuvent par exemple être utilisés mais il a été montré qu'ils activaient les lymphocytes T de manière moins puissante comparés aux anti-CD3. De la même manière, les anticorps ciblant les CD2 n'ont pas conduit à l'activation des lymphocytes T sauf lors d'une co-stimulation avec deux anti-CD2 [26]. Ainsi, l'un des objectifs des anticorps bispécifiques est d'engager le système immunitaire comme leurs principaux concurrents les cellules CAR-T (Chimeric Antigen Receptor T-cells) mais sans leur méthode complexe de production [52] et complications liées à leur administration.

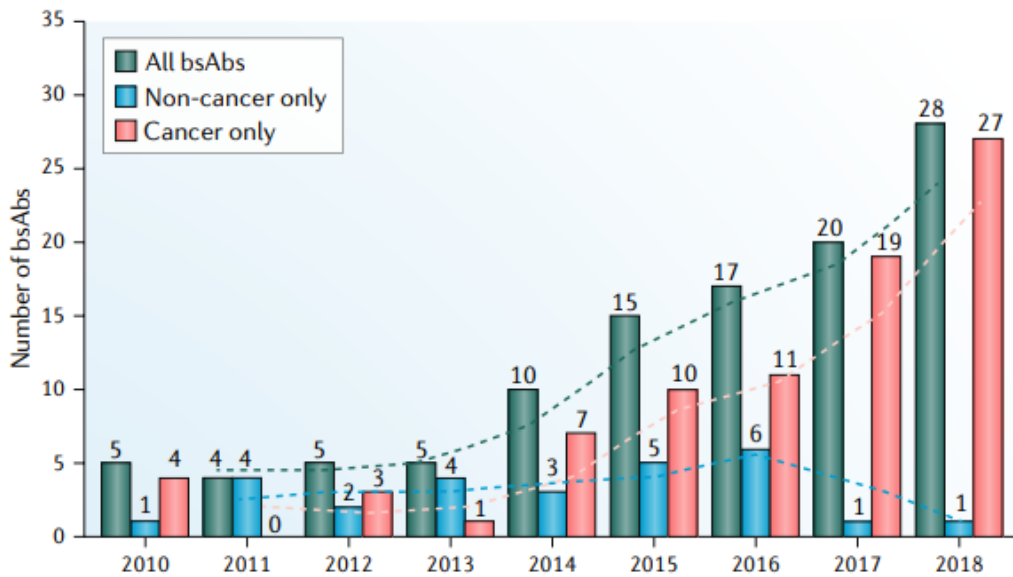


Figure 11 : Évolution du nombre d'anticorps bispécifiques développés au cours des années et leur distribution selon l'aire thérapeutique ciblée. [14]

Cependant, les observations précliniques et cliniques avec cette classe thérapeutique sont de plus en plus nombreuses et à l'inverse de ce qu'il se fait pour les nouvelles molécules, où le souhait de créer des entités avec une très forte fixation est la tendance, les chercheurs commencent à imaginer des anticorps bispécifiques qui ont une activité moindre. La première raison est que le recrutement de lymphocytes T induit une libération de cytokines en plus d'induire la lyse des cellules cibles, ce qui peut donner lieu à des syndromes de libération cytokinique (CRS : cytokines release syndrome, tableau 2). Cet effet de classe, qui est également un effet indésirable bien connu des cellules CAR-T, a un impact négatif sur l'index thérapeutique notamment pour les pathologies dont les tumeurs expriment des antigènes spécifiques, peu présents sur les cellules saines. Ainsi, il a été montré que réduire la capacité de fixation, en réduisant l'affinité au CD3 peut avoir un impact positif sur la tolérance des anticorps bispécifiques [53] et que cela permet de les administrer à des doses plus élevées. Un autre phénomène qui entre en jeu, non spécifique à ces molécules, est que parfois lorsque l'antigène tumoral est exprimé de manière trop large (sur les cellules saines), l'administration du médicament peut entraîner une internalisation des récepteurs et ainsi induire des données pharmacocinétiques non-linéaires en diminuer considérablement l'exposition. Ceci

pourrait être contourné grâce à des anticorps avec des affinités moins grandes mais administrés à plus haute dose. [51]

Grade de CRS	Symptomes
Grade 1	<ul style="list-style-type: none"> • Fièvre • Symptômes constitutionnels
Grade 2	<ul style="list-style-type: none"> • Hypotension répondant aux vasopresseurs • Toxicité pour les organes de grade 2
Grade 3	<ul style="list-style-type: none"> • Choc nécessitant plusieurs doses élevées de vasopresseurs • Hypoxie nécessitant au moins 40% FiO2 • Toxicité pour les organes de grade 3, grade 4 pour les transaminases
Grade 4	<ul style="list-style-type: none"> • Ventilation mécanique • Toxicité de grade 4 pour les organes (sauf transaminases)

Tableau 2 : Les différents grade de CRS avec leurs symptômes associés. [54]

1.4.1.1. Les anticorps bispécifiques dans les hémopathies malignes

Les autorisations de mise sur le marché de BLINCYTO® en 2015 contre la leucémie lymphoblastique et de LUNSUMIO® en 2022 contre le lymphome non-hodgkinien par la Commission Européenne marquent des étapes clé dans l'avènement des anticorps bispécifiques dans le traitement contre les cancers hématologiques. Le lymphome non-hodgkinien, la leucémie et le myélome multiple représente les trois pathologies les plus ciblées, mais sur la centaine de molécules en phase de test, cette nouvelle classe d'anticorps a trouvé un intérêt prépondérant pour cibler le lymphome non-Hodgkinien, où ils pourraient être une option viable pour les patients les plus fragiles ou ceux résistants aux thérapies conventionnelles. L'avantage, grâce au recul donné par l'autorisation du blinatumomab il y a quelques années, est d'avoir une meilleure connaissance du profil de sécurité et d'efficacité à court et moyen termes de ces molécules. Il est maintenant connu que les effets indésirables qui peuvent se révéler fatals sont les orages cytokiniques. Cela dit, malgré le nombre important de molécules et de variété de format en développement préclinique, seule une poignée à pour l'instant atteint un stade avancé dans les essais cliniques car la difficulté est d'obtenir des molécules hautement efficaces avec le moins d'effets secondaires possibles (tableau 3).

	Essai	Population	ORR	PFS	CRS
Blinatumomab	Phase 1	r/r NHL (N = 38); aNHL (N = 5)	64% (CR 36%)	Median PFS 1.5 years (median follow-up 4.6 years)	20% > G3
	Phase 2	r/r aNHL (N = 25)	43% (CR19%)	Median PFS 3.7 years (median follow-up 15 months)	13% > G3
Glofitamab	Phase 1	r/r NHL (N = 52); aNHL (N = 10)	67% (CR 54%) iNHL/ 61% (CR 54%) aNHL	NR	4% > G3
Mosunetuzumab	Phase 1/2b	r/r NHL (N = 270); aNHL (N = 116)	63% (CR 43%) iNHL/ 37% (CR 19%) aNHL	NR	1% G3; no G4
Odronetoxomab	Phase 1	r/r NHL (N = 136); aNHL (N = 78)	55% (CR 55%)/33% (CR 21%) in CAR T r/r	NR	7% > G3
Epcoritamab	Phase 1	r/r NHL (N = 68); aNHL (N = 46)	80% (CR 60%) iNHL/ 91% (CR 55%) aNHL (for maximum dose)	NR	no G3

Tableau 3 : Résumé des molécules en développement dans le lymphome non-hodgkinien. [9]

1.4.1.2. Les anticorps bispécifiques dans les tumeurs solides

Bien que deux anticorps bispécifiques aient été approuvés, RYBREVANT® dans le traitement du cancer du poumon et REMOVAB® contre les ascites malignes (retiré du marché en Europe en 2017 pour des raisons commerciales), et que les résultats soient prometteurs contre les cancers hématologiques, leur utilité thérapeutique reste à démontrer pour les tumeurs solides. En effet, il y a de nombreuses différences entre ces deux conditions, la principale étant que les tumeurs liquides sont plus dispersées et donc plus accessibles aux cellules immunitaires circulantes, donc là où les bispécifiques ont une activité pour certaines pathologies, d'autres leur sont résistantes. Les trois facteurs principaux qui amoindrissent leur impact clinique sont [14]:

- L'immunosuppression dans le microenvironnement de la tumeur, induite par une hypoxie qui empêche l'infiltration, l'activation et la prolifération des lymphocytes T [55].
- La vascularisation dégradée et désordonnée autour de la tumeur, due à la compression des tissus.
- Une pénétration difficile des anticorps et des cellules effectrices dans la tumeur.

Un autre facteur rendant complexe leur développement est l'identification de cibles spécifiques exprimées à la surface des cellules tumorales qui ne toucheraient pas les cellules et tissus sains. Par exemple, les anticorps bispécifiques produits par la plateforme BiTE® lorsqu'ils ciblent des

tumeurs liquides, ont souvent leur cible qui est exprimée sur les cellules B saines et autres cellules plasmiques mais leur déplétion peut être tolérée sans induire d'effets indésirables graves. A l'inverse, on retrouve beaucoup d'antigènes exprimés par les tumeurs solides à la surface de tissus critiques, donnant lieu à des effets secondaires beaucoup plus importants et donc limitant le développement des bispécifiques.

Afin de tenter d'outrepasser cette hypoxie locale et ses conséquences, des combinaisons avec des inhibiteurs de point de contrôle comme des anti-PD1 sont envisagées et ont montré des effets prometteurs au cours d'études précliniques [56]. En attendant, cela n'empêche pas de voir de nombreux anticorps bispécifiques être en cours d'études contre des tumeurs solides [57]. Dans les principales cibles en cours d'évaluation par plusieurs entreprises on retrouve HER2 contre le cancer du sein et gastrique, PSMA contre le cancer de la prostate, GPC3 contre le cancer du foie, des poumons et autres, et EGFRvIII dans le glioblastome.

1.4.2. Autres domaines d'applications (aires thérapeutiques et diagnostiques)

Bien que la grande majorité des anticorps bispécifiques soient explorés en oncologie, leur potentiel n'en est pas moins restreint à ce domaine. Leur capacité à fixer deux antigènes est utilisée dans d'autres buts, en voici quelques exemples :

- Diagnostic : un anticorps bispécifique ciblant les globules rouges et l'antigène de surface du virus de l'hépatite B a été développé afin de détecter le virus chez les patients [58]. Comparé aux méthodes conventionnelles, celle-ci a une spécificité de 100% et une sensibilité de 97.7%, elle reste simple et rapide et aucun équipement spécifique n'est nécessaire.
- Imagerie médicale : la construction d'un anticorps bispécifique trivalent nommé TF2 a montré, lors d'essais précliniques chez la souris, une capacité supérieure à localiser une tumeur en se fixant au CEA d'un côté (carcinoma expressed antigen) et de l'autre un haptène (HSG) radio-marqué [59].
- Exemple d'aires thérapeutiques d'application en dehors de l'oncologie :

- Gastroentérologie : la molécule BFKB8488A (Genentech) est actuellement en essai clinique de Phase II dans la stéatose hépatique non-alcoolique.
- Ophtalmologie : le faricimab est actuellement en cours d'évaluation par l'Agence Européenne du Médicament contre la dégénérescence maculaire liée à l'âge.
- Infectiologie : la molécule expérimentale MEDI3902 a passé les études de phase I avec succès dans le traitement de la pneumonie à *Pseudomonas aeruginosa*.

Partie 2 : Analyse des procédures de mise sur le marché des anticorps bispécifiques approuvés en oncologie

Cette partie consiste en l'analyse, à partir des rapports publics d'évaluation (EPAR) de l'Agence Européenne du Médicament, des différentes procédures qui ont mené quatre anticorps bispécifiques à être approuvés en oncologie à date du 3 Juin 2022, à savoir :

- REMOVAB® (catumaxomab), approuvé en 2009.
- BLINCYTO® (blinatumomab), approuvé en 2015.
- RYBREVANT (amivantamab), approuvé en 2021.
- LUNSUMIO (mosunetuzumab), approuvé en 2022.

L'objectif est de voir d'un point de vue réglementaire comment ont été reçues les demandes d'autorisation de mise sur le marché (AMM) de ces molécules innovantes à travers des analyses des EPAR de manière individuelle en privilégiant plusieurs indicateurs :

- L'indication demandée initialement comparée à celle retenue par l'EMA
- Les désignations obtenues par le demandeur d'AMM avant l'évaluation
- Les caractéristiques principales des études pivot sur lesquelles ont reposé les obtentions d'AMM
- Les principales remarques et inquiétudes exprimées par le CHMP dans les parties dédiées aux discussions sur les différents aspects du développement
- Les mesures de sécurité pour lesquelles le demandeur s'est engagé à adresser après l'autorisation de mise sur le marché
- La longueur de la procédure et les éventuelles spécificités pour chacune.

Enfin une analyse comparative de l'ensemble d'entre elles sera réalisée afin de mettre en exergue les points communs, les différences ainsi que les évolutions qui ont pu avoir lieu entre les treize années qui séparent l'autorisation de mise sur le marché du LUNSUMIO® avec celle du REMOVAB®. Avant d'analyser les études de cas, les principales procédures réglementaires au sein de l'Union Européenne vont faire l'objet d'une brève présentation.

1. La réglementation européenne

1.1. La procédure centralisée

Depuis la création de l'Agence Européenne du Médicament en 1993, et sa mise en place effective en 1995, les entreprises peuvent avoir accès au marché européen grâce à cette nouvelle autorité qui remplace l'évaluation des candidats médicaments qui était uniquement faite au niveau national jusque-là. Pour l'évaluation des médicaments humains, l'EMA dispose de deux comités :

- Le Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP) : celui-ci évalue la grande majorité des médicaments, notamment les médicaments basés sur des anticorps comme décrits dans ce document.
- Le CAT (Committee for Advanced Therapies) : ce comité n'évalue que les médicaments de thérapie innovante (ATMP) comme les thérapies géniques.

Le CHMP se réunit ainsi de manière mensuelle pour les évaluer et émettre une opinion favorable ou défavorable. A la suite de cette opinion, la Commission Européenne est celle qui décidera d'une autorisation de mise sur le marché ou non en rendant une décision. Deux voies d'évaluation sont alors mises en place : la procédure centralisée et la procédure décentralisée.

Ici, seules les grandes étapes de la procédure centralisée seront décrites, étant la seule utilisée par les quatre médicaments d'intérêt. En effet, cette procédure est obligatoire dans un certain nombre de cas décrit dans le point (8) du règlement (CE) No 726/2004 du Parlement Européen et du conseil [60] :

- Tous les médicaments à usage humains contenant une nouvelle substance visant à traiter :
 - Le virus d'immunodéficience humaine (VIH) ou syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA)
 - Le cancer
 - Le diabète
 - Les maladies neurodégénératives
 - Les maladies auto-immunes ou autres troubles immunitaires
 - Les maladies virales
- Les médicaments issus de procédés de biotechnologie

- Les médicaments issus de thérapie génique
- Les médicaments orphelins

Une fois le début de la procédure lancée, deux comités vont agir de concert pour évaluer l'ensemble du dossier soumis par l'industriel :

- Au sein du CHMP : une analyse détaillée est conduite par un Rapporteur et un Co-Rapporteur, deux pays membres désignés au préalable, qui présenteront leur rapport à l'ensemble du CHMP avant chaque étape clé pour discussion et approbation.
- En parallèle, tout au long de la procédure, deux membres du Pharmacovigilance Risk Assessment Committee (PRAC) sont désignés Rapporteur et Co-Rapporteur pour évaluer le Plan de Gestion des Risques (RMP : Risk Management Plan) proposé par l'entreprise pharmaceutique. Ils présentent également leurs conclusions à l'ensemble des membres du PRAC pour discussion et approbation.

L'évaluation d'un médicament suit un calendrier très précis, défini dans les articles 6(3) et 7c du règlement (EC) N° 726/2004, qui tient en 210 jours maximum (figure 12A), en excluant les suspensions (clock-stops) lorsque des informations orales ou écrites supplémentaires doivent être fournies en réponses aux questions posées par le CHMP. Ce calendrier peut être raccourci à 150 jours (figure 12B) dans le cas où l'entreprise pharmaceutique fait une demande d'évaluation accélérée, qui est accordée, en se basant l'article 14(9) du règlement (EC) N° 726/2004 ci-dessous :

- *“Si la demande concerne la mise sur le marché de médicaments à usage humain présentant un intérêt majeur du point de vue de la santé publique et notamment du point de vue de l'innovation thérapeutique, le demandeur peut solliciter une procédure d'évaluation accélérée. Cette requête est dûment motivée.”*

Une fois la procédure commencée, la première étape clé est une évaluation initiale du dossier qui va conduire à une liste de questions, définie par le CHMP, qui est remise à l'industriel à J120 ou J90 selon le schéma agréé. L'évaluation est alors interrompue (clock-stop) afin que le demandeur puisse préparer les réponses. Une fois celles-ci fournies au CHMP, le comité va les évaluer et faire un rapport d'évaluation mis à jour qui sera également examiné et commenté par les membres du

PRAC. Suite à l'adoption de ce rapport lors d'une réunion plénière du CHMP, une liste de questions en suspens (list of outstanding issues) est adoptée et envoyée au demandeur à J180 ou J120, qui entraîne là encore la suspension de l'évaluation (deuxième clock-stop). Dans le cas où les réponses apportées par l'entreprise pharmaceutique ne sont pas satisfaisantes, plusieurs listes de questions en suspens peuvent se succéder. A tout moment de la procédure, deux événements peuvent avoir lieu :

- Une explication orale (oral explanation) : l'industriel ou le CHMP peuvent demander à avoir une explication orale pour clarifier des objections majeures auxquelles l'industriel n'a pas encore répondu de manière satisfaisante.
- Consultation d'un groupe de travail (SAG : Scientific Advisory Group) : les rapporteurs ou n'importe quel membre du CHMP peut, généralement au stade de la liste de questions en suspens, faire appel à un groupe de travail constitué d'experts indépendants à l'Agence (en général issus de la recherche hospitalo-universitaire) pour qu'ils donnent leur recommandation. Il existe huit différents groupes selon les aires thérapeutiques, celui concerné ici est l'oncologie (SAG-Oncology ou SAGO). Dans ce contexte de procédure centralisée, le CHMP attend généralement de ce groupe de travail des recommandations sur des aspects techniques et/ou scientifiques du dossier en répondant à des questions très précises posées par le comité lui-même. Il est important de noter que l'avis donné n'est qu'une recommandation et en aucun cas le CHMP a l'obligation de le suivre.

Enfin, lorsque les réponses aux questions en suspens ont été fournies, les Rapporteur et Co-rapporteur vont mettre à jour leur rapport d'évaluation pour une discussion finale avec l'ensemble du CHMP et une recommandation sera adoptée, soit à J210 soit à J150. La Commission Européenne est l'entité qui prendra la décision finale d'autorisation de mise sur le marché dans un délai de 67 jours pour une procédure classique, délai qui est réduit dans le cas d'une revue accélérée.

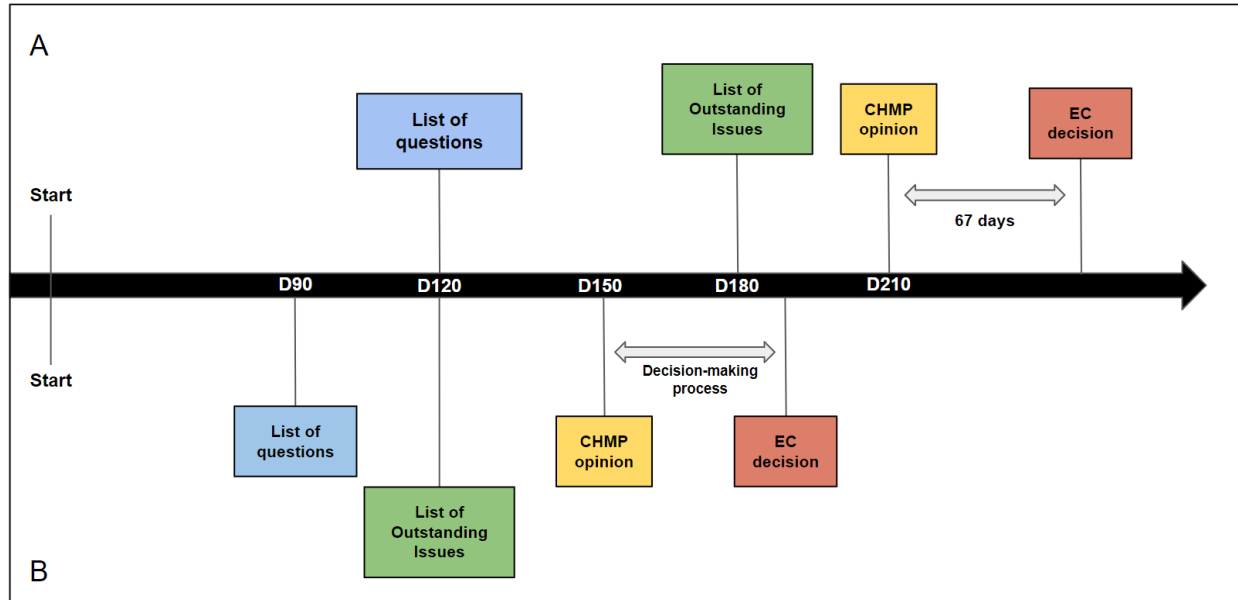


Figure 12 : Évaluation standard (A) et accélérée d'un médicament par la procédure centralisée.

1.2. AMM conditionnelle

Dans l'intérêt des patients, l'EMA aide le développement de médicaments qui visent à répondre à des besoins médicaux non satisfaits en délivrant une AMM conditionnelle à certaines molécules pour lesquelles les données cliniques fournies par le demandeur sont moins complètes que celles exigées pour une AMM classique. Cependant, le cas se présente seulement lorsque les bénéfices de rendre le médicament disponible immédiatement outrepassent les risques, tout en sachant que des données additionnelles sont exigées par la suite. Une autorisation de mise sur le marché conditionnelle peut être le choix de l'Agence à la fin de l'évaluation mais cela peut être aussi un souhait formulé par le demandeur avant le début de la procédure. Le CHMP peut délivrer ce type d'AMM si le médicament remplit les critères suivants :

- Sa balance bénéfice-risque est positive
- Il est probable que le demandeur soit en mesure de fournir des données complètes après l'autorisation
- Le médicament répond à un besoin médical non satisfait

- Le bénéfice attendu en rendant le médicament disponible immédiatement dépasse les risques, ceci étant conditionné par les données à fournir obligatoirement par la suite.

Enfin, une AMM conditionnelle est accordée pour un an (renouvelable) et est soumise à des « obligations spécifiques » (SOs), c'est-à-dire que le demandeur s'engage à fournir les données manquantes selon un calendrier défini, en soumettant une variation de type II (modification majeure de l'AMM post-autorisation).

1.3. Médicaments orphelins

Au sein de l'EMA, il existe un comité spécialement dédié aux médicaments orphelins : Committee for Orphan Medicinal Products (COMP). Celui-ci est chargé d'évaluer les demandes de désignation orpheline (faite en amont du dépôt de demande d'AMM), puis la Commission Européenne donnera la décision finale pour les médicaments qui pensent répondre aux critères suivants [61] :

- Le médicament est destiné à traiter, prévenir ou diagnostiquer une maladie mettant la vie des patients en jeu ou donnant lieu à une invalidité chronique.
- La prévalence de la maladie orpheline ne doit pas dépasser 5 personnes sur 10 000 au sein de l'Union Européenne, ou bien il est peu probable que le médicament génère suffisamment de revenus une fois sur le marché pour justifier l'investissement réalisé pour son développement.
- Il n'existe pas de méthode de diagnostic, de prévention ou de traitement de la maladie concernée qui soit autorisée, ou alors, si elle existe, le médicament doit démontrer un bénéfice significativement supérieur.

Une fois la désignation obtenue, le demandeur d'AMM peut prétendre à plusieurs avantages comme une assistance à l'élaboration de protocoles (similaire aux avis scientifiques), des frais réduits ou encore une exclusivité du produit une fois sur le marché. Lors de l'évaluation de l'AMM, le COMP va revoir les critères sur lesquels la désignation a été donnée et les comparer avec les données (notamment concurrentielles) les plus récentes, afin de déterminer le maintien ou non de celle-ci. Si le médicament est approuvé et que la désignation est maintenue, alors il est considéré

comme médicament orphelin. Cette désignation sera également réévaluée à chaque extension d'indication.

1.4. Variation de type II

Les variations de type II sont définies par le règlement N° 1234/2008 comme des variations majeures qui peuvent avoir un impact significatif sur la qualité, la sécurité ou l'efficacité du médicament. Pour cette raison, il est nécessaire d'obtenir l'approbation des autorités avant son implémentation. Généralement, après une période de validation par le CHMP, l'évaluation d'une variation de ce type suit un calendrier en 60 jours mais il peut être réduit à 30 jours en cas de problèmes urgents en lien avec la sécurité ou bien allongé à 90 jours dans le cas d'une demande d'extension d'indication. À la suite de cette évaluation, soit le CHMP donne une opinion favorable, ou bien il peut faire une demande d'information supplémentaire (RSI). La procédure est alors mise en suspens le temps que le demandeur puisse fournir les réponses demandées, puis l'évaluation reprend une fois ces dernières sont soumises au CHMP. Il peut y avoir plusieurs tours de demande d'informations supplémentaires avant que l'Agence se positionne favorablement ou défavorablement.

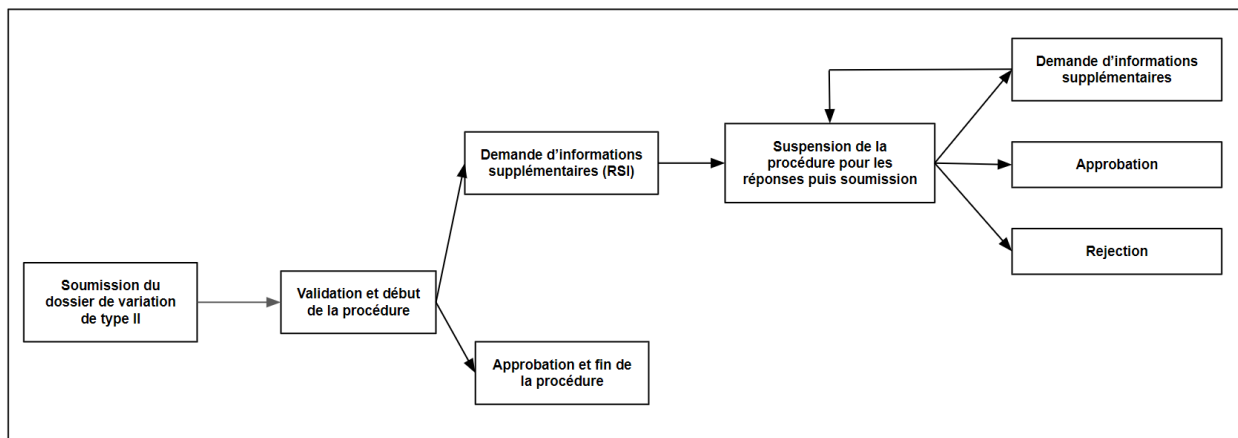


Figure 13 : Aperçu de la procédure d'évaluation d'une variation de type II par le CHMP.

2. Les anticorps bispécifiques approuvés :

2.1. REMOVAB® (catumaxomab) [21]

Pour cette première procédure, le demandeur était Fresenius Biotech GmbH qui souhaitait obtenir une autorisation de REMOVAB® pour traiter les ascites malignes dues aux cancers épithéliaux.

L'étude pivot pour supporter cette application est l'étude IPREM-AC-01 de phase II/III, dans lequel l'effet du catumaxomab est évalué chez des patients avec des ascites malignes dues à des cancers épithéliaux. Il s'agit du seul essai contrôlé et randomisé (ratio 2:1) soumis pour l'évaluation, dans lequel 258 patients furent enrôlés (la moitié ayant un cancer ovarien, pas l'autre) : dans le bras expérimental les patients étaient traités par catumaxomab combiné à la paracentèse (traitement de référence) et comparés au bras contrôle où les patients ne recevaient que la paracentèse seule (figure 14), l'objectif étant de montrer la supériorité de cette association. Le critère d'évaluation principal pour cet essai était la survie sans ponction d'ascite (l'événement étant défini comme le besoin d'une ponction ou le décès du patient), et parmi les critères secondaires, la survie globale (overall survival ou OS) et la survie sans progression (progression-free survival ou PFS) étaient entre autres évalués (tableau 5). En tout, ce sont quatre doses de catumaxomab qui étaient administrées chez les patients dans le bras expérimental (10-20-50-150µg) à plusieurs jours d'intervalle (J0, J3, J7 et J10). Pour les patients inclus dans le bras expérimental, l'administration d'une dose de 1000 mg de paracétamol était prévue en prophylaxie des effets secondaires.

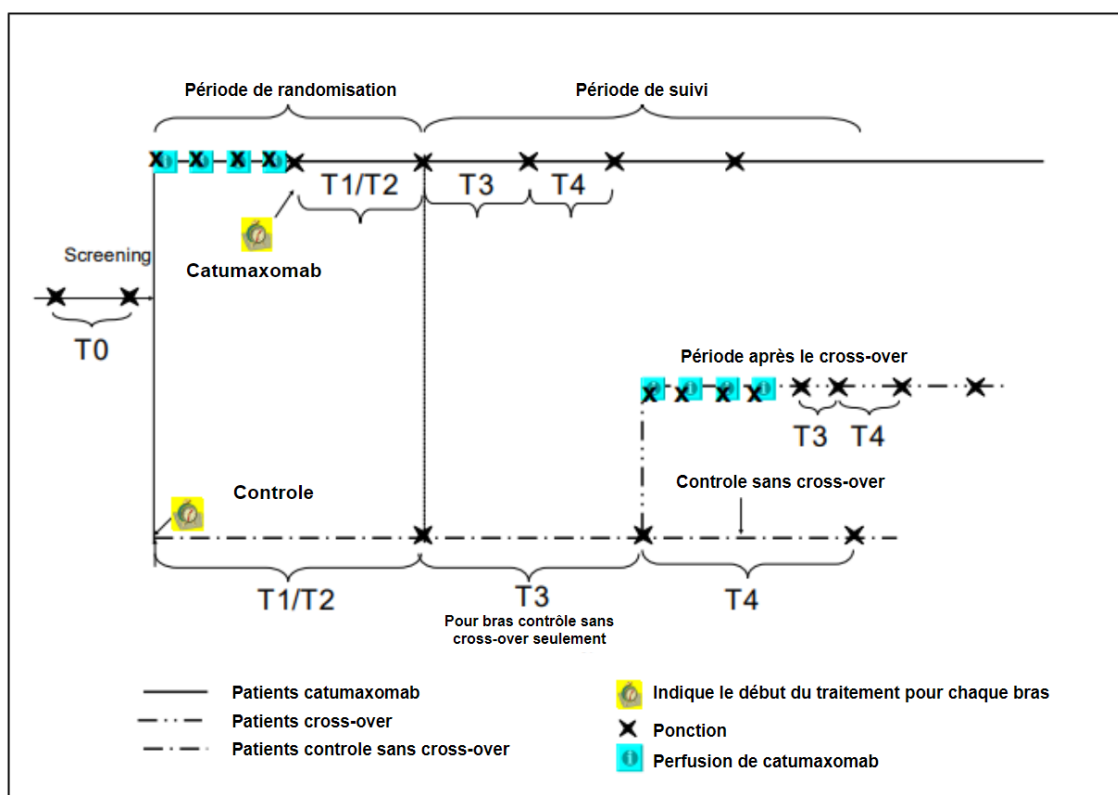


Figure 14 : Design clinique de l'étude pivot IPREM-AC-01.

Pour compléter les données de l'étude pivot, le demandeur a soumis les données de d'autres études exploratoires :

- Deux études dans la même indication que l'étude pivot :
 - Essai STP-REM-01 : une étude de phase I/II évaluant une escalade de dose de catumaxomab pour établir la dose maximale tolérée
 - Essai IP-REM-PK-01-EU : une étude de phase II évaluant la pharmacocinétique du catumaxomab à différentes doses.
- Une étude de Phase IIa (AGO-OVAR-2.10) chez des patientes atteintes de cancer ovarien pour montrer l'efficacité du catumaxomab.

Durant l'évaluation du dossier, le CHMP a relevé de nombreuses objections majeures sur différents plans :

- Sur l'aspect pharmacologie clinique :
 - La concentration de catumaxomab libre dans les ascites durant le traitement était soumise à des variations de facteur 100 sans justification convaincante, la piste des anticorps anti-catumaxomab étant suggérée.
 - Très peu de données ont été fournies pour justifier que le catumaxomab n'a pas d'interactions avec les tissus sains.
 - La libération de cytokines induites par l'administration de catumaxomab constitue un problème de sécurité.
 - La preuve de concept in vivo de la pharmacodynamie primaire chez les patients cancéreux n'a pas été établie de manière convaincante.
- Sur les aspects non-cliniques :
 - Le CHMP mentionne dans l'EPAR que les études de pharmacocinétique n'étaient pas toutes conformes au BPL. D'autre part, l'Agence a noté une élimination étonnamment rapide du catumaxomab du plasma chez la souris lors d'injection IV, et bien que ce mécanisme soit essentielle pour l'évaluation des données toxicologiques, les réponses fournies par Amgen n'ont pas permis d'expliquer ce phénomène.
- Sur l'aspect de l'efficacité clinique :
 - Une objection majeure a été soulevée par le CHMP concernant le rapport bénéfice-risque du catumaxomab car d'une part la survie sans progression était difficile à estimer à cause de la fin de l'étude souvent prématurée pour les participants, et d'autre part bien que la survie sans ponction soit augmentée, ce résultat était à balancer avec les effets secondaires fréquents souvent sévères.
 - Le nombre de jours d'hospitalisation plus important dans le bras expérimental a été noté par le CHMP, ces hospitalisations étant principalement dues à l'administration de catumaxomab.
 - A cause du cross-over, des décès prématurés des patients et perdus de vue, il n'y a pas pu avoir de conclusions significatives sur l'impact du catumaxomab comparé au bras contrôle concernant le temps séparant la première ponction thérapeutique et la suivante, ainsi que la survie sans ponction.
- Sur l'aspect de la sécurité clinique :

- Le CHMP a exprimé ses inquiétudes concernant le nombre de morts beaucoup plus important dans le bras expérimental, ce qui fut justifié par le laboratoire, mais néanmoins l'Agence a considéré qu'en tant que traitement palliatif, l'incidence élevée et la sévérité des effets indésirables étaient des inconvénients majeurs.
- Les CRS ont été notés comme les effets indésirables les plus fréquemment rencontrés par les patients dans le bras expérimental.

Durant la procédure, le CHMP a fait appel à un SAG-O afin d'éclairer plusieurs points critiques influençant le rapport bénéfice-risque du catumaxomab :

- Concernant l'efficacité clinique :
 - Le SAG-O a considéré que le design clinique de l'étude pivot introduit des biais significatifs pour estimer les critères d'évaluation, notamment la différence de ponctions prétraitement entre les deux bras, ou encore le fait que l'étude soit conduite en design ouvert.
 - Les positions sur l'efficacité avérée du catumaxomab ont divergées au sein du SAG-O, pour certains celle-ci n'étant pas établie au vu des biais, pour d'autres l'efficacité étant prouvée. La recommandation finale du SAG-O fut de mettre en place d'autres études comparant le catumaxomab au meilleur traitement disponible, ce qui a été noté par le CHMP mais non tenu en compte pour l'évaluation de l'AMM en cours.
- Concernant la sécurité clinique :
 - Le SAG-O a demandé au laboratoire de fournir des données concernant les hospitalisations, ce qui a permis de définir le profil de sécurité du médicament mais pas de décider si celui-ci était acceptable.
 - Des conseils sur d'éventuelles prémédications ou mesures pouvant être prises pour diminuer les effets indésirables ont été demandés par le CHMP sans que le SAG-O puisse en identifier dû aux possibles interactions avec le catumaxomab.
 - A la demande du SAG-O, le demandeur a fourni des données qui ont convaincu que le catumaxomab n'avait pas d'interactions avec les tissus sains EpCAM-positifs.

Pour cette demande d'autorisation, Fresenius Biotech GmbH a reçu une AMM normale mais s'est engagé à évaluer plus de patients à travers une étude clinique de phase IIIb randomisée et contrôlée ayant pour but d'obtenir deux informations :

- Plus de données sur les patients positifs aux anticorps anti-rat et anti-souris recevant du catumaxomab et la toxicité induite.
- Plus de données de sécurité sur la perfusion pendant trois heures de catumaxomab avec et sans l'administration de prednisolone en prophylaxie.

A la suite de son évaluation, le CHMP a recommandé positivement l'utilisation de REMOVAB® en restreignant l'indication demandée par Fresenius Biotech notamment avec l'introduction du marqueur EpCAM comme condition de traitement :

- Indication demandée : traitement intrapéritonéal des ascites malignes chez les patients ayant des cancers épithéliaux pour lesquels il n'y a pas de standard thérapeutique ou bien plus réalisable.
- Indication obtenue : traitement intrapéritonéal de l'ascite maligne chez les patients atteints d'un carcinome EpCAM-positif lorsque le traitement standard n'est pas disponible ou lorsque celui-ci n'est plus utilisable.

En 2017, REMOVAB® sera retiré du marché à la demande de Fresenius Biotech pour des raisons commerciales.

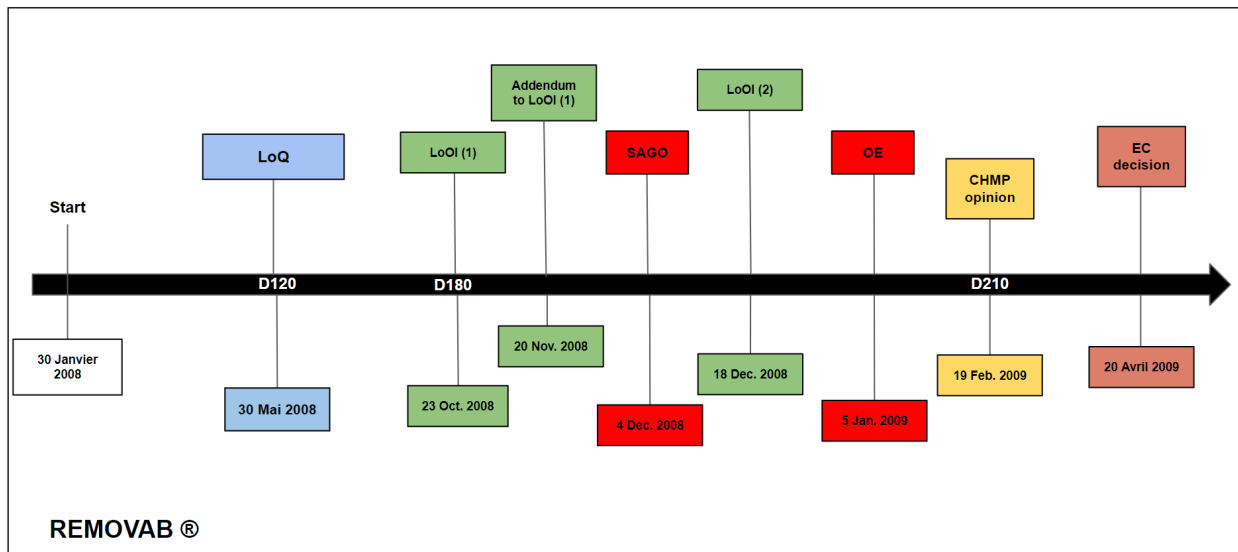


Figure 15 : Aperçu de l'évaluation de la demande initiale d'AMM de REMOVAB® avec les étapes clés de la procédure

2.2. BLINCYTO® , blinatumomab [47] :

2.2.1. Demande initiale d'autorisation de mise sur le marché

Pour cette deuxième procédure démarrée en 2014, le demandeur d'AMM était Amgen Europe B.V. et souhaitait enregistrer sa molécule dans le traitement de la leucémie aiguë lymphoblastique. Avant cette demande d'autorisation, l'entreprise a obtenu la désignation orpheline pour son produit (en 2009). En s'appuyant sur cette désignation rendant éligible le médicament d'après la guideline [61], Amgen a demandé à obtenir une AMM conditionnelle.

Pour supporter cette demande, Amgen a soumis les données de l'étude MT103-211 qui était une phase II ne contenant qu'un seul bras, dont le but était d'évaluer l'efficacité et la sécurité du blinatumomab chez des patients adultes atteints de leucémie lymphoblastique aiguë de type B réfractaires ou en rechute. En tout, 189 patients ont été traités en recevant un à cinq cycles de blinatumomab en perfusion intraveineuse continue, la dose commençant à 9 µg/jour la première semaine du Cycle 1, puis était augmentée à 28 µg/jour à partir de la deuxième semaine et ce pour

les cycles suivants. Pour cette étude, le critère principal d'évaluation était le taux de patients avec une rémission complète ou rémission complète avec récupération hématologique partielle (CR/CRh), calculé en prenant le nombre de patients correspondants divisé par le nombre total de patients à la fin du cycle 2 (figure 16). Les critères secondaires comprenaient entre autres le meilleur taux de réponse général, la survie sans rechute ou encore la survie globale (tableau 5). Afin d'anticiper et diminuer les CRS, de la dexaméthasone IV était administrée jusqu'à cinq jours avant le premier cycle, et obligatoirement une heure avant l'administration.

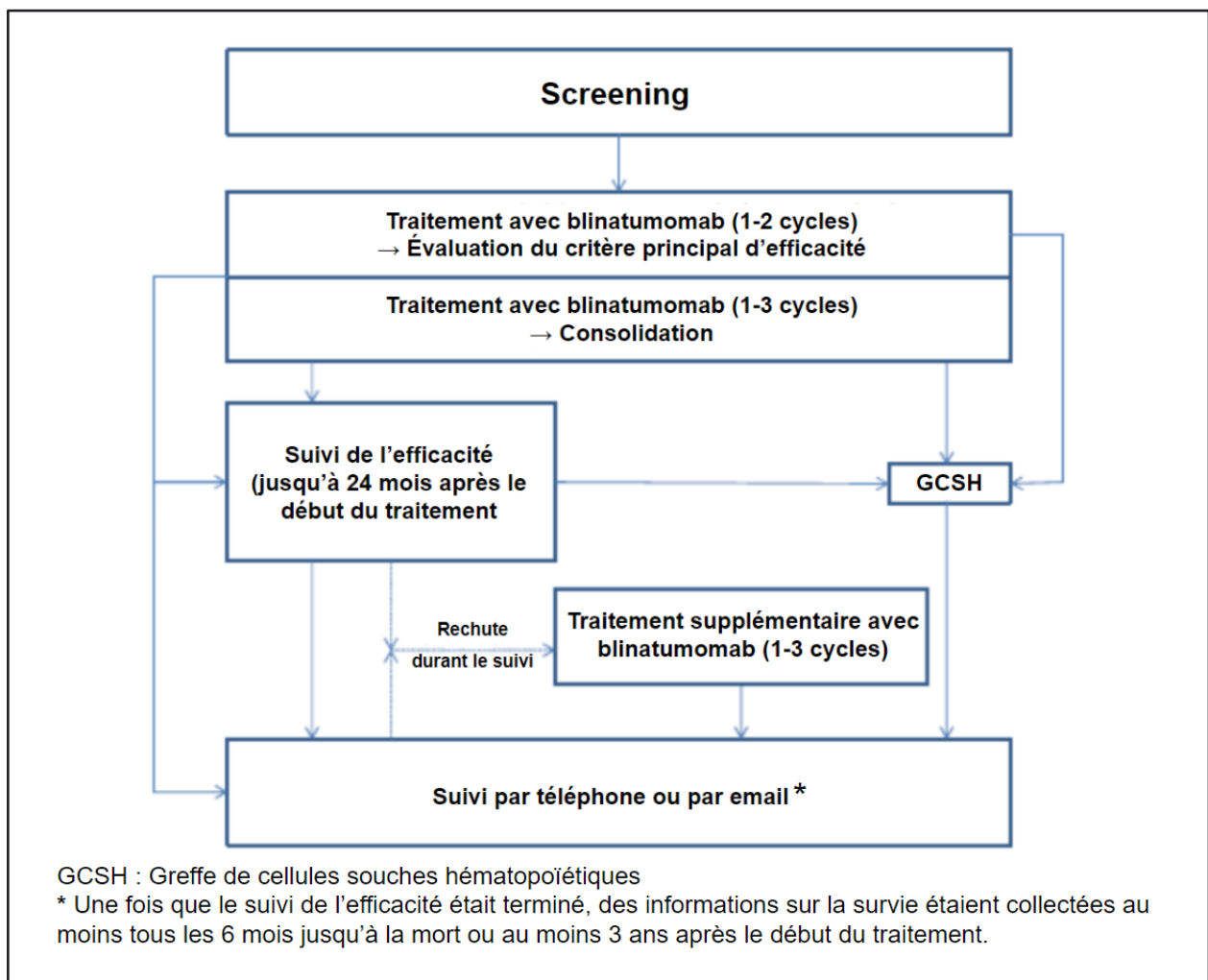


Figure 16 : Design clinique de l'étude pivot MT103-211.

L'étude pivot ne contenant qu'un seul bras, Amgen a utilisé deux stratégies pour compléter ses résultats :

- La soumission des données de deux études support :
 - Celle de l'étude MT103-206, une phase 2 exploratoire évaluant la sécurité, la tolérance et l'efficacité du blinatumomab chez 36 patients atteints de leucémie lymphoblastique aiguë de type B.
 - Celles d'une étude comparative historique pour pouvoir mettre en perspective les résultats du blinatumomab avec ceux du traitement de référence (la chimiothérapie), consistant en l'inclusion des données de 1139 patients diagnostiqués après le 1er janvier 1990 pour les analyser selon les mêmes critères que l'étude pivot.
- L'entreprise a également réalisé une méta-analyse de la littérature qui a regroupé les données de 24 études évaluant le taux de rémission et la survie globale.

Durant l'évaluation du dossier soumis par le laboratoire, le CHMP n'a eu que très peu d'objections sur les différentes données :

- Concernant les aspects chimiques, pharmaceutiques et biologiques :
 - De manière générale, les informations sur ces derniers ont été présentées de manière satisfaisante.
 - Le CHMP, de par la nature conditionnelle de l'AMM, a recommandé de prendre en compte les progrès scientifiques et techniques pour le développement futur.
- Concernant l'aspect pharmacologie clinique :
 - De manière générale, le CHMP a considéré que les propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques ont été investiguées de manière adéquate.
- Concernant les aspects non-cliniques :
 - Le CHMP a considéré la documentation non-clinique comme adéquate, les informations d'intérêt ayant été rajoutées au Résumé des Caractéristiques du Produit (RCP).
- Concernant l'efficacité clinique :
 - Une objection majeure fut relevée par le CHMP concernant le nombre limité de patients en rechute tardive inclus dans l'étude support MT103-206, population qui

devait par ailleurs être exclue des essais pivot et confirmatoires. Cela dit, bien que le taux de réponse soit similaire à celui retrouvé dans la littérature, la capacité (“remarquable” selon le CHMP) des patients à avoir une maladie résiduelle minimale (ou MRD) après blinatumomab a permis d’établir l’efficacité dans ce groupe.

- L’absence de bras contrôle empêche malgré tout une évaluation claire du bénéfice du blinatumomab comparé à la chimiothérapie conventionnelle dans les différents types de leucémies lymphoblastiques aiguës, notamment sur la magnitude de l’effet. Cependant à la lumière des résultats de l’étude pivot comparés à ceux de l’étude comparative historique et de la méta-analyse, le CHMP a considéré que le bénéfice clinique pouvait être établi.
- Concernant la sécurité clinique :
 - De manière générale, la nature des effets indésirables rapportés dans l’étude pivot est telle qu’attendue pour un immunosuppresseur dans cette population à l’exception de l’incidence inhabituelle des troubles du système nerveux (identifiés comme risque important dans le RMP).
 - L’absence de groupe contrôle n’a pas permis d’évaluer l’importance des CRS induits par le blinatumomab mais ces derniers ont semblé gérables grâce à l’escalade de doses et la prémédication (identifiés comme risque important dans le RMP). Il est également intéressant de relever que le CHMP lui-même a décrit les CRS comme potentiellement indistinguables cliniquement des réactions liées à la perfusion.
 - Le syndrome de lyse tumorale a été également identifié comme un risque important chez les patients.
 - Les erreurs médicamenteuses (overdose) induites par la reconstitution, dilution, et administration du blinatumomab font que le risque est identifié comme important dans le RMP et que du matériel pédagogique à destination du personnel soignant a été proposé en conséquence.
 - L’hospitalisation des patients est recommandée pendant neuf jours durant le premier cycle et les deux premiers jours du second cycle, voire plus pour les populations à risque.

Dans le contexte d'une demande d'AMM conditionnelle et étant donné les résultats fournis par le demandeur, le CHMP a établi plusieurs obligations spécifiques :

- Concernant l'efficacité clinique :
 - En conséquence des données limitées issues de l'étude pivot pour la population recrutant tardivement, d'autres seront fournies à travers une étude de sécurité post-autorisation non interventionnelle (PASS) qui sera mis en place chez les patients traités après commercialisation (étude 20150136, à soumettre avant Décembre 2021).
 - Amgen devra fournir avant Mars 2017 le rapport clinique d'étude pour l'essai TOWER (00103311), une phase III randomisée destinée à évaluer l'efficacité du blinatumomab par rapport à la chimiothérapie recommandée chez des patients adultes réfractaire ou en rechute atteints de leucémie lymphoblastique aiguë. Le but est de pouvoir mieux quantifier l'importance de l'effet du blinatumomab notamment par rapport aux critères d'évaluation temporels.
- Concernant la sécurité clinique :
 - Le laboratoire devra fournir les données de sécurité de l'étude TOWER susmentionnée, en particulier les données à long terme, afin d'établir le profil de sécurité du blinatumomab.
 - Les données de sécurité de l'étude en conditions réelles (étude 20150136) devront aussi être fournies.

En Novembre 2015, la Commission Européenne a finalement délivré une AMM conditionnelle pour BLINCYTO® , la seule modification dans l'indication demandée fut de spécifier que la population visée était adulte :

- Indication demandée :
 - BLINCYTO est indiqué en monothérapie dans le traitement des patients présentant une leucémie aiguë lymphoblastique (LAL) à précurseurs B exprimant le CD19 avec chromosome Philadelphie négatif en rechute ou réfractaire.
- Indication obtenue :
 - BLINCYTO est indiqué en monothérapie dans le traitement des patients adultes atteints de leucémie aiguë lymphoblastique (LAL) à précurseurs B exprimant le CD19 avec chromosome Philadelphie négatif en rechute ou réfractaire.

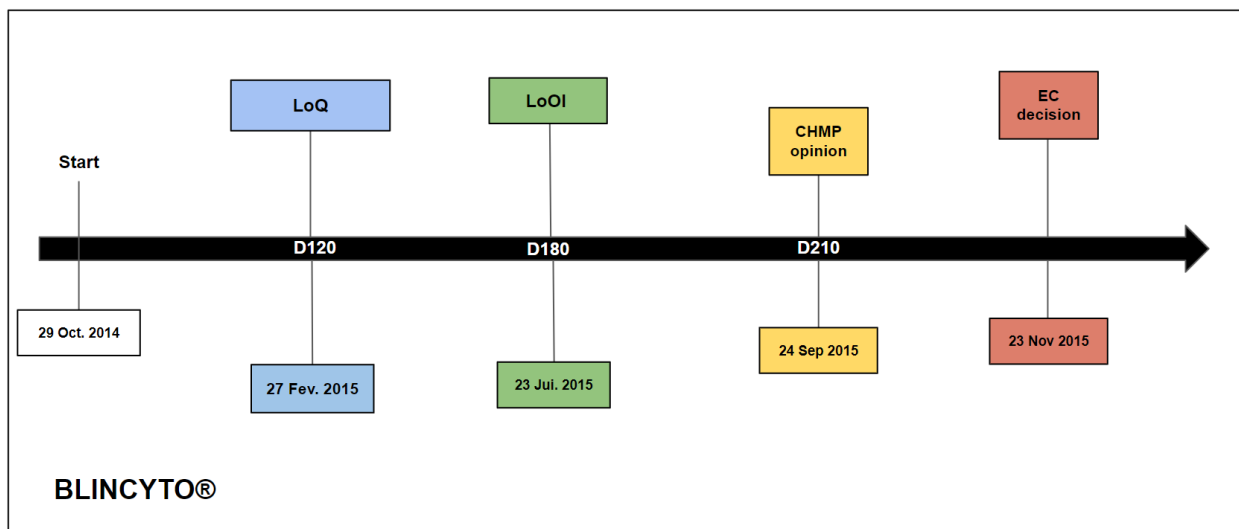


Figure 17 : Aperçu de l'évaluation de la demande initiale d'AMM de BLINCYTO® avec les étapes clés de la procédure.

2.2.2. Conversion de l'AMM conditionnelle (variation de type II) [62]

En Novembre 2016, Amgen a déposé une variation de type II afin de remplir les obligations spécifiques liées à l'AMM conditionnelle obtenue en Novembre 2015, et ainsi obtenir une autorisation totale.

Pour cela, le laboratoire a soumis, comme convenu avec le CHMP, les données de l'étude TOWER de phase III dans laquelle les patients ont été randomisés (ratio 2:1 en faveur du bras expérimental) soit dans le bras blinatumomab, soit dans le bras contrôle utilisant la chimiothérapie de référence (décidée par le médecin parmi quatre choix pré-spécifiés). L'objectif était de confirmer le rapport bénéfice-risque positif en faveur du blinatumomab dans une population adulte réfractaire ou en rechute atteinte de leucémie lymphoblastique aiguë de lignée B. Dans cette étude, la phase d'induction consistait pour les 405 patients en l'administration de blinatumomab ou de chimiothérapie pendant deux cycles, puis une phase de consolidation comprenant jusqu'à trois cycles supplémentaires, pour enfin finir sur un suivi durant une période d'un an (figure 18). De même que dans l'étude pour l'AMM initiale, le blinatumomab était administré ici en perfusion intraveineuse continue progressivement, avec d'abord 9 µg/jour durant la première semaine puis

28 µg/jour les jours et cycles suivants afin de limiter le risque potentiel de CRS et d'événements neurologiques liés à l'administration de l'anticorps bispécifique. Toujours dans ce but, de la dexaméthasone IV était administrée durant la phase de screening (en option) et une heure avant le début du traitement (obligatoire), ainsi qu'une prophylaxie intrathécale (selon les recommandations nationales) dix jours avant la randomisation et après chaque cycle d'induction et de consolidation. Le critère principal d'évaluation était la survie globale et les critères principaux d'évaluation comprenaient entre autres (tableau 5) la rémission complète après un an et la survie sans événement (définis par une rechute ou le décès du patient).

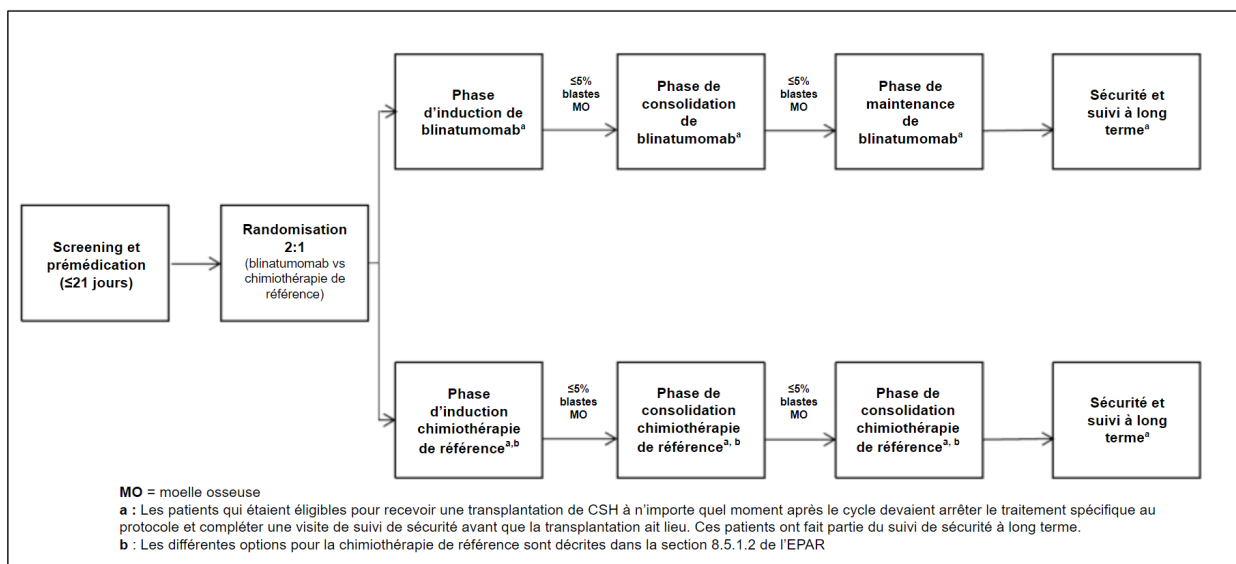


Figure 18 : Design clinique de l'étude pivot TOWER (00103311)

Dans cet EPAR, seuls sont développés les points de développement relatif à l'efficacité et sécurité clinique, le reste (préclinique, pharmacologique etc..) s'appuyant sur le dossier initial étant donné que le blinatumomab est utilisé dans les mêmes conditions. Les discussions sur ces deux aspects avec le CHMP ont tourné autour du même problème identifié lors de l'évaluation du dossier : la surmortalité des patients ayant reçu une transplantation de cellules souches hématopoïétiques après traitement par BLINCYTO®. En effet, cette procédure fut particulièrement longue (figure 19) car, bien que tous les critères d'évaluation (principal et secondaires principaux) soient significativement en faveur du blinatumomab et que le profil de sécurité soit celui attendu (aucun nouvel effet secondaire et tolérance confirmée), une analyse de cette sous-population s'est révélée

préoccupante pour l'Agence. Cela est dû au fait que le but ultime des thérapies (chimiothérapie ou blinatumomab) dans cette pathologie est de permettre aux patients d'avoir l'opportunité d'accéder à la seule thérapie curative qui est la transplantation.

Pour cette raison, le CHMP a convoqué un SAG-O en Novembre 2017 afin d'obtenir l'avis d'experts sur leur interprétation de ces données et si éventuellement une restriction d'indication (limitant aux personnes qui ne seraient jamais éligibles aux transplantations) devait être envisagée. Après réunion, les experts ont confirmé que la population étudiée dans l'essai TOWER (réfractaire ou en rechute) pourrait en théorie bénéficier d'une transplantation, mais le signal de mortalité observé dans celle-ci n'a pas pu être clairement compris. Pour les experts, bien qu'étant clair que le blinatumomab apporte sûrement un bénéfice dans le traitement de cette population, à cause du suivi trop court, les données n'ont pas permis au SAG-O de fournir des recommandations solides, demandant alors un suivi plus long au laboratoire pour évaluer les bénéfices à long terme et voir si la survie globale n'était pas que transitoire.

Ainsi, à la lumière de cette consultation et des résultats, le CHMP a recommandé en Janvier 2018 de lever le caractère conditionnel de l'AMM mais pour mieux comprendre la sécurité dans la population recevant une transplantation après traitement par BLINCYTO®, le laboratoire s'est engagé à fournir les données suivantes :

- Rouvrir, malgré les difficultés reconnues par le CHMP que cela engendre, l'étude 00103311 de phase III (TOWER) afin d'effectuer un suivi plus long des patients pour voir si la survie globale est confirmée ainsi que la sécurité à long terme.
- Comme le design de l'étude pivot n'était pas adéquat pour évaluer spécifiquement l'impact du blinatumomab comparé à la chimiothérapie de référence sur la transplantation de cellules souches hématopoïétiques, le laboratoire doit fournir les résultats de l'étude 20170610 allant dans ce sens. Le rapport final de l'étude est attendu pour Avril 2025, avec un rapport intermédiaire devant être soumis au deuxième trimestre 2022.

Bien qu'étant l'autorité ultime contrôlant la prise de décision, la Commission Européenne a, fait rare, réalisé une demande de clarification entraînant une révision de l'opinion du CHMP en Mars 2018. Les raisons motivant cette demande ne sont cependant pas publiques, mais elle a entraîné un retard conséquent sur la prise de décision qui n'a eu lieu qu'en Juin de la même année.

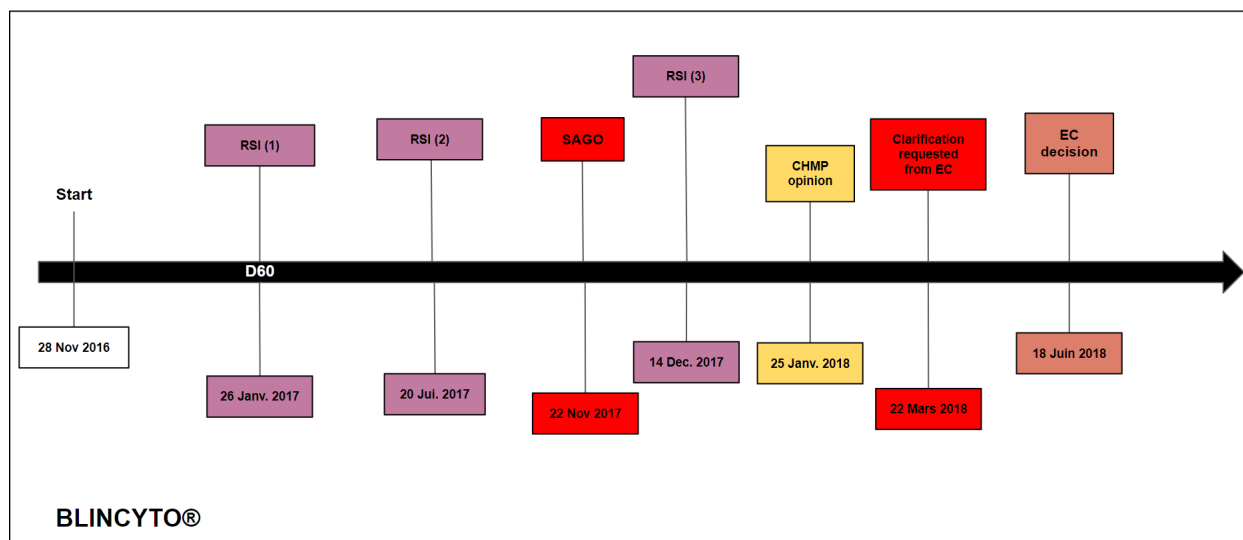


Figure 19 : Aperçu des étapes clé de la procédure de variation de type II de BLINCYTO®.

2.3. RYBREVANT® (amivantamab) [63]:

En 2020, Janssen-Cilag a soumis le dossier du RYBREVANT® pour approbation dans le cancer du poumon non à petites cellules. Avant cette soumission, le demandeur a formulé une requête pour que son produit soit évalué en suivant un calendrier accéléré, ce qui a été refusé par le CHMP justifiant que la molécule ne pouvait pas se revendiquer d'intérêt majeur pour la santé publique, ceci étant dû notamment au design de l'étude pivot ainsi que l'impact incertain de l'amivantamab sur la survie sans progression. D'autre part, le demandeur a souhaité que le CHMP considère une AMM conditionnelle pour son produit, estimant remplir les conditions tant sur les aspects concernant la maladie visée que sur les aspects concernant la molécule.

Pour justifier de l'indication demandée, le laboratoire a soumis les données de son étude pivot CHRYSALIS, un essai de phase I évaluant l'amivantamab en monothérapie chez des patients adultes atteints d'un cancer avancé ou métastatique du poumon non à petites cellules. L'étude a consisté en deux parties (figure 20) avec dans un premier temps plusieurs doses qui ont été testées afin de déterminer la plus adéquate à utiliser dans la deuxième partie, cette dernière étant testée

ensuite chez un nombre de patients plus important avec différentes mutations liées à l'EGFR. Pour la demande d'AMM, seuls les patients de la cohorte avec mutation d'insertion dans l'exon 20 de l'EGFR ayant été traités par chimiothérapie au préalable répondaient aux critères d'inclusion. Ce sont donc 81 patients qui furent initialement considérés lors du dépôt du dossier, ce nombre fut augmenté à 114 durant la procédure car le demandeur a fourni des données complémentaires actualisées. Initialement, la dose de 1050 mg avait été identifiée comme celle recommandée pour la partie 2 mais des données complémentaires (notamment pharmacocinétiques et pharmacodynamiques) ont conduites à une modification de celle-ci en fonction du poids du patient (1050 mg pour les patients <80 kg et 1400 mg pour ceux \geq 80 kg). Afin de limiter les risques de réactions liées à la perfusion, la première dose était divisée en deux, et plusieurs traitements étaient administrés en prophylaxie (diphényhydramine, paracétamol, glucocorticoïdes IV).

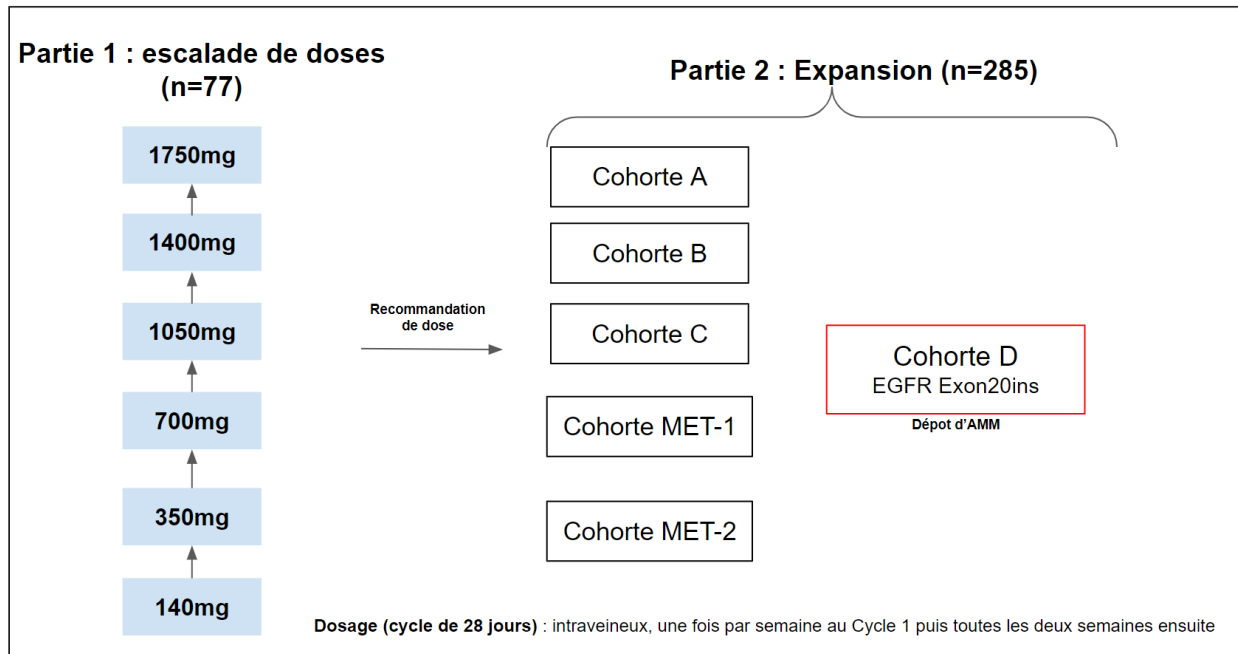


Figure 20 : Design de l'étude pivot CHRYSALIS.

La population d'intérêt pour cette AMM est décrite dans l'EPAR comme sous-étudiée dans les études cliniques de phase III donc afin de compléter les données de l'étude pivot, le laboratoire a soumis également celle d'une étude de cohorte rétrospective de données en vie réelle (real world data ou RWD). Les RWD sont définies comme des données d'observation stockées dans des répertoires tels que des dossiers de santé électroniques ou des registres de maladies et leur utilisation correcte (beaucoup de critères sont à respecter pour éviter les biais et permettre la comparabilité des données) peut conforter les résultats à disposition et donc faciliter la prise de décision pour les autorités de santé dans leur but d'autoriser de meilleurs médicaments pour les patients [64]:

- Étude NSC1002 :
 - Cet essai a été conduit en utilisant les données de demande de remboursement et les dossiers de santé électroniques de patients américains étant en seconde ligne de traitement pour leur cancer avancé du poumon non à petites cellules, incluant ceux avec mutation d'insertion dans l'exon 20 de l'EGFR.
 - Les critères d'utilisation utilisés dans cet essai étaient la survie globale et la survie sans progression en vie réelle.

Lors de l'évaluation du dossier, les objections majeures du CHMP étaient principalement en rapport avec l'étude pivot :

- Concernant les aspects chimiques, pharmaceutiques et biologiques :
 - Tous les aspects ont été bien décrits selon le CHMP.
- Concernant les aspects non cliniques :
 - Une remarque positive est à noter dans cette section puisque suite à la soumission de données par le demandeur, le CHMP suggère que l'anticorps bispécifique induit un blocage des récepteurs plus efficaces que les deux anticorps monospécifiques mélangés.
- Concernant la pharmacologie clinique :

- Le modèle pharmacocinétique de population a été utilisé pour comparer les différents paramètres pour recommander la dose à utiliser en partie 2 en fonction du poids, cependant le modèle de covariable n'a pas été considéré complètement adéquat par le CHMP, limitant les comparaisons. Malgré ces quelques limitations, l'Agence a considéré les données suffisantes pour l'approbation du dossier.
- Concernant l'efficacité clinique :
 - Tout d'abord le CHMP a relevé que l'étude pivot s'apparente plutôt à une étude exploratoire à cause de plusieurs points critiques comme le manque de pré-spécification des hypothèses d'efficacité, les inconsistances entre le protocole et le plan d'analyses statistiques, ou encore le changement de critères d'évaluation primaire et secondaires en fonction des résultats. Ce sont des problèmes qui auraient posé question sur l'intégrité des données pour une étude de Phase III voire entraîner une inspection par l'EMA.
 - L'étude pivot ne contenant qu'un seul bras, seul l'ORR peut être considéré comme pertinent en tant que critère d'évaluation de l'efficacité en reflétant une relation entre le médicament et l'effet imputable. Ainsi les critères d'évaluation comme la survie sans progression, la survie globale et les taux de bénéfices cliniques (rémission complète, rémission partielle, maladie stable) sont uniquement considérés par le CHMP comme apportant une contextualisation.
 - Aussi, le nombre limité de patients, malgré l'ajout de données en cours de procédure par le demandeur, a été perçu comme une faiblesse par le CHMP ceci étant balancé avec des résultats relativement homogènes entre les dates limites d'extraction des données. Le CHMP suggère d'ailleurs au laboratoire de soumettre toutes nouvelles données disponibles issues de l'étude pivot, pour pallier à l'immaturation de celles soumises pour la demande d'AMM.
 - Une objection majeure également soulevée par l'Agence était un potentiel biais de sélection car le demandeur a choisi parmi un nombre important de cohortes (figure 20), celle avec le meilleur taux de réponse globale ce qui peut donner lieu à une surestimation.
 - Concernant l'étude RWD, le seul commentaire était que certains patients ont reçu des traitements auxquels ils n'étaient pas répondeurs d'après leur mutation.

- Concernant la sécurité clinique :
 - Bien que l'absence de contrôle limite l'interprétation des résultats, le CHMP les a considérés acceptables en considération de l'indication demandée. Les données supplémentaires fournies en cours d'évaluation (dix mois plus tard) ont été similaires à celles du dossier initial.
 - Les effets secondaires ont été consistants avec ceux attendus lors de l'usage de molécules bloquant les voies de l'EGFR et du MET. Les plus communs étant les réactions liées à la perfusion, les formes les plus sévères étant a priori limitées grâce au prétraitement, et gérées par interruption ou modification du traitement.

Dans le contexte d'une demande d'AMM conditionnelle, le CHMP a imposé l'obligation spécifique suivante au laboratoire :

- Pour convertir l'AMM conditionnelle en AMM complète, le laboratoire doit soumettre les résultats de l'étude 61186372NSC3001, un essai randomisé de phase III comparant l'amivantamab en combinaison avec une thérapie carboplatine-pemetrexed versus carboplatine-pemetrexed seul en première ligne chez des patients avec un cancer du poumon non à petites cellules avancé ou métastatique avec mutation d'insertion dans l'exon 20 de l'EGFR, avant le 31 mars 2023.

En décembre 2021, la Commission Européenne a approuvé conditionnellement RYBREVANT®, en élargissant légèrement la portée de l'indication en passant de "chimiothérapie" à simplement "thérapie", le CHMP justifiant qu'aucun impact sur l'activité de RYBREVANT® soit anticipé avec cette modification :

- Cancer bronchique non à petites cellules avancé, avec mutation d'insertion dans l'exon 20 de l'EGFR, chez l'adulte après échec d'un traitement à base de sels de platine et en situation de dernier recours.

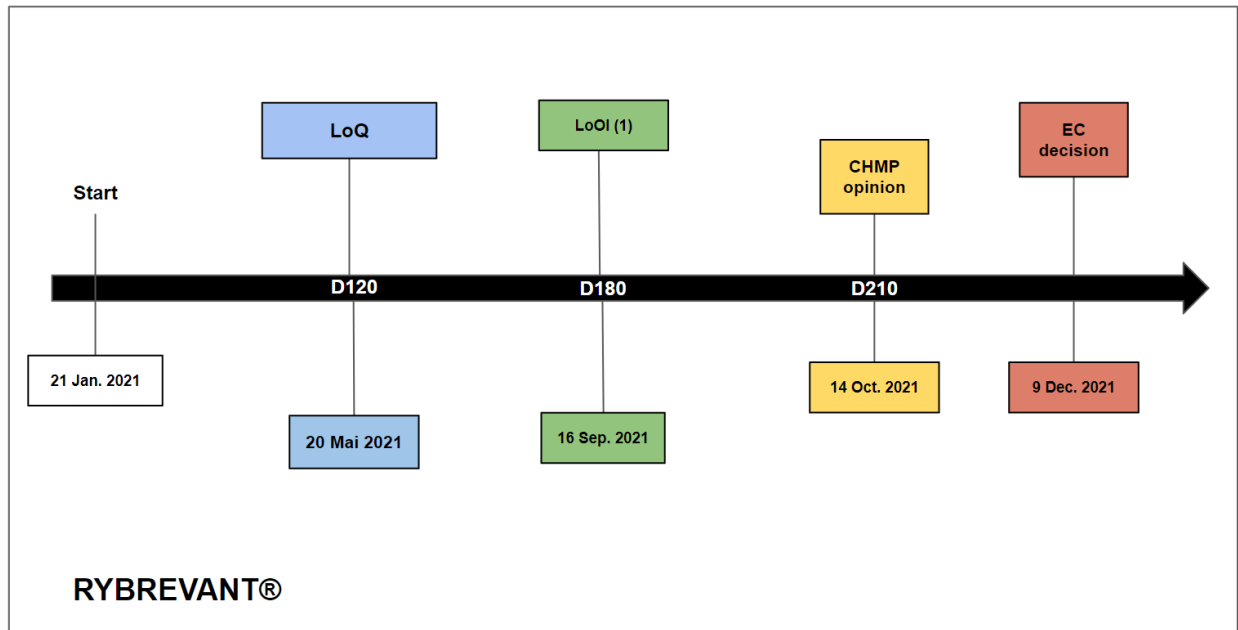


Figure 21 : Aperçu de l'évaluation de RYBREVANT® avec les étapes clés de la procédure.

2.4. LUNSUMIO (mosunetuzumab) [65] :

En Septembre 2021, Roche a soumis une demande d'AMM pour son anticorps bispécifique le LUNSUMIO® (mosunetuzumab) dans le lymphome folliculaire (FL), un type de lymphome non-hodgkinien. Une particularité pour cette molécule est qu'elle a reçu une désignation orpheline en Novembre 2021 soit après le début de l'évaluation du dossier par le CHMP. Ceci n'est pas habituel car dans le cas présent, le laboratoire ne peut pas prétendre aux avantages conférés par cette désignation lors du développement de la molécule (généralement la demande de désignation est faite très tôt dans le développement). Le scénario rencontré est possible car les demandeurs ont jusqu'à la date (exclue) de soumission de leur demande d'AMM pour déposer leur dossier de désignation orpheline. Roche a également obtenu la possibilité d'avoir une évaluation du CHMP selon un calendrier accéléré car le produit a été considéré comme pouvant être d'intérêt majeur pour la santé publique au vu de son mécanisme et de la maladie traitée. Enfin, une demande d'AMM conditionnelle a été fournie par le laboratoire en justifiant que les critères étaient respectés.

Pour ce faire, Roche a soumis les données de son étude pivot GO29781 qui initialement est une phase I/Ib changée en phase I/II (dans la version 12 du protocole) qui évalue la sécurité, l'efficacité et la pharmacocinétique d'une escalade de doses de mosunetuzumab en monothérapie ou en combinaison avec de l'atezolizumab chez des patients en rechute ou réfractaires atteints d'un lymphome non-hodgkinien de type B et de leucémie lymphoïde chronique. Pour cette application, seuls les patients FL ont été pris en considération, étant donné l'indication visée. L'étude s'est fait en deux parties pendant lesquelles deux groupes ont été constitués : d'abord avec plusieurs doses fixes ont été testées sur un petit nombre de patients (groupe A) puis, sur la base de ces résultats, deux posologies ont été retenues pour être testées sur un plus grand nombre de patients (groupe B), une seule étant retenue pour l'enregistrement (tableau 4). En tout, ce sont les données de 90 patients qui ont été soumises, avec comme critère principal d'évaluation le taux de rémission complète (évalué par un comité indépendant), les critères secondaires comprenant la survie sans progression, la survie globale, la durée de réponse ou encore le taux de réponse global (tableau 5). Afin de prévenir les syndromes de libération cytokiniques, les patients devaient obligatoirement prendre un corticostéroïde IV, un antihistaminique et un antipyrétique pour avant les cycles 1 et 2. Le tocilizumab, un anticorps monoclonal se fixant au récepteur à l'interleukine-6, était utilisé en traitement de certains CRS (utilisation hors AMM, seulement approuvé pour le traitement des CRS liés aux cellules CAR-T).

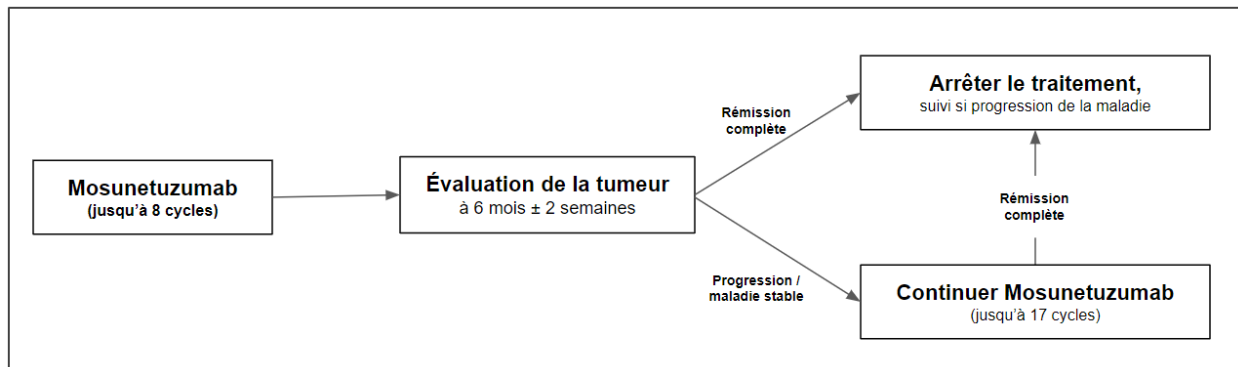


Figure 22 : Schéma du traitement par mosunetuzumab dans l'étude pivot GO29781.

Afin de compléter et de contextualiser les données de son dossier, Roche a fourni les informations suivantes :

- Comme une seule étude contenant différents sous-groupes a été soumise par le demandeur, ce sont les résultats d'une autre cohorte de patients qui ont été présentés. Ces derniers recevaient aussi du mosunetuzumab en monothérapie mais avec un dosage différent que dans la cohorte pivot (tableau 4) puisque la posologie utilisée était 1/2/13,5 mg.
- Une revue systématique de la littérature a été réalisée par le demandeur incluant les thérapies approuvées et non approuvées afin de réaliser des comparaisons indirectes.
- Lors de l'évaluation, suite à une demande d'information supplémentaire par le CHMP, le laboratoire a fourni les résultats issus de plusieurs études utilisant des RWD (dont deux conduites par Roche) chez des patients atteints de lymphome folliculaire en rechute ou réfractaire ayant reçus au moins deux lignes de thérapies systémiques.

Jour de traitement		Dose de mosunetuzumab	Débit de perfusion
Cycle 1	Jour 1	1 mg	Perfusions pendant au moins 4 heures
	Jour 8	2 mg	
	Jour 15	60 mg	
Cycle 2	Jour 1	60 mg	Perfusions pendant 2h si bien tolérées Cycle 1
Cycles 3+	Jour 1	30 mg	

Tableau 4 : Posologie retenue pour la demande d'AMM de LUNSUMIO en lymphome folliculaire.

Durant l'évaluation de LUNSUMIO®, les principales inquiétudes du CHMP ont été en relation avec le design de l'étude pivot :

- Concernant les aspects chimiques, pharmaceutiques et biologiques :
 - La documentation fournie était en adéquation avec les guidelines ICH et européennes, aucune objection majeure ne fut soulevée.
- Concernant les aspects non cliniques :
 - La pharmacologie du mosunetuzumab a été considérée comme bien décrite par le CHMP, avec les profils de sécurité et d'efficacité bien documentés.
- Concernant la pharmacologie clinique :

- Le programme a été considéré comme adéquat, le modèle d'analyse de pharmacocinétique de population a notamment montré une bonne performance de prédiction.
- Concernant l'efficacité clinique :
 - A propos du critère principal d'évaluation, le CHMP a reconnu que dans le contexte d'un essai à simple bras, la rémission complète peut être considérée comme un paramètre de substitution à la survie sans progression notamment dans le lymphome folliculaire. Cependant n'étant pas le critère principal de référence établi dans cette pathologie, la durée de réponse est un critère important à prendre en compte. En conséquence, des données supplémentaires de suivi ont été requises par le CHMP durant l'évaluation.
 - La revue systématique de la littérature performée par le demandeur est vue par l'Agence comme source de biais bien connus, notamment au niveau de la population étudiée, celle en lymphome folliculaire étant particulièrement hétérogène. Malgré cela, en raison de son effet positif important, ces comparaisons indirectes ont été considérées comme pertinentes pour montrer l'efficacité et la sécurité du mosunetuzumab et du bénéfice immédiat qu'il pouvait apporter dans cette population de patients ayant des besoins non satisfaits. Le CHMP a regretté l'absence de contrôle utilisant des RWD ayant les mêmes critères d'inclusion que l'étude pivot car cela aurait permis d'outrepasser ces limites. Cependant, le laboratoire a fourni durant l'évaluation les résultats d'études basées sur des RWD (voir plus haut), et bien que les problèmes méthodologiques empêchent toute conclusion définitive ceci a permis de vérifier la validité du seuil prédéfini de rémission complète proposé par le laboratoire pour le test de supériorité.
- Concernant la sécurité clinique :
 - Comme le temps d'observation moyen dans la cohorte d'intérêt (considérée comme limitée par l'Agence, avec seulement 90 patients) était d'environ 14 mois, le CHMP a fait rajouter au RCP que la sécurité à long terme est manquante.
 - Les CRS ont été l'effet indésirable le plus fréquemment observé, cependant la façon de les gérer en prophylaxie ou traitement a été évaluée comme satisfaisante. Cependant, les personnes sous traitement de mosunetuzumab doivent porter en

permanence une « carte patient » sur eux qui décrit les symptômes et instructions en cas de CRS, et le CHMP a rappelé l'importance d'avoir un personnel entraîné à ce type d'effet secondaire avec un accès facile aux unités de soins intensifs.

Dans le contexte d'une demande d'AMM conditionnelle, le CHMP a imposé au laboratoire de fournir les résultats de l'étude suivante, ayant déjà commencée, afin de mieux caractériser la sécurité et l'efficacité du mosunetuzumab :

- Étude GO42909 : un essai de phase III randomisé évaluant la survie sans progression chez des patients atteints de lymphome folliculaire réfractaire ou en rechute après une thérapie systémique prenant soit du mosunetuzumab en combinaison avec du lenalidomide soit du rituximab en combinaison avec du lenalidomide.

En Juin 2022, la Commission Européenne a délivré une autorisation de mise sur le marché conditionnelle à LUNSUMIO®, en acceptant l'indication initialement demandée par Roche :

- LUNSUMIO® en monothérapie est indiqué dans le traitement de patients adultes avec un lymphome folliculaire en rechute ou réfractaire après au moins deux thérapies systémiques.

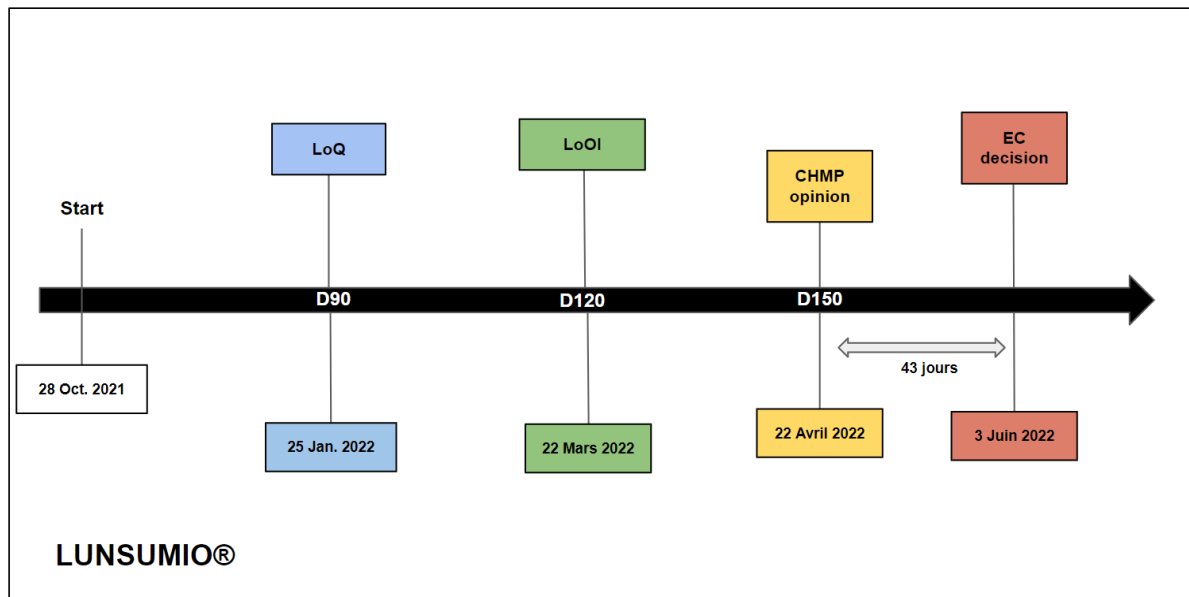


Figure 22 : Aperçu de l'évaluation de LUNSUMIO® avec les étapes clés de la procédure

3. Comparaison des procédures

3.1. Indications

Tout d'abord, il est intéressant de noter que la moitié des quatre anticorps bispécifiques approuvés visent des tumeurs solides bien que le développement clinique et non-clinique soit beaucoup plus orienté en faveur des hémopathies malignes. Ensuite, au regard des indications approuvées, il est indéniable de constater que les anticorps bispécifiques offrent une véritable alternative thérapeutique à des patients ayant épuisé l'arsenal disponible dans des maladies mortelles. En effet, REMOVAB® (lorsqu'il était approuvé) était indiqué lorsque le traitement de référence n'était plus disponible, et BLINCYTO®, RYBREVANT® et LUNSUMIO® ont montré des résultats chez des patients réfractaires ou en rechute après plusieurs lignes de traitement. La pertinence des anticorps bispécifiques est aussi démontrée par le fait que deux d'entre eux sont désignés comme médicaments orphelins (désignation de BLINCYTO® toujours maintenue après plusieurs variations, la dernière datée de Juillet 2021) et que sur les quatre procédures, trois ont reçu une AMM conditionnelle qui n'est délivrée, entre autres, que lorsque le médicament répond à un besoin médical non satisfait et qu'il permet un bénéfice immédiat pour les patients. LUNSUMIO® a même fait l'objet d'une procédure accélérée en justifiant d'un intérêt majeur pour la santé publique. Aussi, grâce à l'étude confirmatoire de BLINCYTO® (seule étude de phase III randomisée et contrôlée par concurrent actif) qui comprenait dans ses critères d'évaluation secondaires l'impact sur la qualité de vie, on apprend que son administration permet un allongement significatif de la période avant que celle-ci ne se dégrade (8.1 mois vs 1 mois pour la chimiothérapie de référence), ce qui vient appuyer le caractère révolutionnaire de cette molécule. Ce paramètre a été mesuré chez les patients traités par mosunetuzumab mais les données n'ont pas été considérées comme interprétables à cause du design.

3.2. Stratégies de demande de mise sur le marché

A l'exception de REMOVAB® qui a fait un dépôt d'AMM en s'appuyant une étude pivot au design clinique relativement conventionnel (essai de phase II/III contrôlé et randomisé), les trois

autres produits ont suivi des stratégies de mise sur le marché très agressives et risquées. Ces dernières, peu communes (voir ci-dessous), ont fait l'objet d'avis scientifiques (d'après les EPAR respectifs) où les laboratoires ont pu aborder les aspects cliniques de leur développement auprès de l'EMA ou d'agences nationales (d'après les EPARs respectifs).

Tout d'abord BLINCYTO®, RYBREVANT® et LUNSUMIO® ont tous fait reposer leur dossier d'AMM sur une étude pivot ne contenant qu'un seul bras (donc non contrôlée et non randomisée), de phase I à II. Au-delà du fait que ces phases-là soient à caractère normalement exploratoire (objection majeure faite par le CHMP lors de l'évaluation de RYBREVANT®), ce design d'étude n'est pas recommandé par les guidelines européennes. Ainsi, tant dans la Guideline sur l'évaluation clinique des produits anticancéreux (EMA/CHMP/205/95 Rev.6) ou dans la Guideline sur les essais cliniques dans les petites populations (CHMP/EWP/83561/2005), les groupes contrôles internes sont considérés d'une importance majeure et leur absence compromet la fiabilité des études cliniques, cette absence devant être dûment justifiée. Pour montrer que ce design avec un seul bras dans le cadre d'une étude pivot est rare, une recherche sur les AMM initiales dans les hémopathies malignes délivrées entre 2006 et 2021 a été effectuée (annexe 1), et seulement quatorze procédures ont correspondu (seulement une s'appuyant sur une phase pivot I/II, le reste étant au moins des phases II) montrant bien le caractère exceptionnel de ce design.

Dans les guidelines susmentionnées, il est fait mention que lorsqu'un bras contrôle n'est pas possible au sein de l'étude, d'autres approches peuvent être acceptées dès lors que la sécurité des patients est garantie. Ainsi, dans le cas d'une étude à simple bras, la contextualisation des résultats est capitale en utilisant par exemple des données historiques pour avoir un contrôle externe. Ceci est traduit dans les procédures des trois produits qui ont appuyé leur dossier en fournissant soit des revues systématiques de la littérature soit des études issues de données en conditions de vie réelle (tableau 5). Cependant dans la guideline il est précisé que les études réalisant des comparaisons indirectes présentent des limitations et qu'une justification pour l'utilisation de celles-ci doit être fournie, ce qui explique les réticences du CHMP vis-à-vis de ces dernières lors des évaluations (voir section 2).

	Produit	Phase de l'étude pivot	Design	Nombre de patients (AMM)	Critère principal d'évaluation	Critères secondaires d'évaluation	Prémédication	Escalade de dose	Revue de littérature / RWD
AMM initiale	REMOVAB®	II/III	Contrôlé et randomisé	258	Survie sans ponction d'ascite	- OS, - PFS, - Réponse tumorale, - Evaluation des signes d'ascites et des symptômes	Paracétamol	Oui	Non
	BLINCYTO®	II	Simple bras	189	CR/CRh	- CR rate, - CRh rate, - PFS, - OS	Dexaméthasone IV	Oui	Oui
	RYBREVANT®	I	Simple bras	114	ORR	- PFS, - DOR, - OS, - CBR	Paracétamol, Diphényldramine, Dexaméthasone / Méthylprednisolone IV	Oui	Oui
	LUNSUMIO®	I/II*	Simple bras	89	CR rate by IRF	- CR rate by INV, - ORR, - DOR, - OS, - PFS, - DOR	Paracétamol, Diphényldramine, Dexaméthasone / Méthylprednisolone IV	Oui	Oui
Variation type II	BLINCYTO®	III	Contrôlé et randomisé	405	OS	- CR - CR/CRh/CRi - EFS	Dexaméthasone IV, Prophylaxie intrathécale	Oui	Non

Tableau 5 : Résumé des caractéristiques des études pivots pour chaque produit, ainsi que si celle-ci était accompagnée d'une revue systématique de la littérature ou d'étude basée sur des données en conditions de vie réelles.

Partie intégrante de la stratégie dans la soumission de leur dossier, les trois laboratoires ont fait une demande anticipée d'AMM conditionnelle. En 2016, l'Agence Européenne du Médicament a publié un rapport sur les 10 premières années d'expérience de ce nouveau type d'autorisation [66], regroupant alors 30 AMM conditionnelles délivrées au moment de sa publication toutes aires thérapeutiques confondues. Celui-ci permet d'apprendre que lorsqu'une demande d'AMM conditionnelle est formulée au début de la procédure, le temps d'évaluation est réduit significativement (figure 24). Afin d'avoir des données plus récentes sur les CMA, une recherche a été conduite pour déterminer les AMM conditionnelles délivrées entre Mai 2019 et Avril 2022 en oncologie uniquement. Ainsi, il s'agit de 19 procédures (annexe 2) qui correspondent à ces critères, ce qui traduit une augmentation significative de l'utilisation de cette voie d'enregistrement (6 par année contre 3 par année après les dix premières années). Aussi, alors que la proportion de demandes de CMA faites au début de l'évaluation était de d'environ 47% au moment du rapport, celle-ci est de 67% pour les données les plus récentes en oncologie, démontrant la familiarisation de plus en plus importante des laboratoires avec cette procédure et qu'ils ont assimilé que cette anticipation était corrélée à une diminution du temps d'évaluation.

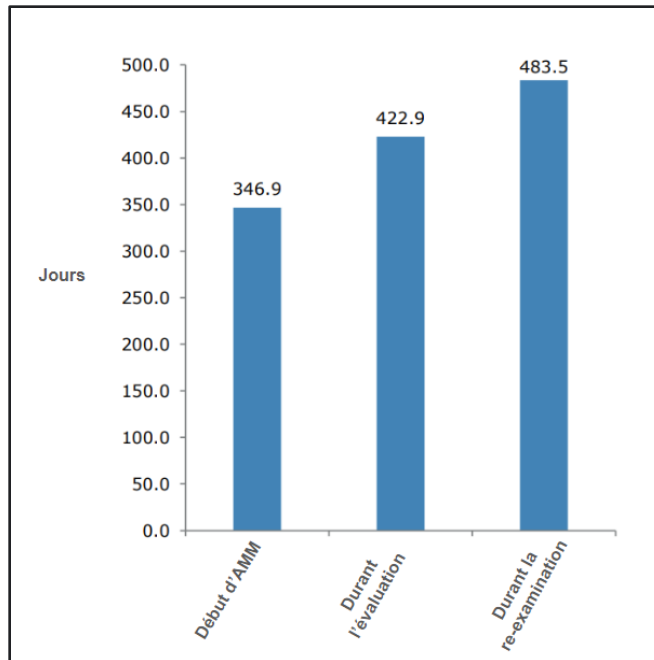


Figure 23 : Comparaison du temps d'évaluation en fonction du moment de la procédure auquel l'AMM conditionnelle est envisagée

Le nombre de patients inclus dans les études pivots est également un enjeu dans ces procédures d'AMM. En effet, comme le montre le tableau 6, celui-ci diminue au fur et à mesure des procédures, ce qui est d'abord une prise de risque car cela a un impact sur la puissance des résultats de l'essai clinique, tant pour l'efficacité que la sécurité. D'autre part, pour les deux derniers médicaments (RYBREVANT® et LUNSUMIO®) pour lesquelles le nombre de patients est particulièrement faible, on peut relever un aspect stratégique dans l'approche de la soumission des données puisqu'au lieu de soumettre un dossier complet, les deux laboratoires ont soumis des données partielles qu'ils ont complétées durant la procédure, gagnant ainsi du temps sur l'initiation de l'évaluation.

3.3. Évolution de la sécurité autour des anticorps bispécifiques

Ce qui est notable dans l'analyse de ces différentes procédures est également l'approche avec laquelle les laboratoires ont traité les effets indésirables liés aux anticorps bispécifiques.

Comme mentionné dans la partie 1 (section 1.4.), les syndromes de libération cytokiniques sont reconnus comme les effets secondaires les plus fréquents pour cette classe médicamenteuse, ceci étant confirmé dans les études cliniques allant du REMOVAB® au LUNSUMIO®. La principale contrainte liée à ces effets indésirables est que les patients ayant des CRS présentent des syndromes non spécifiques qui peuvent être confondus avec d'autres troubles inflammatoires ou des réactions liées à la perfusion, ce qui a un impact sur la définition finale du profil de sécurité du médicament à cause de cette source de confusion. Le CHMP lui-même mentionne dans l'EPAR de BLINCYTO® que ces dernières sont indistinguables des CRS et encore plus parlant, dans le cas du RYBREVANT® seules sont relevées des "réactions liées à la perfusion" dans l'EPAR, sans mention de CRS. La manière de prévenir ces effets indésirables a considérablement évolué dans le temps (tableau 5), passant d'un simple paracétamol avant l'administration de catumaxomab à une combinaison de corticostéroïdes, antihistaminique et paracétamol avant une injection de mosunetuzumab. Une autre technique pour diminuer le risque de CRS, commune dans toutes les études pivots, était de fractionner la dose de bispécifique en augmentant celle-ci au cours des cycles de traitement. Enfin, la façon de les traiter a également été améliorée puisque pour REMOVAB®, que ce soit dans l'EPAR ou dans le RCP, il est uniquement précisé que cela peut arriver et ce malgré une prophylaxie, alors que pour LUNSUMIO® des consignes approuvées par le CHMP sont prescrites dans le RCP. Par ailleurs, pour les deux médicaments traitant les hémopathies malignes, une carte patient a été convenue avec le CHMP pour toute personne recevant ces traitements.

Une autre spécificité qui peut être notée au niveau de la sécurité est la présence des événements indésirables neurologiques quasiment exclusifs à BLINCYTO®. Ce type d'effets secondaires est non reporté dans les EPAR du REMOVAB® ainsi que RYBREVANT®, quand pour LUNSUMIO® reporte seulement 6.4% d'événements indésirables neurologiques graves (contre 16.4% pour le blinatumomab). Dans son étude pivot, Amgen est le seul laboratoire à identifier ces derniers comme "événements indésirables d'intérêts" à cause de leur fréquence et gravité. Les conséquences sont les suivantes pour BLINCYTO®:

- Ces effets indésirables sont listés en premier dans les risques importants identifiés et sont sujet à une mesure de minimisation des risques à savoir du matériel éducatif à destination des médecins, infirmières et patients.

- Cet événement indésirable est clairement identifié dans le résumé des caractéristiques du produit et dans la notice pour patient.

Ce dernier point montre qu'il y a encore beaucoup d'inconnues dans la caractérisation du profil de sécurité des anticorps puisque jusqu'ici le rationnel n'est pas clair sur l'attribution de ces effets indésirables qui pourraient être liés à la structure du blinatumomab (radicalement différente des trois autres, voir partie 1 section 1.3.2.1.), la maladie visée (hémopathies malignes potentiellement plus favorables à ce genre d'effets) ou bien d'autres facteurs.

3.4. Évaluation par le CHMP

Comme vu dans les parties consacrées à chaque produit, les designs proposés des études cliniques pivots (pour les demandes d'AMM initiales) ont été les principales sources d'objections majeures soulevées par le CHMP (tableau 7). Pour REMOVAB®, ce sont de nombreux biais mais également des résultats peu significatifs qui ont remis en question le rapport bénéfice risque du médicament, le CHMP faisant même appel à un SAG-O pour obtenir des recommandations. Concernant les trois autres médicaments, l'absence de bras contrôle a été au cœur de chaque discussion sur l'efficacité et la sécurité clinique pour les raisons évoquées dans la partie 2.3.1. Pour RYBREVANT®, ceci fut même la raison évoquée par le CHMP pour refuser une évaluation selon un calendrier accéléré. Aussi, malgré l'apport de contrôles externes, que ce soit par des revues systématiques de la littérature ou bien des études à base de RWD, dans chaque procédure le CHMP rappelle les limites de ces dernières et limite leur interprétation presque exclusivement à de l'information annexe, ce qui n'a pas aidé à diminuer le temps d'évaluation.

	Produit	Indication (catégorie)	Médicament orphelin	Procédure accélérée	AMM conditionnelle	Explication orale	SAG-O	Indication modifiée	Évaluation (jours)*
AMM initiale	REMOVAB®	Ascites malignes (tumeurs solides)	Non	Non	Non	Oui	Oui	Oui (restriction)	483
	BLINCYTO®	LLA (hémopathie maligne)	Oui	Non	Oui**	Non	Non	Non	410
	RYBREVANT®	Cancer du poumon non à petite cellule (tumeurs solides)	Non	Refusée	Oui**	Non	Non	Oui (élargie)	351
	LUNSUMIO®	Lymphome folliculaire (hémopathie maligne)	Oui	Oui	Oui**	Non	Non	Non	266
Variation type II	BLINCYTO®	LLA (hémopathie maligne)	Oui	N/A	Non	Non	Oui	Non	567

*Entre la soumission et décision de la commission européenne
** Demandée dès la soumission de l'AMM

Tableau 6 : Comparaison des principales caractéristiques de la procédure d'évaluation suivie par chaque anticorps bispécifique.

Cependant, le caractère conditionnel de l'AMM demandée ainsi qu'une caractérisation pharmacologique et non clinique d'une qualité en constante amélioration pour les anticorps bispécifiques (tableau 7) rassure l'Agence Européenne du Médicament car on peut voir une diminution significative (tableau 6) du temps d'évaluation des demandes initiales d'AMM menant à une approbation, au fur et à mesure que le profil clinique de ces nouvelles molécules soient mieux connues. Ceci étant à contrebalancer avec la longueur exceptionnelle de la procédure de conversion d'AMM conditionnelle de BLINCYTO® dont l'évaluation (voir partie 2.2.2) montre que tous les mécanismes d'action des anticorps bispécifiques ne sont pas encore clairs.

Produit	Pharmacologie clinique	Aspects non cliniques	Efficacité clinique	Sécurité clinique
REMOVAB®	Oui	Oui	Oui	Oui
BLINCYTO®	Non	Non	Oui*	Oui*
RYBREVANT®	Non	Non	Oui*	Oui*
LUNSUMIO®	Non	Non	Oui*	Oui*

*Objections qui ont entraîné des obligations spécifiques sujettes à l'approvisionnement de données supplémentaires

Tableau 7 : Présence ou non d'objections majeures selon les différents aspects du développement de chaque molécule

Conclusion :

Les anticorps bispécifiques sont définitivement des molécules prometteuses notamment en oncologie où le besoin de nouvelles thérapies est constant pour faire face aux nombreux challenges rencontrés en pratique comme les résistances aux thérapies existantes. La valeur de ces derniers aux yeux de l'industrie pharmaceutique ne cesse de croître, avec un nombre de molécules en cours de développement préclinique et clinique toujours plus important. Il est attendu que de nombreux anticorps bispécifiques arrivent sur le marché avec des ventes estimées à presque quatre milliards de dollars en 2027, malgré que la compétition en oncologie soit extrêmement poussée [50], notamment avec les CAR-Ts arrivant au même moment. Ce travail a présenté seulement quelques plateformes de production de ces molécules d'intérêt mais la recherche est en amélioration constante pour trouver de nouvelles techniques qui permettent d'améliorer les caractéristiques des futurs anticorps bispécifiques à venir mais aussi leur capacité de production à échelle industrielle. Bien que l'intégralité des quatre produits ayant fait une demande d'AMM l'ait obtenue, le recul n'est pas encore assez important pour les caractériser complètement en condition réelles puis l'un d'entre eux a été retiré du marché pour des raisons commerciales (REMOVAB®) et deux d'entre eux n'ont été approuvés que très récemment (RYBREVANT® en Décembre 2021 et LUNSUMIO® en Juin 2022) et sont encore sous AMM conditionnelles. Ici, le champ d'application s'est porté uniquement sur le marché européen mais un travail comparatif pourrait être réalisé afin de voir, par exemple, comment la Food and Drug Administration (l'autorité d'évaluation des médicaments aux Etats-Unis) a reçu l'arrivée de ces médicaments. Cette dernière a publié en Mai 2021 une guideline dédiée au développement des anticorps bispécifiques [67], il sera intéressant de voir si l'EMA en fait de même dans le futur afin de guider plus précisément les laboratoires pharmaceutiques dans le développement et la préparation du dossier d'AMM de ces molécules spécifiques.

Bibliographie :

- [1] WHO. Fiches d'informations sur le cancer en 2020 [internet]. [cité 23 Mai 2022]. Disponible sur <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/39-All-cancers-fact-sheet.pdf>
- [2] Liu J.K.H, The history of monoclonal antibody development – Progress, remaining challenges and future innovations. *Ann Med Surg (Lond)*. 2014 Dec; 3(4): 113–116.
- [3] Sedykh S., Prinz V., Buneva V., Nevinsky G. Bispecific antibodies: design, therapy, perspectives. *Drug Des Devel Ther*. 2018; 12: 195–208.
- [4] Chen S., Li L., Zhang F., Wang Y., Hu Y., Zhao L. Immunoglobulin Gamma-Like Therapeutic Bispecific Antibody Formats for Tumor Therapy. *Journal of Immunology Research* Volume 2019, Article ID 4516041, 13 pages.
- [5] Kimiz-Gebologlu I., Gulce-Iz S., Biray-Avc C. Monoclonal antibodies in cancer immunotherapy. *Molecular Biology Reports* (2018) 45:2935–2940
- [6] EMA. Guideline on development, production, characterization and specification for monoclonal antibodies and related products [internet]. [Cité 25 Mai 2022]. Disponible sur: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-development-production-characterisation-specification-monoclonal-antibodies-related_en.pdf
- [7] Irani V., Guy JA., Andrew D., Beeson J.G., Ramsland P.A., Richards J.S. Molecular properties of human IgG subclasses and their implications for designing therapeutic monoclonal antibodies against infectious diseases. Volume 67, Issue 2, Part A, October 2015, Pages 171-182.
- [8] Roopenian D.C., Akilesh S. FcRn: the neonatal Fc receptor comes of age. *Nat Rev Immunol*. 2007 Sep;7(9):715-25.
- [9] Tavarozzi, R.; Manzato, E. The Role of Bispecific Antibodies in Non-Hodgkin's Lymphoma: From Structure to Prospective Clinical Use. *Antibodies* 2022, 11, 16.
- [10] Wang Q., Chen Y., Park J., Liu X., Hu Y., Wang T. et Al. Design and production of bispecific antibodies. *Antibodies* 2019, 8(3), 43.

- [11] Schuurman J, Van Ree R, Perdok GJ, Van Doorn HR, Tan KY, Aalberse RC. Normal human immunoglobulin G4 is bispecific: it has two different antigen-combining sites. *Immunology*. 1999 Aug;97(4):693-8.
- [12] Archana Thakur, Manley Huang, Lawrence G. Lum, Bispecific antibody based therapeutics: Strengths and challenges, *Blood Reviews*, Volume 32, Issue 4, 2018, Pages 339-347.
- [13] Nisonoff A, Wissler FC, Lipman LN. Properties of the major component of a peptic digest of rabbit antibody. *Science*. 1960 Dec 9;132(3441):1770-1.
- [14] Labriijn, A.F., Janmaat, M.L., Reichert, J.M. *et al*. Bispecific antibodies: a mechanistic review of the pipeline. *Nat Rev Drug Discov* **18**, 585–608 (2019).
- [15] Fan G, Wang Z, Hao M, Li J. Bispecific antibodies and their applications. *J Hematol Oncol*. 2015 Dec 21;8:130.
- [16] Brinkmann U, Kontermann RE. The making of bispecific antibodies. *MAbs*. 2017 Feb/Mar;9(2):182-212.
- [17] Frans V. Suurs, Marjolijn N. Lub-de Hooge, Elisabeth G.E. de Vries, Derk Jan A. de Groot. A review of bispecific antibodies and antibody constructs in oncology and clinical challenges. *Pharmacology & Therapeutics*, Volume 201, 2019, Pages 103-119.
- [18] Ma J., Mo Y., Tang Menglin, Shen J., Qi Y., Zhao W., Huang Y., Xu Y., Qian C. Bispecific Antibodies: From Research to Clinical Application. *Frontiers in Immunology*. 5 Mai 2021. Volume 12, article 626616.
- [19] Lindhofer H., Mocikat R., Steipe B. ,Thierfelder S. Preferential species-restricted heavy/light chain pairing in rat/mouse quadromas. Implication for a single-step purification of bispecific antibodies. *J Immunol* 1995; 155:219-225
- [20] Chames P, Baty D. Bispecific antibodies for cancer therapy: the light at the end of the tunnel? *MAbs*. 2009 Nov-Dec;1(6):539-47.
- [21] EMA. Assessment report of catumaxomab [internet]. [cité 28 Mai 2022]. Disponible sur: https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/removab-epar-public-assessment-report_en.pdf
- [22] Thakur A., Huang M., Lum L. Bispecific antibody based therapeutics: Strengths and challenges. *Blood Reviews* (2018), Volume 32, Issue 4, Pages 339-347.
- [23] Ridgway JB, Presta LG, Carter P. 'Knobs-into-holes' engineering of antibody CH3 domains for heavy chain heterodimerization. *Protein Eng*. 1996 Jul;9(7):617-21.

- [24] Giese G., Williams A., Rodriguez M. and Persson J. Bispecific antibody process development: Assembly and purification of knob and hole bispecific antibodies. *Biotechnol Progress* (2018), 34: 397-404.
- [25] European Commission. Union register of medicinal products for human use [internet]. [cité 10 Juin 2022]. Disponible sur : <https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/html/h1649.htm>
- [26] Pytlik R, Polgarova K, Karolova J, Klener P. Current Immunotherapy Approaches in Non-Hodgkin Lymphomas. *Vaccines* (Basel). 2020 Nov 27;8(4):708.
- [27] Genentech. About bispecific antibodies [internet]. [cité le 3 Juin 2022]. Disponible sur : <https://www.genentechoncology.com/development-platforms/bispecific-antibodies.html>
- [28] Klein C., Sustmann C., Thomas M., Stubenrauch K., Croasdale R., Schanzer J., Brinkmann U., Kettenberger H., Regula JT., Schaefer W. Progress in overcoming the chain association issue in bispecific heterodimeric IgG antibodies. *MAbs*. 2012 Nov-Dec;4(6):653-63.
- [29] Regula JT., Imhof-Jung S., Mølhøj M., Benz J., Ehler A., Bujotzek A., Schaefer W., Klein C. Variable heavy-variable light domain and Fab-arm CrossMabs with charged residue exchanges to enforce correct light chain assembly. *Protein Eng Des Sel*. 2018 Jul 1;31(7-8):289-299.
- [30] Surowka M., Schaefer W., Klein C. Ten years in the making: application of CrossMab technology for the development of therapeutic bispecific antibodies and antibody fusion proteins. *MAbs*. 2021 Jan-Dec;13(1):1967714.
- [31] Del Bano, J.; Chames, P.; Baty, D.; Kerfelec, B. Taking up Cancer Immunotherapy Challenges: Bispecific Antibodies, the Path Forward? *Antibodies*. 2016; 5(1):1.
- [32] Klein C., Schaefer W., Regula JT. The use of CrossMAB technology for the generation of bi- and multispecific antibodies. *MAbs*. 2016 Aug-Sep;8(6):1010-20.
- [33] EMA. September CHMP meeting agenda [internet]. [cité 17 Septembre 2022]. Disponible sur : https://www.ema.europa.eu/en/documents/agenda/agenda-chmp-agenda-12-15-september-2022-meeting_en.pdf
- [34] EMA. Summary of opinion for VABYSMO [internet]. [cité 25 Juillet 2022]. Disponible sur : https://www.ema.europa.eu/en/documents/smop-initial/chmp-summary-positive-opinion-vabysmo_en.pdf
- [35] Genentech. More about glofitamab [internet]. [cité 05 Juin 2022]. Disponible sur : <https://www.genentechoncology.com/pipeline-molecules/glofitamab.html>

- [36] Chugai Pharmaceutical. ART-Ig® (Bispecific antibody manufacturing technology) [internet]. [Cité 2 Juin 2022]. Disponible sur : https://www.chugai-pharm.co.jp/english/ir/rd/technologies_popup3.html
- [37] Gunasekaran K., Pentony M., Shen M., Garrett L., Forte C., Woodward A et Al. Enhancing antibody Fc heterodimer formation through electrostatic steering effects: applications to bispecific molecules and monovalent IgG. *J Biol Chem*. 2010 Jun 18;285(25):19637-46.
- [38] Kitazawa T., Shima M. Emicizumab, a humanized bispecific antibody to coagulation factors IXa and X with a factor VIIIa-cofactor activity. *Int J Hematol*. 2020 Jan;111(1):20-30.
- [39] EMA. HEMLIBRA® approved product information [internet]. [Cité 3 Juin 2022]. Disponible sur : https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/hemlibra-epar-product-information_en.pdf
- [40] Kolfschoten M., Schuurman J., Losen M., Bleeker W., Martinez-Martinez P., Vermeulen E. et Al. Anti-Inflammatory Activity of Human IgG4 Antibodies by Dynamic Fab Arm Exchange. *Science*. 2007 Sep;317(5844):1554-1557.
- [41] Yanakieva D., Pekar L., Evers A., Fleischer M., Keller S., Mueller-Pompalla D. et Al. Beyond bispecificity: Controlled Fab arm exchange for the generation of antibodies with multiple specificities. *mAbs*. 2022;14:2018960.
- [42] Huang P., Vyse S. Amivantamab for the treatment of EGFR exon 20 insertion mutant non-small cell lung cancer. *Expert Review of Anticancer Therapy*. 2022, VOL. 22, NO. 1, 3-16
- [43] Labrijn, A., Meesters, J., Priem, P. et al. Controlled Fab-arm exchange for the generation of stable bispecific IgG1. *Nat Protoc* 9, 2450–2463 (2014).
- [44] Chames P., Wurch T. Les anticorps et scaffold bispécifiques, des médicaments innovants en oncologie impliquant le ciblage des cellules. *Med Sci (Paris)* 2019 ; volume 35 (12) 1072-1082.
- [45] Zhou S., Liu M., Ren F. et Al. The landscape of bispecific T cell engager in cancer treatment. *Biomark Research* 9 (2021), 38.
- [46] Amgen. HLE BiTE® technology: enhance features of the BiTE® plateforme [internet]. [cité 10 Juin 2022]. Disponible sur : <https://www.amgenoncology.com/modalities/hlebite.html>
- [47] EMA. Blinatumomab initial marketing authorization assessment report from the CHMP [internet]. [Cité 10 Juin 2022]. Disponible sur : https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/blincyto-epar-public-assessment-report_en.pdf

- [48] Ribera JM. Efficacy and safety of bispecific T-cell engager blinatumomab and the potential to improve leukemia-free survival in B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Expert Rev Hematol*. 2017 Dec;10(12):1057-1067.
- [49] De Vries Schultink AHM., Doornbos RP., Bakker ABH., Bol K., Throsby M., Geuijen C., et Al. Translational PK-PD modeling analysis of MCLA-128, a HER2/HER3 bispecific monoclonal antibody, to predict clinical efficacious exposure and dose. *Invest New Drugs*. 2018 Dec;36(6):1006-1015.
- [50] Esfandiari A., Cassidy S., Webster RM. Bispecific antibodies in oncology. *Nat Rev Drug Discov*. 2022 Jun;21(6):411-412.
- [51] Clynes RA., Desjarlais JR. Redirected T Cell Cytotoxicity in Cancer Therapy. *Annu Rev Med*. 2019 Jan 27;70:437-450.
- [52] Levine BL., Miskin J., Wonnacott K., Keir C. Global Manufacturing of CAR T Cell Therapy. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2016 Dec 31;4:92-101.
- [53] Leong SR., Sukumaran S., Hristopoulos M., Totpal K., Stainton S., Lu E., et Al. An anti-CD3/anti-CLL-1 bispecific antibody for the treatment of acute myeloid leukemia. *Blood*. 2017 Feb 2;129(5):609-618.
- [54] Shimabukuro-Vornhagen A., Gödel P., Subklewe M., Stemmler HJ., Schlößer HA., Schlaak M., et Al. Cytokine release syndrome. *J Immunother Cancer*. 2018 Jun 15;6(1):56.
- [55] Anderson KG., Stromnes IM., Greenberg PD. Obstacles Posed by the Tumor Microenvironment to T cell Activity: A Case for Synergistic Therapies. *Cancer Cell*. 2017 Mar 13;31(3):311-325.
- [56] Chang CH., Wang Y., Li R., Rossi DL., Liu D., Rossi EA., Cardillo TM., Goldenberg DM. Combination Therapy with Bispecific Antibodies and PD-1 Blockade Enhances the Antitumor Potency of T Cells. *Cancer Res*. 2017 Oct 1;77(19):5384-5394.
- [57] Yu S., Li A., Liu Q., Yuan X., Xu H., Jiao D. et Al. Recent advances of bispecific antibodies in solid tumors. *J Hematol Oncol*. 2017 Sep 20;10(1):155.
- [58] Chen YP., Qiao YY., Zhao XH., Chen HS., Wang Y., Wang Z. Rapid detection of hepatitis B virus surface antigen by an agglutination assay mediated by a bispecific diabody against both human erythrocytes and hepatitis B virus surface antigen. *Clin Vaccine Immunol*. 2007 Jun;14(6):720-5.

- [59] Rossi EA., Goldenberg DM., Cardillo TM., McBride WJ., Sharkey RM., Chang CH. Stably tethered multifunctional structures of defined composition made by the dock and lock method for use in cancer targeting. Proc Natl Acad Sci U S A. 2006 May 2;103(18):6841-6.
- [60] EUR-Lex. RÈGLEMENT (CE) No 726/2004 DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL du 31 mars 2004 [internet]. [Cité 28 Mai 2022]. Disponible sur : <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32004R0726&from=EN>
- [61] EMA. Orphan designation: Overview [internet]. [Cité 10 Juin 2022]. Disponible sur : <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/overview/orphan-designation-overview>
- [62] EMA. Blinatumomab Type II variation Assessment Report from the CHMP [internet]. [Cité 14 Juin 2022]. Disponible sur : https://www.ema.europa.eu/en/documents/variation-report/blincyto-h-c-3731-ii-0009-epar-assessment-report-variation_en.pdf
- [63] EMA. Amivantamab initial marketing authorization Assessment Report from the CHMP [internet]. [Cité 15 Juin 2022]. Disponible sur : https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/rybrevant-epar-public-assessment-report_en.pdf
- [64] EMA. How we work: Big Data [internet]. [Cité 18 Juin 2022]. Disponible sur : <https://www.ema.europa.eu/en/about-us/how-we-work/big-data>
- [65] EMA. Mosunetuzumab initial marketing authorization assessment report from the CHMP [internet]. [Cité 15 Juin 2022]. Disponible sur : https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/lunsumio-epar-public-assessment-report_en.pdf
- [66] EMA. Conditional marketing authorization: Report on ten years of experience at the EMA [internet]. [Cité 19 Juin 2022]. Disponible sur : https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/conditional-marketing-authorisation-report-ten-years-experience-european-medicines-agency_en.pdf
- [67] FDA. Bispecific antibody development programs: Guidance for industry [internet]. [Cité 25 Juin 2022]

Annexes

Annexe 1 : molécules dont les autorisations de mise sur le marché ont été basées sur une étude pivot à simple bras (période 2006-2021)

Nom	INN	Date d'autorisation	Type d'AMM	Maladie visée	Etude pivot
Kymriah	tisagenlecleucel	8/22/2018	Totale	Leucémie lymphoblastique aigüe et Lymphome non-hodgkinien	Étude B2202 : Phase 2, simple bras, 97 patients Étude C2201 : Phase 2, simple bras, 167 patients
Yescarta	axicabtagene ciloleucel	8/22/2018	Totale	Lymphome non-hodgkinien	Étude ZUMA-1 : Phase 2, simple bras, 108 patients
Venclyxto	venetoclax	12/5/2016	Conditionnelle	Leucémie lymphoïde chronique	Étude M13-982: Phase 2, simple bras
Darzalex	daratumumab	5/20/2016	Conditionnelle	Myelome multiple	Étude MMY2002 : Phase 2, simple bras
Blinicyto	blinatumomab	11/23/2015	Conditionnelle	Leucémie lymphoblastique aigüe	Étude MT103-211 : Phase 2, simple bras
Imbruvica	ibrutinib	10/21/2014	Totale	<i>Leucémie lymphoïde chronique + Lymphome non-hodgkinien</i>	Étude PCYC-1104-CA : Phase 2, simple bras,
Zydelig	idelalisib	9/18/2014	Totale	<i>Lymphome non-hodgkinien Leucémie lymphoïde chronique</i>	Étude 101-09 : Phase 2, simple bras
Iclusig	ponatinib	7/1/2013	Totale	Leucémie myéloïde chronique Leucémie lymphoblastique aigüe	Étude AP24534 : Phase 2, simple bras
Bosulif	bosutinib	3/27/2013	Conditionnelle	Leucémie myéloïde chronique	Étude 3160A4-200-WW : Phase 1/2, simple bras (cohortes multiples)
Adcetris	brentuximab vedotin	10/25/2012	Conditionnelle	Lymphome hodgkinien	Étude SG035-003 : Phase 2, simple bras Étude SG035-0004 : Phase II, simple bras
Arzerra	ofatumumab	4/19/2010	Conditionnelle (retiré après autorisation)	Leucémie lymphoïde chronique	Étude HxCD20-406: Phase 3, simple bras
Atriance	nelarabine	8/22/2007	Circonstances exceptionnelles	Leucémie lymphoblastique aigüe Lymphome lymphoblastique à lymphocytes T	Étude PGAA2002 : Phase 2, simple bras Étude PGAA2001 : Phase 2, simple bras
Sprycel	dasatinib	11/20/2006	Totale	Leucémie myéloïde chronique Leucémie lymphoblastique aigüe	6 études pivots : une Phase 1 et cinq Phase 2 (CA180005, CA180006, CA180013, CA180015, and CA180017).
Evoltra	clofarabine	5/29/2006	Circonstances exceptionnelles	Leucémie lymphoblastique aigüe	Étude CLO-212: Phase 2, simple bras

Annexe 2 : Molécules en oncologie ayant obtenu une AMM conditionnelle (2019-2022)

Nom	INN	Date d'autorisation	Maladie visée
Abecma	idecabtagene vicleucel	8/18/2021	Myelome multiple
Ayvakyt	avapritinib	9/24/2020	Tumeurs gastro-intestinales stromales (GIST)
Blenrep	belantamab mafodotin	8/25/2020	Myelome multiple
Enhertu	trastuzumab deruxtecan	1/18/2021	Cancer du sein métastatique
Gavreto	pralsetinib	11/18/2021	Cancer du poumon non à petite cellule
Jemperli	dostarlimab	4/21/2021	Cancer utérin
Libtayo	cemiplimab	6/28/2019	Carcinome épidermoïde
Lorviqua	lorlatinib	5/6/2019	Cancer du poumon non à petite cellule
Lumykras	sotorasib	1/6/2022	Cancer du poumon non à petite cellule
Minjuvi	tafasitamab	8/26/2021	Lymphome non-hodgkinien
Nexpovio	selinexor	3/26/2021	Myelome multiple
Pemazyre	pemigatinib	3/26/2021	Cancer du foie et metastases
Polivy	polatuzumab vedotin	1/20/2020	Lymphome non-hodgkinien
Retsevmo	selpercatinib	2/11/2021	Cancer de la thyroïde et cancer du poumon non à petite cellule
Rozlytrek	entrectinib	7/31/2020	Tumeurs solides et cancer du poumon non à petites cellule
Rybrevant	amivantamab	12/9/2021	cancer du poumon non à petites cellule
Tecartus	autologous anti-CD19-transduced CD3+ cells	12/14/2020	Lymphome non-hodgkinien
Tepmetko	tepotinib	2/16/2022	Cancer du poumon non à petites cellule
Vitrakvi	larotrectinib (sulfate)	9/19/2019	Tumeurs solides (indication agnostique)

Nom – Prénoms : DEBRUN Victor, Jean-Michel

Titre de la thèse : Les anticorps bispécifiques approuvés en oncologie : formats, applications et analyse réglementaire de leur demande d'autorisation de mise sur le marché européen

Résumé de la thèse :

Les anticorps bispécifiques sont à l'étude depuis maintenant plusieurs décennies mais leur premier représentant REMOVAB® n'a fait que son apparition sur le marché en 2009. Présentant des caractéristiques avantageuses en comparaison avec les anticorps monoclonaux, ils font particulièrement l'objet d'essais cliniques en oncologie, que ce soit dans les tumeurs solides ou les tumeurs hématologiques. Après un rappel des généralités à propos de l'immunologie et des anticorps bispécifiques, ce travail s'est articulé autour des molécules approuvées par la Commission Européenne à date de Juin 2022, à savoir REMOVAB®, BLINCYTO®, RYBREVANT® et LUNSUMIO®.

Dans un premier temps, leurs formats et caractéristiques spécifiques sont présentés, avec une attention portée aux évolutions technologiques facilitant leur développement à l'échelle industrielle. Ensuite, une revue de chacune de leur procédure de mise sur le marché a été effectuée grâce à l'analyse détaillée de leur rapport d'évaluation par le CHMP (EPAR), en se focalisant sur les différentes parties « discussion » de chaque document. Enfin, le travail conclut sur une comparaison des revues entre afin de dégager les points communs et les différences.

MOTS CLÉS : ANTICORPS BISPÉCIFIQUES – ONCOLOGIE – EPAR – MISE SUR LE MARCHÉ – COMMISSION EUROPÉENNE - IMMUNOLOGIE

JURY

PRESIDENT :

Mr Marc-Antoine BAZIN, Maître de Conférences de Chimie thérapeutique, UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Nantes

ASSESEURS :

Mr Jean-Michel ROBERT, Professeur de Chimie Thérapeutique, UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Nantes

Mme Ana-Maria BÜHLMANN, Docteur en sciences, HOFFMAN-LA ROCHE AG, Bâle.

Mr Alexandre SERVE, Pharmacien, HOFFMAN-LA ROCHE AG, Bâle.
