



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

UNIVERSITE HENRI POINCARÉ - NANCY 1

2010

FACULTE DE PHARMACIE

**PROBLEMES METHODOLOGIQUES DANS LE
DEVELOPPEMENT CLINIQUE D'UN
IMMUNOMODULATEUR DANS LE LUPUS**

**A propos d'une nouvelle molécule Atacicept dans la
néphropathie lupique**

T H E S E

Présentée et soutenue publiquement
Le 26 février 2010

Pour l'obtention du
Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

par **Clémence HERBIN**
née le 08 Septembre 1984 à Dijon (21)

Membres du Jury

Président : **Madame Chantal FINANCE**, Professeur d'immunologie, et doyen
honoraire de la Faculté de Pharmacie de Nancy

Directeur de thèse : **Dr. Guy BRAUNSTEIN**, Directeur du développement clinique,
Laboratoire Actelion, Bâle

Juges : **Pr. Luc FRIMAT**, Médecin néphrologue, Centre Hospitalier
Universitaire de Nancy
Mademoiselle Bénédicte DUPONT, Pharmacien chef de Projet
Clinique, Laboratoire Servier, Paris.

UNIVERSITÉ Henri Poincaré, NANCY 1
FACULTÉ DE PHARMACIE
Année universitaire 2009-2010

Francine PAULUS

Vice-Doyen

Francine KEDZIEREWICZ

Président du Conseil de la Pédagogie

Bertrand RIHN

Commission de la Recherche

Christophe GANTZER

Mobilité ERASMUS et Communication

Francine KEDZIEREWICZ

Hygiène Sécurité

Laurent DIEZ

Responsable de la filière Officine :

Francine PAULUS

Responsables de la filière Industrie :

Isabelle LARTAUD,
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

**Responsable du Collège d'Enseignement :
Pharmaceutique Hospitalier**

Jean-Michel SIMON

DOYEN HONORAIRE

Chantal FINANCE

Claude VIGNERON

PROFESSEURS EMERITES

Jeffrey ATKINSON

Marie-Madeleine GALTEAU

Gérard SIEST

Claude VIGNERON

PROFESSEURS HONORAIRES

Roger BONALY

Thérèse GIRARD

Maurice HOFFMANN

Michel JACQUE

Lucien LALLOZ

Pierre LECTARD

Vincent LOPPINET

Marcel MIRJOLET

François MORTIER

Maurice PIERFITTE

Janine SCHWARTZBROD

Louis SCHWARTZBROD

MAITRES DE CONFERENCES

HONORAIRES

Gérald CATAU

Jocelyne COLLOMB

Bernard DANGIEN

Marie-Claude FUZELLIER

Françoise HINZELIN

Marie-Andrée IMBS

Marie-Hélène LIVERTOUX

Jean-Louis MONAL

Dominique NOTTER

Marie-France POCHON

Anne ROVEL

Maria WELLMAN-ROUSSEAU

ASSISTANT HONORAIRE

Marie-Catherine BERTHE

Annie PAVIS

ENSEIGNANTS

PROFESSEURS

Gilles AULAGNER	Pharmacie clinique
Alain BAGREL.....	Biochimie
Jean-Claude BLOCK	Santé publique
Christine CAPDEVILLE-ATKINSON	Pharmacologie cardiovasculaire
Chantal FINANCE.....	Virologie, Immunologie
Pascale FRIANT-MICHEL.....	Mathématiques, Physique, Audioprothèse
Christophe GANTZER	Microbiologie environnementale
Max HENRY	Botanique, Mycologie
Jean-Yves JOUZEAU.....	Bioanalyse du médicament
Pierre LABRUDE.....	Physiologie, Orthopédie, Maintien à domicile
Isabelle LARTAUD.....	Pharmacologie cardiovasculaire
Dominique LAURAIN-MATTAR.....	Pharmacognosie
Brigitte LEININGER-MULLER	Biochimie
Pierre LEROY	Chimie physique générale
Philippe MAINCENT	Pharmacie galénique
Alain MARSURA	Chimie thérapeutique
Patrick MENU	Physiologie
Jean-Louis MERLIN.....	Biologie cellulaire oncologique
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS	Chimie thérapeutique
Bertrand RIHN	Biochimie, Biologie moléculaire
Jean-Michel SIMON.....	Economie de la santé, législation pharmaceutique

MAITRES DE CONFÉRENCES

Monique ALBERT	.Bactériologie, Virologie
Sandrine BANAS	Parasitologie
Mariette BEAUD	Biologie cellulaire
Emmanuelle BENOIT	Communication et santé
Isabelle BERTRAND.....	Microbiologie environnementale
Michel BOISBRUN	Chimie thérapeutique
François BONNEAUX	Chimie thérapeutique
Ariane BOUDIER.....	Chimie Physique
Cédric BOURA.....	Physiologie
Jean-Claude CHEVIN	Chimie générale et minérale
Igor CLAROT	Chimie analytique
Joël COULON.....	Biochimie
Sébastien DADE.....	Bio-informatique
Dominique DECOLIN	Chimie analytique
Béatrice DEMORE.....	Pharmacie clinique
Joël DUCOURNEAU	Biophysique, audioprothèse, acoustique
Florence DUMARCAY.....	Chimie thérapeutique
François DUPUIS.....	Pharmacologie
Raphaël DUVAL	Microbiologie clinique
Béatrice FAIVRE	Hématologie - Génie Biologique
Adel FAIZ.....	Biophysique-acoustique
Luc FERRARI	Toxicologie
Stéphane GIBAUD	Pharmacie clinique
Thierry HUMBERT	Chimie organique

Frédéric JORAND	Santé et environnement
Olivier JOUBERT.....	Toxicologie, sécurité sanitaire
Francine KEDZIEREWICZ	Pharmacie galénique
Alexandrine LAMBERT	Informatique, Biostatistiques
Faten MERHI-SOUSSI.....	Hématologie biologique
Christophe MERLIN	Microbiologie environnementale et moléculaire
Blandine MOREAU	Pharmacognosie
Maxime MOURER.....	Pharmacochimie supramoléculaire
Francine PAULUS	Informatique
Christine PERDICAKIS	Chimie organique
Caroline PERRIN-SARRADO	Pharmacologie
Virginie PICHON	Biophysique
Anne SAPIN.....	Pharmacie galénique
Marie-Paule SAUDER	Mycologie, Botanique
Nathalie THILLY	Santé publique
Gabriel TROCKLE	Pharmacologie
Marie-Noëlle VAULTIER.....	Biodiversité végétale et fongique
Mohamed ZAIOU	Biochimie et Biologie moléculaire
Colette ZINUTTI	Pharmacie galénique

PROFESSEUR ASSOCIE

Anne MAHEUT-BOSSER	Sémiologie
--------------------	------------

PROFESSEUR AGREGE

Christophe COCHAUD	Anglais
--------------------	---------

Bibliothèque Universitaire Santé - Lionnois (Pharmacie - Odontologie)

Anne-Pascale PARRET	Directeur
---------------------	-----------

SERMENT DES APOTHICAIRES



Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.



REMERCIEMENTS

A Monsieur Guy BRAUNSTEIN

Directeur du développement Clinique, Actelion, Bâle, Suisse

Je vous suis tout particulièrement reconnaissante de m'avoir encadré tout au long de cette thèse. Je vous remercie pour vos conseils avisés, et vos critiques qui font de ma thèse ce qu'elle est aujourd'hui. Merci pour la disponibilité dont vous avez fait preuves du tout début jusqu'à la finalisation de ce travail.

Je vous remercie aussi de m'avoir donné l'opportunité de débiter ma carrière chez Merck Serono et de m'avoir ainsi permis de travailler, comme je le souhaitais, dans le domaine des essais cliniques au sein d'une entreprise de renommée mondiale. Je vous adresse mes remerciements les plus chaleureux.

A Madame Chantal FINANCE

Professeur d'Immunologie et Doyen Honoraire de la faculté de pharmacie de Nancy

Je vous remercie de l'honneur que vous me faites aujourd'hui en présidant ce jury. En espérant que ce travail soit le reflet de mes études au sein de la faculté que vous présidez, Veuillez trouver ici le témoignage de mon plus profond respect.

A Monsieur Luc FRIMAT

Professeur de néphrologie, Centre Hospitalier Universitaire de Nancy

Merci pour l'intérêt que vous portez à l'égard de ma thèse, c'est un honneur que vous jugiez mon travail aujourd'hui. Pour cela, veuillez accepter mes remerciements les plus sincères

A Mademoiselle Bénédicte DUPONT

Pharmacien, Chef de Projets Cliniques, Laboratoire Servier, Paris

Nous nous connaissons depuis de nombreuses années mais c'est notre passion commune pour les essais cliniques qui nous a rapprochées. Ce fut un réel plaisir que d'avoir partagé ces 6 mois de master avec toi. J'espère qu'un jour nous aurons l'opportunité de travailler ensemble. Je suis heureuse que tu participes à ce jury aujourd'hui.

Au département CTM, Clinical Trial Management de Merck Serono

*Pour l'accueil chaleureux, les rencontres et les expériences.
Pour tout ce que nous avons échangé au travail comme à l'extérieur depuis 2 ans.
Merci de m'avoir apporté les connaissances nécessaires qui m'ont permis de
réaliser ce travail*

A Michèle,

*Merci pour ton soutien depuis 2 ans maintenant, pour ta disponibilité et ton écoute.
Merci de m'avoir donné ma chance en tant que project manager, et aujourd'hui de me donner la
possibilité de partir aux Etats-Unis.
J'espère que cette thèse reflète fidèlement tous les précieux conseils que tu as pu me
donner depuis mon arrivée chez Merck-Serono.*

A tous ceux que j'ai pu rencontrer lors de mes études,

*Merci à mes maîtres de stage qui m'ont encouragé dans ma carrière,
et m'ont donné la chance de découvrir les nombreuses opportunités qu'offrent les métiers de la pharmacie.*

A mes parents,

*Pour votre soutien inconditionnel dans mes choix, pour tout ce que vous m'avez appris,
pour l'amour que vous m'avez donné.
Pour votre support moral (au début) et financier (à la fin).
Je sais les sacrifices que vous avez faits pour moi,
Cette thèse est me donne l'opportunité de vous remercier mais aussi de vous dire
que je vous aime.*

A mon frère,

*Je sais que la relecture n'a pas été facile pour toi étant donné que tes connaissances sur le lupus se limitaient à
« Dr House », j'espère que tu en sais un peu plus aujourd'hui !
Un immense Merci pour tes corrections et surtout pour la mise en page si détaillée et si précise. Tu m'a fait
économiser de nombreuses heures de travail et je t'en suis sincèrement reconnaissante.
J'espère que tu n'abandonneras pas l'écriture.*

A ma sœur,

*Même si l'on ne se voit pas souvent je n'oublie pas notre complicité d'enfance !
Tu seras toujours la bienvenue chez moi.
J'espère que tu trouveras un domaine où tu pourras t'épanouir.*

A toute ma famille,

Merci pour tous les bons moments partagés ensemble. J'espère qu'il y en aura encore beaucoup d'autres.

*A ma grand-mère, pour ton affection et ton amour, rarement discret. Sache que tu m'as
beaucoup donné pendant toutes ces années.*

A mes grands parents, je sais aujourd'hui que vous êtes fiers de moi.

*A mon filleul Calvin, tes sourires me font craquer, et quelle que soit la distance entre nous, je te promets
d'être toujours là pour toi.*

*A tous mes cousins, pour les fous rires lors de nos trop grandes réunions de famille.
Elles se font rare maintenant mais je sais que dans n'importe quelle ville de France, il y aura
toujours l'un de vous pas loin.*

*A mes oncles et tantes, vos discussions d'adultes m'ont donné envie de faire partie de ce monde. Maintenant que
j'y suis, j'espère que vous êtes fière de moi.*

Et aux bouts rapportés qui font maintenant partie de la famille !

*A ma nouvelle famille « d'adoption », Josiane, Michel, Georges & Martine, pour votre accueil formidable,
je vous remercie chaleureusement.
Vous serez toujours les bienvenus chez moi.*

A tous ceux qui ne sont pas là aujourd'hui pour partager ce moment avec moi.

A Sophie,

*Pour ces cinq années de pharmacie que nous avons partagées,
Grâce à toi elles sont passées bien plus vite !
Je sais que la distance ne nous séparera pas, tu es vraiment une amie pour la vie.*

A Estelle, Nicolas, Christelle, Fanny, Aude, Natasha... et tous les autres !

*Pour les descentes de ski, les ballades dans la nature, le covoiturage, les baignades post-travail dans le
lac, les soirées du jeudi soir pour nous rappeler la belle époque étudiante...
La région de Genève et du P.D.G. (Pays de Gex) me paraît beaucoup plus sympathique
avec vous.
J'espère que vous serez tous à mes côtés lorsque je rentrerai des Etats-Unis !
Que notre amitié perdure encore longtemps.*

A Grégory,

*En si peu de temps nous avons parcouru beaucoup de kilomètres ensemble,
et j'espère que nous continuerons notre tour du monde.
Merci pour la relecture critique de ce travail et ton soutien dans le stress.
La distance ne nous séparera pas,
Nous nous retrouverons.*

« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION, NI IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES DANS LES THESES, CES OPINIONS DOIVENT ETRE CONSIDEREES COMME PROPRES A LEUR AUTEUR ».

PROBLEMES METHODOLOGIQUES DANS LE DEVELOPPEMENT CLINIQUE D'UN IMMUNOMODULATEUR DANS LE LUPUS

A propos d'une nouvelle molécule Atacicept dans la néphropathie lupique

TABLE DES MATIERES

Liste des Abréviations	p.19
Liste des Figures, Tableaux et Annexes	p.21
Introduction	p.23
Partie I : Le lupus, maladie polymorphe aux approches thérapeutiques variées	p.27
1. Du lupus érythémateux disséminé à la néphropathie lupique	p.28
1.1 Définition du lupus	p.28
1.1.1 Le diagnostic du L.E.D.	p.28
1.1.2 Les auto-anticorps dans le lupus	p.30
1.1.3 Pronostic de la maladie	p.31
1.2 Epidémiologie	p.32
1.3 Signes cliniques d'un lupus	p.34
1.3.1 Les signes généraux	p.34
1.3.2 Les signes dermatologiques	p.34
1.3.3 Les signes rhumatologiques	p.36
1.3.4 Les signes vasculaires	p.37
1.3.5 Les signes pulmonaires et cardiaques	p.37
1.3.6 Les signes hématologiques	p.38
1.3.7 Les signes neurologiques	p.38
1.3.8 Les signes rénaux	p.39
1.4 L'atteinte rénale dans le lupus	p.40
1.4.1 La néphropathie lupique : présentation	p.40
1.4.2 Classification histologique des néphropathies	p.40
1.4.3 Evolution et pronostic des néphropathies lupiques	p.43
1.4.4 Conclusion	p.43
2. Traitement du lupus	p.44
2.1 Les traitements conventionnels	p.44
2.2 Les immunosuppresseurs	p.46
2.2.1 Cyclophosphamide	p.46
2.2.2 Azathioprine	p.47

2.2.3 Mycophenolate Mofetil	p.47
2.2.4 Conclusion sur les immunosuppresseurs	p.47
2.3 Cas particuliers de la néphropathie lupique	p.48
2.4 Les études cliniques antérieures dans le lupus	p.49
2.4.1 Les anti-inflammatoires non stéroïdiens	p.50
2.4.2 Les anti-malariques	p.50
2.4.3 Les stéroïdes	p.51
3. Les nouvelles cibles thérapeutiques	p.54
3.1 Les inhibiteurs des lymphocytes B	p.54
3.1.1 Un anticorps monoclonal anti-CD20 : le rituximab	p.57
3.1.2 Autres exemples d'inhibiteurs de lymphocytes B	p.58
3.2 Les inhibiteurs des lymphocytes T	p.59
3.2.1 Les anticorps monoclonaux	p.59
3.2.2 Les anticorps anti-CD40 ligand	p.60
3.2.3 Les CTLA4-Ig	p.61
3.3 Les inhibiteurs des cytokines	p.61
3.3.1 Les inhibiteurs de l'IL-10	p.62
3.3.2 Les inhibiteurs du TNF α	p.62
3.3.3 Les inhibiteurs anti-IFN (IFN α et IFN γ)	p.63
3.4 Inhibiteur du système BLyS : atacicept	p.64
3.4.1 Le système BLyS et APRIL	p.64
3.4.2 BLyS et APRIL dans les maladies auto-immunes	p.66
3.4.3 Atacicept : un antagoniste de BLyS et d'APRIL	p.67
3.4.4 Etudes précliniques	p.69
3.4.5 Toxicologie d'atacicept	p.70

Partie II : Nouvelle cible thérapeutique : Evaluation clinique et choix stratégique dans le développement d'un immunomodulateur, atacicept	p.72
1. Atacicept : plan de développement	p.73
1.1 Phase exploratoire du développement clinique d'atacicept	p.73
1.1.1 Phase I chez le volontaire sain	p.76
1.1.2 Phase Ib : atteintes malignes des lymphocytes B	p.78
1.1.2.1 Atacicept dans les lymphomes malins non Hodgkiniens	p.78
1.1.2.2 Atacicept dans la leucémie lymphoïde chronique	p.80
1.1.2.3 Atacicept dans le myélome multiple et la macroglobulinémie de Waldenström	p.82
1.1.3 Maladies auto-immunes	p.84
1.1.3.1 Phase Ib dans la polyarthrite rhumatoïde	p.84
1.1.3.2 Phase Ib dans le lupus érythémateux disséminé	p.87
1.1.4 Conclusion sur les phases I du développement clinique d'atacicept	p.92
1.2 Les phases II du développement clinique	p.95
1.2.1 Développement d'atacicept en rhumatologie	p.95
1.2.2 Développement d'atacicept en neurologie	p.97
1.3 Développement d'atacicept dans le lupus	p.99
2. Aspect méthodologique d'une étude clinique dans la néphropathie lupique	p.101
2.1 Objectifs	p.101
2.1.1 Traitements d'entretien contre traitement d'induction	p.102
2.1.2 Monothérapie contre thérapie d'ajout	p.103
2.2 Critères de jugement	p.104
2.2.1 Critère de substitution	p.105
2.2.2 Type de réponse	p.106
2.3 Population	p.107
2.3.1 Choix des critères de sélection	p.108
2.3.2 Taille de l'échantillon	p.109
2.4 Traitement de l'essai	p.110
2.4.1 Détermination de la dose	p.110
2.4.2 Autres considérations liées au traitement de l'essai	p.111

2.5 Design de l'essai	p.113
2.5.1 Comparateur	p.114
2.5.2 Randomisation	p.115
2.5.3 Double aveugle	p.116
2.5.4 Durée du traitement	p.117
2.6 Conclusion : difficultés opérationnelles	p.118
3. Problèmes rencontrés et discussion	p.120
3.1 Problèmes de sécurité et conséquences : Cas des études LN1 et LN2	p.120
3.2 Quelles leçons peut-on tirer de cette expérience ?	p.121
3.3 Pourquoi est-il difficile de conduire une étude dans le lupus ? Problèmes communs et solutions pour mettre en place une étude clinique dans le lupus	p.127
Conclusion	p.132
Annexes	p.136
Références bibliographiques	p.162

LISTE DES ABREVIATIONS

ACR	American College of Rheumatology
AFSSAPS	Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé
A.I.N.S.	Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien
A.M.M.	Autorisation de Mise sur le Marché
ANA	Anticorps antinucléaires
Ac	Anticorps
Ac Anti-Sm	Anticorps anti-Smith
APRIL	A PRoliferation Inducing Ligand
AZA	Azathioprine
BAFF	B cell Activity Factor of the TNF Family
BCMA	B Cell Maturation Antigen
BILAG	British Isle Lupus Assessment Group
BLyS	B Lymphocyte Stimulator
C.R.O.	Clinical Research Organisation
CY	Cyclophosphamide
E.B.V.	Epstein Barr Virus
E.C.G.	Electrocardiogramme
EMA	European MEDicines Agency
FDA	Food and Drug Administration
G.F.R.	Glomerular Filtration Rate
G.R.	Globules Rouges
HLA	Human Leukocyte Antigen (Complexe Majeur d'Histocompatibilité)
IL	Interleukines
I.S.	Immunosuppresseurs
Ig	Immunoglobulines
Ig-Fc	Fragment Fc de l'immunoglobuline
IgG	Immunoglobuline G
IgM	Immunoglobuline M
IMP	Investigational Medication Product (médicament testé)
IV	Intraveineuse
KFSS	Krupp Fatigue Score Scale
L.E.D.	Lupus Erythémateux Disséminé
L.L.C.	Leucémie Lymphoïde Chronique
L.M.N.H.	Lymphome Malin Non Hodgkinien
L_B	Lymphocytes B
L_T	Lymphocytes T
LN1/LN2	Lupus Nephritis (étude clinique 1 et 2)
M.A.I.	Maladie Auto-Immune
M.M.F.	Mycophenolate Mofetil
N.L.	Néphropathie Lupique
NOAEL	No Observable Adverse Effect Level

NOEL	No Observed Effect Level
P.R.	Polyarthrite Rhumatoïde
RF	Facteur Rhumatoïde
S.E.P.	Sclérose En Plaque
S.NC.	Système Nerveux Central
SF-36	Short Form-36
SLE	Systemic Lupus Erythematosus (L.E.D.)
SLEDAI	SLE Disease Activity Index
SPA	Special Protocol Assessment
TNF	Tumor Necrosis Factor
TACI	Transmembrane Activator and Calciummodulator and cyclophin ligand Interactor

LISTE DES FIGURES, TABLEAUX ET ANNEXES

Liste des Figures

<u>Figure 1</u> : photographies représentant les lésions cutanées lors d'un lupus	p.34
<u>Figure 2</u> : photographie de lésion d'un lupus discoïde	p.35
<u>Figure 3</u> : Néphropathie lupique de classe III	p.42
<u>Figure 4</u> : Néphropathie lupique de classe IV	p.42
<u>Figure 5</u> :Schéma physiopathologique et sites d'intervention dans le lupus	p.56
<u>Figure 6</u> : Les trimères BLyS/APRIL se fixent sur TACI mais pas sur BCMA ou BAFF-récepteur.	p.65
<u>Figure 7</u> : Expression des récepteurs de BLyS et APRIL au cours du développement des L _B	p.65
<u>Figure 8</u> : schéma d'une molécule d'atacept	p.67
<u>Figure 9</u> : Comparaison atacept et rituximab - Atacept élimine les lymphocytes B par un mécanisme d'action différent du rituximab	p.68
<u>Figure 10</u> : Atacept se fixe sur BLyS, APRIL et hétérotrimères alors que les autres molécules inhibent uniquement BLyS.	p.69
<u>Figure 11</u> : Schéma du développement Clinique d'Atacept	p.74
<u>Figure 12</u> : Profil pharmacocinétique d'atacept chez le volontaire sain	p.76
<u>Figure 13</u> : Modification des taux d'Immunoglobulines M après l'administration d'atacept	p.77
<u>Figure 14</u> : Schéma de l'étude évaluant atacept chez les patients ayant une L.L.C. à lymphocytes B	p.81
<u>Figure 15</u> : Evolution clinique des patients ayant un myélome sous atacept	p.82
<u>Figure 16</u> : Design de l'étude d'atacept en phase Ib dans la P.R.	p.85
<u>Figure 17</u> : Schéma de l'étude atacept dans le L.E.D. présentant les cohortes de doses	p.88
<u>Figure 18</u> : Concentration d'atacept libre après administration sous-cutanée chez des patients lupiques	p.89
<u>Figure 19</u> : Design de l'étude évaluant atacept en IV dans le L.E.D.	p.91
<u>Figure 20</u> : Schéma du protocole LN2	p.113
<u>Figure 21</u> : Différence entre effet placebo et effet réel	p.114
<u>Figure 22</u> : La randomisation permet d'obtenir 2 groupes dont la seule différence réside dans l'administration du traitement	p.116
<u>Figure 23</u> : Essais contrôlé randomisé en double aveugle qui permet d'éviter les biais de sélection, de réalisation et d'évaluation	p.117
<u>Figure 24</u> : stratégie de développement clinique pour la demande de mise sur le marché en Europe et aux Etats-Unis	p.125

Liste des Tableaux

<u>Tableau 1</u> : Critères de classification du lupus érythémateux systémique proposé par le Collège Américain de Rhumatologie	p.29
<u>Tableau 2</u> : classification des glomérulonéphrites selon l'O.M.S.	p.41
<u>Tableau 3</u> (1 ^{ère} partie) : Tableau résumant les essais cliniques évaluant les AINS, les anti-malariques et certains immunosuppresseurs dans le lupus	p.52
<u>Tableau 3</u> (2 ^{ème} partie) : Tableau résumant les essais cliniques évaluant les AINS, les anti-malariques et certains immunosuppresseurs dans le lupus	p.53
<u>Tableau 4</u> : Tableau listant les effets indésirables d'ataccept toutes études cliniques de phase I confondues	p.93
<u>Tableau 5</u> : Comparaison des effets de deux immunomodulateurs dans les maladies-auto-immunes	p.122
<u>Tableau 6</u> : critère d'éligibilité et caractéristiques initiale à prendre en compte lors d'un essai clinique dans le L.E.D.	p.128
<u>Tableau 7</u> : Recommandation OMERACT	p.128
<u>Tableau 8</u> : exemples de critères de jugement utilisé dans certains essais dans les pathologies rénales.	p.130

Liste des Annexes

Annexe I	CRITERE DE CLASSIFICATION DU LUPUS ERYTHEMATEUX DISSEMINÉ DE L'ACR	p.137
Annexe II	CLASSIFICATION DES NEPHROPATHIES LUPIQUES SELON LA SOCIÉTÉ INTERNATIONALE DE NEPHROLOGIE ISN/RPS	p.139
Annexe III	INDEX D'ACTIVITÉ DE LA MALADIE BILAG	p.142
Annexe IV	INDEX MESURANT LES ATTEINTES CLINIQUES DANS LE LUPUS – SLICC	p.147
Annexe V	SCHEMA DES VISITES ET DES EVALUATIONS AU COURS DE L'ESSAI	p.150
Annexe VI	PHARMACOCINETIQUE D'ATACICEPT ADMINISTRE DANS LES DIFFERENTES INDICATIONS DE PHASE I	p.156

INTRODUCTION

Le Lupus Erythémateux Disséminé (L.E.D.) est une affection assimilée au groupe des maladies auto-immunes, désignées autrefois par le terme « maladies du collagène » ou « collagénose ». L'origine de ces maladies, qui résultent toutes d'une activation inadaptée du système immunitaire, a été l'objet de nombreuses controverses dans le passé et n'a été comprise qu'avec l'avènement de l'immunologie moderne et la découverte des cellules dites auto-réactives.

Les maladies auto-immunes ont plusieurs caractéristiques en commun :

- Elles évoluent par poussées successives, entrecoupées de phases de rémission plus ou moins prolongées. Le risque de poussée évolutive augmente pendant la grossesse en particulier au troisième trimestre et dans la période post-partum.
- Elles n'ont que très exceptionnellement de relation causale directe avec un agent infectieux ou toxique, même si elles sont parfois diagnostiquées suite à une infection ou une intoxication (médicamenteuse par exemple).
- Les traitements actuels permettent de limiter le nombre et les conséquences néfastes des poussées mais ne peuvent, sauf exception, soigner la maladie.

Le L.E.D. est une maladie complexe dans laquelle tous les composants du système immunitaire sont impliqués. Comme le lupus affecte de nombreux organes (cœur, rein...) son expression clinique est très polymorphe. Ceci explique que son aspect varie extrêmement d'un individu à l'autre et qu'il puisse se présenter sous forme bénigne, sévère ou grave. Ainsi le pronostic devient-il plus pessimiste en cas d'atteintes des reins (néphropathie lupique) ou lors de la survenue de complications iatrogènes (1-3).

Les conditions de vie des patients atteints de lupus se sont considérablement améliorées ces dernières années. En effet, grâce aux thérapies actuelles, 80 à 90 % de ces patients ont une espérance de vie similaire à une personne non atteinte. La probabilité de survie se calcule en fonction du type d'organe atteint, les atteintes rénales et neurologiques ayant les pronostics les plus sévères. L'amélioration du taux de survie observée ces dernières années s'explique par le fait que la prise en charge est meilleure et intervient plus précocement grâce notamment à la sophistication des techniques de diagnostic et d'évaluation (4).

Mais il n'existe toujours pas de traitement optimal du lupus et même si l'espérance de vie peut être de 70 ans chez certains patients, elle ne dépasse pas 50 ans pour d'autres, les nombreuses complications liées au dérèglement du système immunitaire entraînant un décès prématuré. Notons aussi que l'espérance de vie varie en fonction de l'origine ethnique du patient (5). Pendant longtemps, les cliniciens traitant les patients atteints de lupus se sont contentés de médicaments symptomatiques au mode d'action parfois incertain et aux résultats hétérogènes : les glucocorticostéroïdes ont été introduits dans les années 50 puis les cytotoxiques aux effets immunosuppresseurs dans les années 70. Après plusieurs décennies sans recherche dans ce domaine, la découverte de nouvelles molécules issues des biotechnologies a poussé la communauté scientifique et l'industrie pharmaceutique à s'intéresser de nouveau à cette maladie et plus particulièrement à sa forme rénale : la néphropathie lupique (N.L.) pour laquelle aucun traitement de référence n'existe à ce jour. Depuis la fin des années 90, de nombreuses molécules ont été évaluées dans les maladies auto-immunes et plus particulièrement dans le lupus. Ces molécules mettent en jeu de nouvelles voies thérapeutiques et se montrent plus efficaces mais surtout moins toxiques que les traitements existants (6). Tous ces traitements sont encore en cours de développement, chacun à différents stades : préclinique, clinique, phase I, II ou III.

La prise en charge du patient reste très hasardeuse et varie selon l'expression clinique et les lésions histologiques de la maladie. Cependant, certains principes thérapeutiques, comme l'utilisation d'un traitement symptomatique, la présence d'un traitement inducteur (pour induire une rémission) ou le suivi d'un traitement d'entretien (dans le but de maintenir cette rémission), sont largement reconnus et suivis par la communauté médicale.

Parmi ces molécules en développement, nous trouvons Atacicept. Il s'agit d'une protéine de fusion recombinante provenant des techniques de biotechnologie. Cette molécule contient une partie soluble du récepteur TACI (Transmembrane Activator and Calcium modulator and cyclophilin ligand Interactor) capable de se lier à la fois à BLyS (B Lymphocyte Stimulator) et à APRIL (A Proliferation-Inducing Ligand). Ces deux cytokines, qui appartiennent à la même famille que le facteur de nécrose tumorale (T.N.F.), interviennent dans la survie des lymphocytes B et la production d'auto-anticorps impliqués dans la survenue de certaines maladies auto-immunes comme le lupus érythémateux disséminé.

Malgré des résultats précliniques encourageants, atacicept s'est révélé être un candidat difficile à évaluer dans le traitement du lupus et de la néphropathie lupique. Les résultats cliniques d'autres médicaments équivalents comme rituximab, testés dans la N.L., ne s'avèrent pas plus concluants.

Les raisons de ces échecs ne sont pas évidentes. Très schématiquement, l'échec d'une étude clinique ou plutôt la non-atteinte de l'objectif s'explique de deux façons : soit le médicament n'est pas efficace, soit la méthodologie n'est pas bonne. Dans le cas des traitements du lupus, il faut prendre en compte deux niveaux de complexité : celui impliquant la maladie qui la rend difficile à modéliser et celui relatif aux médicaments testés très sophistiqués par nature.

C'est pour ces raisons que cette thèse tente de mettre en parallèle la maladie et les méthodes de développement cliniques.

Pour cela nous nous appuierons sur un exemple concret : le développement d'Atacicept. La première partie sera consacrée au lupus érythémateux disséminé et à une de ses principales complications, la néphropathie lupique. La maladie mais aussi les traitements actuels et futurs y seront décrits. Dans la deuxième partie nous décrirons en détail les programmes de développement clinique d'un nouveau médicament et la conception d'un essai clinique de phase III dans le cas de la néphropathie lupique. Enfin, toujours dans cette seconde partie, nous discuterons des problèmes rencontrés lors de la mise en place de telles études.

Partie I :

Le Lupus, maladie polymorphe aux approches thérapeutiques variées

1. Du lupus érythémateux disséminé à la néphropathie lupique

1.1 Définition du lupus

Le Lupus Erythémateux Disséminé (L.E.D.) ou systémique (encore appelé maladie lupique) est une maladie auto-immune qui, sous forme d'inflammation chronique, affecte la peau, les articulations, les reins, les poumons, le système nerveux, les séreuses et/ou d'autres organes. Cette affection multi-système conduit à des expressions cliniques différentes d'un sujet à l'autre avec comme point commun des poussées entrecoupées par des périodes de rémission (1).

Le L.E.D. est le prototype même de la maladie auto-immune caractérisé par de nombreux auto-anticorps et des dépôts d'immuns complexes dans les organes. « Lupus » est un mot latin signifiant « loup » ; il prendra un nouveau sens au Moyen-âge pour désigner les lésions cutanées caractéristiques que provoque la maladie au niveau du visage (nez-front-pommettes).

La cause du L.E.D. est encore inconnue ; mais quel qu'en soit le déclenchement, le problème de base demeure une altération du fonctionnement du système immunitaire. Chez les patients lupiques, le S.I. réagit de façon inadéquate en produisant des anticorps dirigés contre les constituants du soi, ce sont les auto-anticorps (1).

Malgré de nombreuses années de recherches, aucun élément déclencheur n'a pu être scientifiquement prouvé comme étant à l'origine de la maladie. Cependant, au fil des années, certains facteurs ont été reconnus comme pouvant être liés aux déclenchements de poussée de lupus.

1.1.1 Le diagnostic du L.E.D.

L'extraordinaire diversité des manifestations cliniques du lupus rend souvent son diagnostic difficile. Aucun paramètre clinique ou biologique isolé ne permet le diagnostic. Celui-ci nécessite l'association de plusieurs syndromes cliniques et/ou biologiques.

La société américaine de rhumatologie (American College of Rheumatology, ACR) a proposé une classification de onze critères basés sur des symptômes cliniques (tableau 1). Les anomalies sérologiques permettront de conforter le diagnostic.

Critères	Définitions
1. Eruption malaire	Erythème malaire en aile de papillon
2. Lupus discoïde	Erythème en placards avec des squames kératosiques adhérentes
3. Photosensibilité	Eruptions cutanées résultant d'une réaction inhabituelle au soleil
4. Ulcérations buccales ou nasopharyngiennes	Ulcères oraux ou nasopharyngées habituellement douloureux
5. Polyarthrite non érosive	Impliquant au moins deux articulations périphériques et caractérisée par des douleurs, une augmentation de volume ou un épanchement articulaire
6. Atteinte des séreuses (pleurésie ou péricardite)	– Pleurésie : épanchement pleural – Péricardite : documenté par un E.C.G.
7. Atteinte rénale	– Protéinurie > 0,5 g/jour – Présence de cylindres dans les urines (G.R., hémoglobine, leucocytes, cellules tubulaire...)
8. Atteinte neurologique	– Convulsion – Psychose
9. Atteinte hématologique	– Anémie hémolytique avec une hyperréticulose – Ou leucopénie < 4000/mm³ – Ou lymphopénie < 1500/mm³ – Ou thrombocytopénie < 100 000/mm³ En l'absence de cause médicamenteuse
10. Désordre immunologique	– Présence d'anticorps anti-ADN natif – Ou d'Ac Anti-Sm – Ou fausse sérologie syphilitique
11. Anticorps antinucléaires	Taux anormal d'anticorps antinucléaires en l'absence de médicaments inducteurs de lupus

Tableau 1 : Critères de classification du lupus érythémateux systémique proposé par le Collège Américain de Rhumatologie (ACR), 1982, modifié en 1997 (7, 8)

Le diagnostic de lupus est retenu lorsqu'au moins quatre des manifestations sont présentes parmi les onze de la liste, soit simultanément, soit séquentiellement, et quelque soit la durée d'observation.

Cette classification est particulièrement utilisée pour définir la population à inclure dans les essais cliniques dans le lupus.

1.1.2 Les auto-anticorps dans le lupus

Les anomalies immunologiques, essentiellement liées à la présence de nombreux auto-anticorps antinucléaires, sont une aide précieuse au diagnostic.

Les patients souffrant d'un lupus produisent des anticorps (Ac) dirigés contre des molécules présentes dans le noyau des cellules. Parmi ces Ac antinucléaires (ANA, Antinuclear Antibodies), on retrouve les Ac anti-ADN, très spécifiquement associés au lupus (9).

Les Ac antinucléaires sont positifs chez pratiquement tous les patients atteints de lupus. La sensibilité de ce test est quasiment de 100%. Cependant, ce test est peu spécifique du lupus car les Anticorps anti-nucléaires sont retrouvés habituellement dans d'autres affections rhumatologiques telles que le syndrome de Sjörger ou la polyarthrite rhumatoïde (10). C'est pourquoi il est essentiel de compléter ces informations par la caractérisation des différents types d'Ac antinucléaires. Deux types d'auto-anticorps sont donc impliqués dans le diagnostic du lupus systémique (1) :

- des Ac anti-ADN, spécifiques du L.E.D. car présents chez 70% des patients atteints de lupus (contre 0.5% pour les personnes sans lupus). Le taux d'Ac anti-ADN peut aussi refléter l'activité de la maladie dans certains cas (11).
- des Ac anti-Sm (pour Smith, première patiente chez laquelle les Ac ont été découverts), observés chez 15 à 30% des patients (12).

D'autres anticorps fixant des antigènes nucléaires vont être retrouvés comme les Ac anti-SSA (ou Ro) ou les Ac anti-SSB (ou La).

Les auto-anticorps présents dans les maladies auto-immunes sont produits par les lymphocytes B (L_B) auto-réactifs. Les différentes étapes de la maturation et de l'activation des

L_B peuvent faire intervenir les lymphocytes T (L_T), les L_T auxiliaires. Pour limiter le développement des L_B auto-réactifs, il existe des contrôles de sélection négative dans la moelle osseuse : les cellules ayant une affinité forte ou modérée pour les antigènes du soi vont éliminer une grande partie des L_B auto-réactifs lors de la maturation. D'autres mécanismes induisant la mort des L_B auto-réactifs existent aussi dans les organes lymphoïdes secondaires (ganglions, rate, plaque de Peyer) : délétion clonale, anergie ou encore exclusion des L_B auto-réactifs du follicule lymphoïde entraînant leur mort. On parle de rupture de tolérance lorsqu'un des mécanismes de contrôle est défaillant, aboutissant à la survie des lymphocytes B auto-réactifs, ces derniers pouvant proliférer sous l'effet de certaines cytokines, comme BLYS et APRIL. Ces deux molécules sont présentes à un taux élevé dans le lupus et pourraient favoriser la survie préférentielle des L_B auto-réactifs et la production d'auto-anticorps (13, 14).

Les auto-Ac pathogéniques sont la première cause des dommages tissulaires chez le patient lupique. Un des modèles étudiés repose sur le fait que les Ac anti-ADN et les Ac antinucléaires, parfois les deux en même temps, interagissent avec les protéines du rein et ont donc un effet pathogénique direct sur les cellules du rein (3).

De très nombreux éléments du système immunitaire impliqués dans la maladie lupique peuvent donc être les cibles potentielles d'un futur traitement.

1.1.3 Pronostic de la maladie

Globalement, le pronostic du lupus est dominé par trois séries de complications : rénales, neurologiques et iatrogènes.

La survie au lupus s'est considérablement améliorée ces dernières décennies : de 40% de survie à 5 ans dans les années 50, ce taux est actuellement à plus de 90% à 10 ans. L'amélioration du taux de survie est probablement liée à de nombreux facteurs non exclusifs (10) :

- Meilleure reconnaissance de la maladie grâce aux tests sérologiques,
- Diagnostic et traitement plus précoces,
- Meilleure utilisation des traitements et gestion de leurs complications.

La mortalité au cours du lupus est divisée en deux grandes causes, la principale cause de mortalité dans les premières années de la maladie est liée à l'activité de la maladie lupique

elle-même (atteinte rénale et neurologique en particulier) alors que les morts plus tardives sont essentiellement causées par les complications du traitement (notamment les infections et l'insuffisance cardiaque). En effet, les infections sont favorisées par les glucocorticoïdes et par les agents cytotoxiques, les complications cardiovasculaires, en premier lieu l'insuffisance coronaire, étant essentiellement liées à une athérosclérose accélérée, favorisée par la maladie elle-même, mais surtout par les traitements glucocorticoïdes à fortes doses (10).

L'atteinte rénale du lupus est une des manifestations les plus communes de la maladie mais aussi une des plus sévères, pesant de façon significative sur le pronostic fonctionnel et vital des patients (7).

Malgré la réduction de la mortalité à long terme, les patients lupiques ont un risque important de morbidité lié soit à l'activité de la maladie, soit aux effets secondaires des médicaments.

1.2 Epidémiologie

La prévalence du lupus est de 30 à 40 cas pour 100 000 personnes en Europe du Nord et jusqu'à plus de 200 cas pour 100 000 personnes dans les populations noires. Aux Etats-Unis le nombre de patients atteints de lupus dépasse 250 000. Les femmes, notamment dans la tranche d'âge des 20-40 ans, sont plus souvent atteintes que les hommes. Cette prépondérance féminine est de l'ordre de 9 contre 1 (3, 9).

Il existe des facteurs qui influencent l'évolution de la maladie chez certains patients. L'environnement et le facteur hormonal ont tous deux un rôle dans le développement du lupus ; cependant, le facteur génétique n'est pas à exclure.

Les bases génétiques dans le lupus érythémateux disséminé font l'objet de nombreuses recherches qui ont permis de montrer la présence de gènes de susceptibilité. Ces gènes reconnus comme potentiellement candidats font partie du complexe majeur d'histocompatibilité, ce sont les gènes HLA de classe I. De plus, les études sur des familles lupiques ou sur des jumeaux atteints de lupus ont permis d'établir l'importance de ces facteurs génétiques (1, 3). Ces connaissances sont actuellement en train d'être développées pour être utilisées à des fins diagnostiques ou pronostiques.

Certaines protéines du complément (un déficit en C1q, C2 ou C4) peuvent aussi entraîner un lupus, il s'agit d'hypo-complémentémie héréditaire (15, 16). Le système complément joue un rôle primordial dans la solution et l'élimination des complexes immuns.

Le déficit en C4 est très rare et il se complique dans 87% des cas d'un lupus. Les lupus associés à un déficit complet en C4 ou à un déficit homozygote en C2 ont des caractéristiques particulières :

- Ils se manifestent précocement dans la vie,
- L'atteinte cutanée prédomine, cependant l'atteinte rénale est plus rare,
- Les Ac anti-DNA sont souvent absents, mais les Ac anti-SSA sont plus fréquents.

De plus, le déficit homozygote en C1 dont le gène allèle est localisé en dehors du complexe majeur d'histocompatibilité, prédispose également à la survenue de L.E.D. et des syndromes apparentés.

Le fait que la maladie prédomine chez la femme est lié à un facteur hormonal. En général, l'œstrogène tend à activer l'effet sur le système immunitaire tandis que la testostérone a un rôle plus protecteur (17). Dans une étude en aveugle, aléatoire et contrôlée, les femmes ménopausées avec un lupus recevant un traitement de substitution hormonal contenant des œstrogènes et de la progestérone ont un risque de poussées 1,34 fois supérieur au risque de poussées chez les femmes recevant un placebo (18). Il n'est pas clairement démontré comment les hormones sexuelles peuvent favoriser le lupus.

Enfin, il est clair que l'environnement joue un rôle dans le L.E.D. On trouve (9) :

- Le stress : le début de la maladie ou certaines poussées peuvent parfois être liées à une forme de stress. Malheureusement, la prise en charge du stress est difficile à résoudre pour un patient lupique.
- Les médicaments : certaines molécules sont connues pour exacerber le lupus, ce sont des médicaments inducteurs. Les plus connus sont la procainamine, l'hydralazine, et la quinidine. On retrouve aussi certains antibiotiques (très occasionnellement la pénicilline).
- Les ultra-violets : ils peuvent provoquer l'initiation ou l'activation de la maladie, selon un mécanisme encore inconnu. Cependant, tous les patients ne sont pas sensibles au soleil (environ un sur deux) et cette sensibilité peut varier au cours de la maladie.

Il est à noter qu'un antécédent de maladie virale peut apparaître au début de la maladie lupique ou immédiatement après une poussée. Le virus Epstein Barr (E.B.V.) peut être important puisqu'une association temporelle entre le commencement d'un lupus et l'apparition d'une infection E.B.V. a été reportée (19).

1.3 Signes cliniques d'un lupus

Les symptômes du L.E.D. sont très variables puisque la maladie peut toucher tous les organes. Les systèmes les plus communément impliqués sont les articulations, le système nerveux central et périphérique, les poumons, le cœur, les reins, la peau, les membranes séreuses et certains composants du sang. La gravité de la maladie tient dans l'atteinte d'un des trois organes majeurs de l'organisme : le cœur, le système nerveux et le rein.

1.3.1 Les signes généraux

On retrouve le plus souvent une asthénie (due à une anémie ou à une inflammation), une anorexie avec un amaigrissement et de la fièvre en continu ou par poussée (1).

1.3.2 Les signes dermatologiques

Les éruptions cutanées sont caractéristiques du lupus mais elles ne sont pas forcément présentes chez tous les patients (figure 1). Leur fréquence est d'environ 80%.



Figure 1 : photographies représentant les lésions cutanées lors d'un lupus

❖ *Lésions dites « spécifiques » ou lupiques*

Elles prédominent sur les zones exposées en raison de leur fréquente photosensibilité (20).

- L'érythème en vespertilio (60 %), qui a donné son nom à la maladie, touche le nez et les pommettes ; il est maculeux ou maculo-papuleux, finement squameux, parfois œdémateux, à bordure émiettée ; des lésions similaires peuvent être observées, essentiellement sur le décolleté et les membres ;
- Le lupus discoïde (figure 2), plus volontiers observé dans les formes chroniques purement cutanées, est également présent dans 15% des lupus disséminés. Il forme des plaques bien limitées et associe trois lésions élémentaires : érythème, squames et atrophie séquellaire laissant sur le cuir chevelu une alopecie définitive en plaques ;
- Les lésions érythémateuses des faces d'extension des coudes et des genoux, et les lésions érosives des muqueuses, en particuliers buccales, sont cliniquement aspécifiques mais ont cependant une histologie de lupus ;
- Le lupus subaigu, caractérisé cliniquement par des lésions annulaires (proches de celles du rare lupus néonatal) ou des lésions psoriasiformes, s'associe à la présence d'anticorps anti-SSA. Les atteintes viscérales graves sont théoriquement rares.



Figure 2 : photographie de lésion d'un lupus discoïde

Le papillon est devenu l’emblème des patients lupiques, car une éruption peut apparaître fréquemment sur les pommettes, disposée symétriquement en « ailes de papillon ». Elle est présente chez une majorité de patients et elle est souvent favorisée par l’exposition au soleil (9).

❖ *Lésions non spécifiques*

Elles sont le plus souvent secondaires à une atteinte vasculaire, inflammatoire (vascularite) ou thrombotique : livedo, urticaire, purpura infiltré plus ou moins nécrotique, érythème violine des paumes, érythème télangiectasique de la face dorsale des doigts, lésions pulpaire purpuriques à centre blanchâtre, gangrènes punctiformes.

La peau est donc un des organes les plus communément impliqués dans la maladie. Malgré cela, la biopsie cutanée n’est que rarement utile au diagnostic car les tests sanguins sont beaucoup plus spécifiques.

Une des manifestations associées aux lésions cutanées du cuir chevelu dans le lupus est la chute diffuse des cheveux lors d’une poussée. Chez la majorité des patients cette perte n’est pas permanente (1).

1.3.3 Les signes rhumatologiques

Il s’agit surtout de douleurs articulaires de types inflammatoires pouvant toucher petites et grosses articulations. Le plus souvent ce sont des arthrites vraies (75%) pouvant évoluer sur un mode variable (20) :

- oligo ou polyarthrite aiguë fébrile, bilatérale et symétrique ;
- arthrite subaiguë ;
- plus rarement arthrite chronique.

Les articulations les plus fréquemment atteintes sont les métacarpo-phalangiennes, les interphalangiennes proximales, le carpe, les genoux et les chevilles. Les déformations des mains sont rares. Les radios ne montrent pas de destructions ostéocartilagineuses, à la

différence de la polyarthrite rhumatoïde. Les ruptures tendineuses et les ostéonécroses aseptiques sont favorisées par la corticothérapie.

Pour la majorité des patients, la maladie articulaire ne progresse pas de la même façon que dans la polyarthrite rhumatoïde, c'est-à-dire qu'elle épargne le cartilage et ne provoque pas d'érosions osseuses. Cependant, les douleurs articulaires, du moins dans la phase aiguë, peuvent être extrêmement sévères, au point d'immobiliser le patient pendant quelques jours.

1.3.4 Les signes vasculaires

L'inflammation des petits vaisseaux sanguins (artères et veines) est une caractéristique principale de la maladie lupique, on parle de vascularite. Le plus fréquemment ces phénomènes surviennent au niveau des extrémités des doigts et au niveau des coudes.

Les manifestations vasculaires sont très diverses :

- Le phénomène de Raynaud (20 à 30% des patients lupiques)
- Des thromboses artérielles (en cas d'atteintes des artères cérébrales, les séquelles neurologiques sont sévères), des thromboses veineuses (la plus sévère étant la thrombose de la veine rénale en cas de syndrome néphrotique). Ces thromboses sont liées à la présence d'Anticorps antiphospholipides.
- Des vascularites au niveau de la peau, des reins ou du système nerveux central (S.N.C.).

1.3.5 Les signes pulmonaires et cardiaques

Le lupus affecte souvent la plèvre et le péricarde. On observe le plus souvent des pleurésies inflammatoires et des pneumonies inflammatoires pouvant évoluer vers une fibrose pulmonaire (17, 21).

Les manifestations du cœur peuvent toucher les trois tuniques :

- La péricardite : chez environ 30% des patients, souvent récidivante.
- L'endocardite : non infectieuse, elle est liée à la présence d'auto-anticorps antiphospholipides.
- La myocardite : elle se manifeste par des troubles du rythme (tachycardie) ou de la conduction avec le plus souvent une insuffisance cardiaque congestive.

En cas de péricardite ou de pleurésie, on observe des douleurs thoraciques, rythmées par l'inspiration profonde. Généralement, ces complications répondent rapidement au traitement par glucocorticoïdes.

Par ailleurs, les patients atteints de lupus érythémateux disséminé peuvent, plus fréquemment que les autres, développer des complications pulmonaires infectieuses favorisées par la prise d'immunosuppresseurs, qui atténue leurs défenses immunitaires. La pneumonie se manifeste par une toux éventuellement productive, une dyspnée et de la fièvre.

1.3.6 Les signes hématologiques

Les manifestations hématologiques vont toucher jusqu'à 85% des patients :

- Anémie : fréquente, avec des mécanismes divers,
- Leucopénie : lymphopénie isolée ou associée à une granulopathie,
- Thrombopénie : peu grave, mais pouvant entraîner des complications hémorragiques (purpura, ecchymose).

1.3.7 Les signes neurologiques

Les manifestations sont, là aussi, extrêmement variées et l'atteinte cérébrale est observée dans 25% des cas. Cette atteinte est difficile à diagnostiquer et encore plus à quantifier car l'expression clinique de ses manifestations neurologiques est très variable. Les manifestations cérébrales peuvent être dues à des phénomènes inflammatoires (vasculite) ou à des phénomènes thromboemboliques (souvent associés à un syndrome antiphospholipide) ou encore à des manifestations infectieuses (notamment chez les patients immunosupprimés).

Sur le plan neurologique peuvent être observés des céphalées, des crises comitiales, des syndromes méningés récidivants, ou des syndromes cérébelleux (perte d'équilibre, incoordination, accident vasculaire...) (1, 17, 21).

On retrouve (20) :

- crises comitiales généralisées ou focalisées, pouvant précéder les autres manifestations de plusieurs années, et posant alors le problème diagnostique d'un lupus induit par les anticomitiaux.
- manifestations centrales déficitaires, d'installation plus ou moins rapide : hémiplégie, monoplégie, voire paraplégie.
- méningite lymphocytaire aseptique qui ne peut être attribuée à la maladie lupique qu'après avoir éliminé une surinfection opportuniste, notamment tuberculeuse ou mycotique.
- plus rarement : chorée, troubles de conscience, syndromes encéphalitiques graves, paralysie des nerfs crâniens, neuropathie périphérique.
- des migraines pouvant être fréquentes.

Les manifestations neuropsychiatriques de la maladie lupique n'ont été reconnues qu'assez récemment. La plupart de ces manifestations répondent très bien au traitement médical, même si les mécanismes responsables de ces troubles restent encore mal compris.

1.3.8 Les signes rénaux

L'atteinte rénale dans le L.E.D. est une des manifestations les plus sévères de la maladie, pouvant mettre en jeu le pronostic vital. On la retrouve chez 50% des malades (22). Seules des analyses très régulières des urines permettent de la dépister précocement.

Le signe avant-coureur le plus fréquent permettant de déceler une atteinte des reins est la présence de protéines dans les urines. Un second signe d'atteinte rénale est l'hématurie. Enfin, la maladie rénale peut se compliquer d'hypertension artérielle. Dans certaines formes de maladie lupique, on observe un syndrome néphrotique, défini par une protéinurie (>3 g/j), une hypoalbuminémie (<30 g/l), et une hypoprotidémie (<60 g/l) (1).

Si l'examen des urines laisse suspecter une atteinte rénale, il est classique de la confirmer par une biopsie rénale. Un traitement approprié est généralement efficace, mais si la N.L. n'est pas traitée, elle évolue rapidement vers une insuffisance rénale terminale.

1.4 L'atteinte rénale dans le lupus

1.4.1 La néphropathie lupique : présentation

La néphropathie est fréquente au cours du lupus systémique. En effet, les résultats des biopsies rénales systémiques réalisées chez des patients lupiques ont mis en évidence des atteintes du rein dans plus de 90% des cas. Cette atteinte rénale n'est cependant responsable de symptômes que dans 30 à 50% des cas. L'anomalie urinaire la plus fréquente est la protéinurie (80%), l'hématurie et/ou la pyurie (40%). La néphropathie, qui peut être révélatrice de la maladie, survient dans la majorité des cas au cours des cinq premières années. La plupart des patients ayant une néphropathie lupique ont une glomérulonéphrite à complexe immuns ou d'immunoglobuline (Ig) (1, 22).

Il existe deux formes graves de néphropathies, différenciées par leur profil d'évolution :

- La première forme est liée à un processus inflammatoire intense provoquant une néphropathie glomérulaire rapidement progressive.
- La seconde forme est liée à une évolution chronique, par poussées successives.

Certaines données biologiques peuvent indiquer la présence d'une néphropathie (hypertension artérielle récente, protéinurie importante, hématurie associée à une leucocyturie sans infection urinaire), mais seule une biopsie rénale permettra d'en préciser la sévérité et le pronostic. Elle est indispensable pour caractériser le type de néphropathie et guider le traitement.

1.4.2 Classification histologique des néphropathies

L'Organisation Mondiale de la Santé (O.M.S.) a proposé une classification des différents types de néphropathies lupiques, permettant ainsi une standardisation de la prise en charge des patients (tableau 2). Cette classification (1) est basée sur les examens anatomo-pathologiques et divise les atteintes glomérulaires en six classes.

Classe I : glomérule normal	–Classe IA : strictement normal avec toutes les techniques –Classe IB : normal en microscopie optique, mais présence de dépôts en immunofluorescence ou microscopie électronique
Classe II : altération mésangiale isolée (mésangiopathie)	–Classe IIA : épaissement de la matrice mésangiale et/ou hypercellularité légère à modérée –Classe IIB : hypercellularité modérée
Classe III (figure 3) : glomérulonéphrite segmentaire et focale (associée à des altérations mésangiales légères ou modérées)	–Classe IIIA : lésions nécrosantes actives –Classe IIIB : lésions sclérosantes et lésions nécrosantes actives –Classe IIIC : lésions sclérosantes (chroniques) = sclérose
Classe IV (figure 4) : glomérulonéphrite diffuse (prolifération mésangiale sévère endocapillaire ou mésangio-capillaire et/ou dépôts sous-endothéliaux extensifs ; les dépôts sous-épithéliaux)	–Classe IVA : pure sans lésions segmentaires –Classe IVB : avec lésions nécrosantes actives –Classe IVC : avec lésions sclérosantes et lésions nécrosantes actives –Classe IV D : avec lésions purement sclérosantes
Classe V : glomérulonéphrite extra-membraneuse	–Classe VA : glomérulonéphrite extra-membraneuse pure –Classe VA : glomérulonéphrite extra-membraneuse associée à des lésions de classe II
Classe VI : glomérulonéphrite sclérosante avancée	

Tableau 2 : classification des glomérulonéphrites selon l'O.M.S. (23)

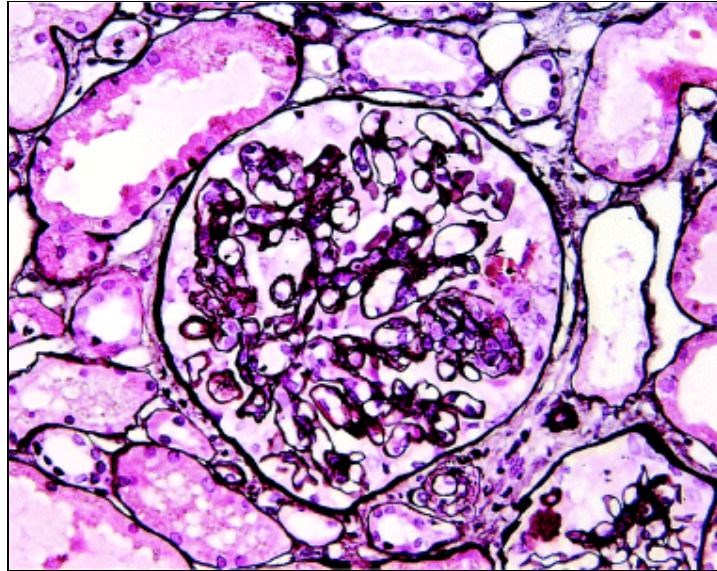


Figure 3 : Néphropathie lupique de classe III (24)

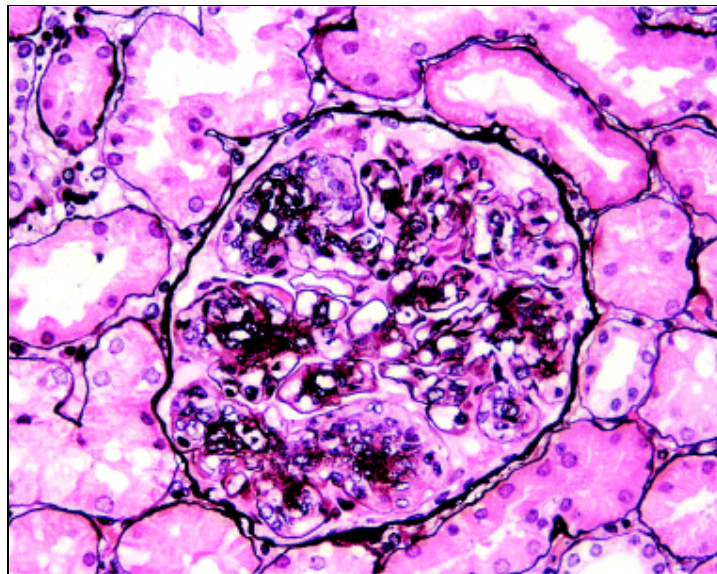


Figure 4 : Néphropathie lupique de classe IV (24)

L'évolution vers l'insuffisance rénale est observée essentiellement dans les glomérulonéphrites prolifératives focales (type III) ou diffuses (type IV) (figures 3 et 4). Chaque atteinte rénale a une présentation clinique histologique et un pronostic différent. Cependant, il y a fréquemment des formes de chevauchement et des passages d'une forme à l'autre dans 15% à 40% des cas (22).

1.4.3 Evolution et pronostic des néphropathies lupiques

Au cours du temps, on constate souvent un espacement des poussées des néphropathies après cinq à dix ans d'évolution. L'atteinte rénale au cours du lupus représente un tournant conditionnant le pronostic de la maladie (1).

Il a été clairement établi que des lésions de classe I ou II (selon l'O.M.S.) ont un excellent pronostic et ne nécessitent pas de traitement spécifique à part un suivi régulier. D'un autre côté, les maladies proliférantes (classe III et IV de l'O.M.S.) sont des stades dits fulminants qui requièrent un traitement agressif pour induire une rémission et prévenir la morbidité rénale et la mortalité (25).

1.4.4 Conclusion

La néphropathie lupique est une complication grave du L.E.D. pouvant mettre en jeu le pronostic vital.

20 à 30% des patients atteints de néphropathie lupique évoluent vers une insuffisance rénale terminale en cinq à dix ans. Le pronostic à long terme est basé sur le type de néphropathie (diagnostic par biopsie), la présence de lésions chroniques et la persistance de la protéinurie.

Le pronostic et le traitement se sont incontestablement améliorés ces vingt dernières années. La principale difficulté reste la prise en charge thérapeutique à long terme. En effet, les traitements agressifs (corticoïdes, immunosuppresseurs) poursuivis pendant plusieurs mois ou années sont à l'origine de complications iatrogènes élevées, comme la susceptibilité aux infections.

2. Traitements du lupus

Il n'y a pas de traitement radical et définitif du lupus ou de la néphropathie lupique. Les objectifs généraux du traitement du lupus sont (26) :

- obtenir la rémission des signes d'activités immunologiques,
- obtenir la rémission (complète ou partielle) des anomalies rénales (le plus important étant d'arrêter la progression de la maladie vers l'insuffisance rénale terminale),
- minimiser le risque toxique.

Des mesures générales de prévention des poussées lupiques doivent toujours être mises en œuvre :

- éviter l'exposition aux œstrogènes (contraception orale),
- éviter l'exposition au soleil et utiliser une crème solaire avec un indice de protection élevé sur toutes les zones découvertes du corps.

Tous les traitements efficaces ont également des effets indésirables importants. C'est pourquoi le traitement du lupus est personnalisé et adapté à chaque individu, selon l'estimation du bénéfice par rapport au risque au niveau de chaque patient. Les traitements actuels du lupus ont été séparés en deux catégories :

- Les traitements dits conventionnels, largement acceptés dans le monde médical. Seuls, ils seront essentiellement utilisés dans les formes bénignes de la maladie,
- Les traitements immunosuppresseurs, n'ayant pas forcément tous l'indication pour le lupus. Ils sont utilisés pour traiter les formes sévères de lupus.

2.1 Les traitements conventionnels

Il existe trois classes de médicaments indiqués dans le traitement du lupus à travers le monde : les anti-inflammatoires non stéroïdiens (A.I.N.S.) et plus particulièrement l'aspirine, les anti-malariques et les corticostéroïdes.

➤ Les A.I.N.S. et l'aspirine

L'aspirine est souvent proposée dans les formes mineures, en particulier cutané-articulaire. En effet, les A.I.N.S. sont efficaces dans le traitement des symptômes articulaires (arthralgie, arthrite) associés à la maladie (9).

L'inconvénient majeur de ce traitement est lié à son utilisation chronique et à l'apparition de troubles digestifs : ulcères gastroduodénaux et parfois hémorragies digestives.

➤ Les anti-malariques de synthèse

Bien que leur mode d'action soit inconnu, ils semblent particulièrement indiqués pour les atteintes cutanées et articulaires de l'affection ainsi que dans les formes pleuro-péricardiques. Les anti-malariques les plus souvent prescrits sont l'hydroxychloroquine (Plaquenil®) et la chloroquine (Nivaquine®), plus incisive mais produisant des effets secondaires ophtalmiques et gastriques plus importants.

Avec des doses adaptées, les anti-malariques peuvent être administrés pendant des mois et même des années avec des effets secondaires limités. Le principal souci réside dans l'atteinte possible de la rétine. Par le passé, on a pu observer des maladies oculaires pouvant aller jusqu'à la cécité. A l'heure actuelle, les doses utilisées ne laissent plus apparaître une telle toxicité, mais les patients sous anti-malariques restent suivis annuellement par un examen ophtalmique complet (26).

➤ Les corticostéroïdes

La corticothérapie est un traitement de référence des formes aiguës de la maladie. Elle est indispensable dans les formes viscérales graves, et en particulier dans les atteintes rénales, neurologiques et hématologiques. Les stéroïdes les plus couramment utilisés sont la prednisolone (Deltacortil®) et la méthylprednisolone (Médrol®) (26).

La posologie de ses traitements est variable selon les besoins du patient. D'une dose de charge initiale assez forte (jusqu'à 1 mg/kg/jour de prednisolone), les doses vont être diminuées progressivement pour obtenir un traitement d'entretien entre 5 et 7,5 mg de prednisolone par jour. Afin d'obtenir un effet anti-inflammatoire brutal et rapide, plusieurs doses de charge de 1 mg/kg/jour de méthylprednisolone peuvent être exceptionnellement administrées (soit 1,2 mg/kg/jour de prednisolone) (27).

Les effets secondaires bien connus des corticostéroïdes sont liés à leur utilisation à forte posologie, et celle-ci doit donc rester de courte durée. Les effets néfastes de ses molécules sur

l'organisme au niveau de la tension artérielle, du métabolisme des glucides (diabète) et de la masse osseuse (ostéoporose) seront donc à surveiller régulièrement.

2.2 Les immunosuppresseurs

Les thérapeutiques à visée immunosuppressive et immunomodulatrice sont largement employées au cours des formes systémiques sévères du lupus. Certaines atteintes viscérales, rénales, cérébrales, ou encore cardiaques, justifient l'association de corticoïdes et d'immunosuppresseurs (28).

En France, le cyclophosphamide (Endoxan[®]) et l'azathioprine (Imuran[®]) possèdent l'indication du lupus dans leurs autorisations de mise sur le marché (A.M.M.). L'utilisation du mycophenolate mofetil (Cellcept[®]) hors A.M.M. est aussi possible.

2.2.1 Cyclophosphamide

Le cyclophosphamide (CY), connu sous le nom Endoxan[®], est un agent alkylant bifonctionnel de la famille des moutardes azotées. Il s'agit en fait d'une prodrogue, le CY est transformé au niveau du foie en produit actif, 4-hydroxy-cyclophosphamide, à l'origine de l'activité immunosuppressive (29).

Ce médicament est indiqué en début de traitement des formes sévères de la maladie afin d'amener rapidement le patient en rémission. Il est en général administré en IV de manière répétée sur une période plus ou moins longue (perfusion mensuelle pendant six à douze mois).

Les effets secondaires du CY restent une préoccupation majeure. On observe une diminution des globules blancs dans le sang nécessitant une surveillance car elle peut être à l'origine d'infections virales ou bactériennes. Le CY peut aussi provoquer des cystites hémorragiques, une ménopause précoce, des nausées et des vomissements, et occasionnellement une perte de cheveux.

2.2.2 Azathioprine

L'azathioprine (AZA, Imuran[®]) appartient à la classe des immunosuppresseurs, il est encore utilisé dans la prévention du rejet de greffe et plus particulièrement les greffes rénales même si le traitement de référence est maintenant l'association mycophenolate mofétil (M.M.F.), et Tacrolimus. L'AZA est aussi prescrit dans certaines maladies auto-immunes comme le lupus.

Son utilisation *per os* s'est montrée efficace sur les manifestations rénales et hématologiques du lupus. L'AZA est un médicament largement utilisé dans le traitement du L.E.D. La dose habituellement utilisée est de 2,5 mg/kg.

L'effet secondaire le plus important est la diminution d'activité de la moelle osseuse, avec comme résultat une chute du taux de globules blancs et, moins couramment, un taux diminué de plaquettes ou de globules rouges. Il peut être aussi observé des effets secondaires de type nausées et indigestion (26).

2.2.3 Mycophenolate mofetil

Il s'agit d'un produit semi-synthétique qui remplace progressivement l'AZA dans le traitement du rejet de greffe. Il inhibe de façon sélective la prolifération des cellules T à un stade tardif de leur maturation. Mais son action sur les lymphocytes B est plus important, d'où son utilisation pour prévenir les rejets de greffe (30).

Le mycophenolate mofetil (M.M.F. ou Cellcept[®]) est une molécule nouvellement utilisée pour traiter les atteintes rénales d'un lupus réfractaire. Le M.M.F. au quotidien, *per os*, pourrait remplacer le CY en IV mensuelles dans la thérapie d'induction de la néphropathie lupique.

Les effets indésirables les plus fréquents sont les troubles digestifs (diarrhées, vomissements), une diminution de la résistance aux infections due à une leucopénie, des douleurs, de la fièvre, des maux de tête, une hypertension artérielle et des œdèmes.

2.2.4 Conclusion sur les immunosuppresseurs

D'autres traitements immunomodulateurs ont été utilisés, qu'il s'agisse de la ciclosporine ou des immunoglobulines en intraveineuse (IV). La ciclosporine (Neoral[®]) n'a pas

montré son efficacité dans le lupus sévère. Cependant, dans certaines conditions, elle peut permettre de réduire les autres traitements mais sans influencer significativement le taux d'anticorps. Les Immunoglobulines en intraveineuse ont été employées à forte dose, mais leur utilisation reste marginale en raison des effets secondaires qu'elles peuvent entraîner.

Le lupus systémique requiert souvent l'utilisation des immunosuppresseurs et immunomodulateurs. Cependant, les modalités d'emploi de ces traitements doivent être soigneusement établies afin de limiter les effets secondaires prévisibles tout en maintenant une efficacité optimale (28).

2.3 Cas particuliers de la néphropathie lupique

Le traitement de la néphropathie lupique est encore mal codifié, mais il est variable selon la présentation clinique et les lésions histologiques (d'où l'intérêt de la classification de l'O.M.S., cf. I.). La gravité de ces néphropathies, notamment prolifératives (type 3 et 4), justifie un traitement intensif.

Une combinaison de CY ou AZA en plus des stéroïdes permet d'améliorer la fonction rénale chez les patients lupiques. Un traitement symptomatique en plus de la prise en charge classique de la néphropathie est fondamental. Le traitement antihypertenseur (cibles tensionnelles < 130/80 mmHg) et antiprotéinurique par inhibiteur de l'enzyme de conversion (cible protéinurique < 0,5 g/j) et hypolipémiant par statine (cible LDL-cholestérol < 1,0 g/l) est presque toujours indiqué au cours des classes III, IV, V et VI.

Le traitement glucocorticoïde et immunosuppresseur comporte (26) :

- un traitement d'induction pour obtenir la rémission clinique et biologique,
- un traitement d'entretien pendant une période prolongée afin de prévenir les rechutes.

L'obtention d'une rémission clinique complète est un facteur de bon pronostic associé à une réduction significative du risque d'insuffisance rénale terminale et à une amélioration de l'espérance de vie.

La néphropathie lupique est très probablement moins sévère chez les patients européens du fait d'une origine ethnique différente et d'une prise en charge différente des patients des Etats-Unis (31). C'est pour cela qu'une étude a testé une hypothèse de traitement immunosuppresseur moins incisif que le traitement recommandé par l'agence américaine (Food

and Drug Administration, FDA), pour atteindre les mêmes résultats tout en réduisant la toxicité iatrogène : c'est le traitement EuroLupus. Cette hypothèse a été développée dans l'Euro-Lupus Nephritis Trial (Essais cliniques EuroLupus).

Le traitement consistait à administrer aux patients soit de fortes doses de CY en IV (6 administrations mensuelles puis 2 administrations trimestrielles aux doses adaptées) ou de faibles doses de CY (6 admin

istrations toutes les 2 semaines à 500 mg). A la suite du CY, les patients recevaient AZA. Après 41 mois de suivi, les échecs thérapeutiques n'étaient pas plus fréquents dans le groupe recevant de faibles doses de CY en IV (32). Après 73 mois, il n'y avait toujours aucune différence entre les deux groupes. De plus, une corrélation positive a été mise en avant entre une réponse rapide au traitement immunosuppresseur et l'amélioration de la fonction rénale à long terme (33).

Récemment, les données de cette étude sur 10 ans ont été publiées, confirmant que la réponse précoce aux I.S. prédit une bonne évolution de la fonction rénale. Le traitement EuroLupus, CY à faible dose suivi par AZA, semble atteindre de bons résultats cliniques à long terme. Mais pour le moment cette thérapie n'est pas approuvée par les autorités (34).

2.4 Les études cliniques antérieures dans le lupus

Concernant les A.I.N.S. et les anti-malariques, le développement dans le lupus est très limité, il n'existe que très peu de publications sur les essais cliniques dans le L.E.D. Leur utilisation repose sur plusieurs années d'expériences cliniques et non sur des preuves d'efficacité scientifique.

Cependant, la lecture des documents relatifs aux traitements du lupus nous apprend que vers la fin du XIX^{ème} siècle, à Londres, un médecin utilisait déjà des anti-malariques pour le traitement du lupus cutané, mais également pour d'autres manifestations cliniques, y compris la fièvre.

Les corticostéroïdes sont à la fois utilisés dans les formes bénignes à faibles doses, mais en cas d'atteintes sévères, des doses plus fortes de corticoïdes sur une période plus courte peuvent être administrées.

2.4.1 Les anti-inflammatoires non stéroïdiens.

Aucun anti-inflammatoire non stéroïdien n'est spécifiquement approuvé pour être utilisé dans le lupus ; cependant, la majorité des patients lupiques utilisent les A.I.N.S. de façon quotidienne pour éviter la fièvre, les maux de tête et les douleurs articulaires associés à la progression de la maladie. Traditionnellement, l'A.I.N.S. le plus souvent choisi reste l'aspirine, mais avec des effets indésirables courants, notamment au niveau gastro-intestinal. Quelques expériences ont été faites avec l'ibuprofène dans le L.E.D., et les observations tirées de ces essais non contrôlés suggèrent un effet bénéfique de l'ibuprofène dans les douleurs articulaires. Un essai clinique comparant l'aspirine à l'ibuprofène a été publié par J. Karsh en 1980 (35). Le but de cet essai était d'établir et de comparer l'efficacité et la toxicité de l'ibuprofène et de l'aspirine chez les patients lupiques. Cette étude a été menée en double aveugle, et le traitement administré pendant dix jours. Les résultats indiquent que l'ibuprofène n'est pas particulièrement efficace dans le traitement des manifestations du lupus (tableau 3). Il faut cependant mettre en avant le fait que dix jours seulement de traitement par A.I.N.S. sont sûrement trop courts pour observer une réponse. En effet, Dubois a démontré dans une autre étude que quatorze jours de traitement sont nécessaires pour qu'un patient lupique réponde à l'ibuprofène (36).

2.4.2 Les anti-malariques

L'anti-malarique le plus souvent utilisé dans le lupus érythémateux disséminé est l'hydroxychloroquine. Il est surtout efficace dans les manifestations cutanées, l'arthrite, la pleurésie et autres atteintes des séreuses. C'est à partir de l'expérience clinique que les anti-malariques ont été considérés comme une option de traitement chez ces patients mais leur action dans cette maladie n'a jamais été évaluée précisément. Trois essais évaluant les anti-malariques ont été retrouvés. Le premier est une étude évaluant l'efficacité de la chloroquine diphosphate dans la prévention des rechutes de la maladie lupique et dans la diminution des doses de corticostéroïdes données (37). La deuxième étude avait pour but de comparer l'efficacité à long terme de la chloroquine et de l'hydroxychloroquine dans les maladies

rhumatismales, telle que la polyarthrite rhumatoïde et le L.E.D. (38). Enfin l'étude la plus récente a permis d'évaluer l'efficacité de la clofazimine (antibiotique) comparée à la chloroquine diphosphate (39). Les détails de ces études se retrouvent dans le tableau 2.

2.4.3 Les stéroïdes

L'utilisation de corticostéroïdes est généralement bien acceptée dans le traitement du L.E.D., particulièrement lors d'atteintes majeures de certains organes tels que le rein, le système nerveux ou lors de troubles hémorragiques. La prednisone est l'anti-inflammatoire le plus efficace pour traiter un lupus. Elle aide à réduire l'inflammation et le nombre de poussées de la maladie. Pour illustrer l'implication des corticostéroïdes dans le L.E.D., trois essais ont été sélectionnés. Le plus ancien, publié en 1988, a étudié la valeur ajoutée d'un traitement par méthylprednisolone en intraveineuse basé sur les bons résultats cliniques observés lors d'études non contrôlées (40). Le but de cette étude était d'examiner l'effet d'un traitement par méthylprednisolone chez les patients atteints d'un L.E.D. modéré à sévère comparé à un placebo. Le deuxième essai retrouvé évalue l'action des corticostéroïdes sur les fonctions neurologiques d'un patient lupique (41). Il a pour but de mesurer l'effet de la prednisone sur le fonctionnement du système nerveux, particulièrement les troubles cognitifs et de l'humeur. La troisième étude, et la plus récente, a été mise en place afin d'évaluer l'efficacité d'un traitement de courte durée à base de corticoïdes à doses modérées dans la prévention des poussées sévères de la maladie, lors d'une augmentation des protéines du complément C3a et des anticorps anti-ADN (42). Les données et résultats de ces essais sont résumés dans le tableau 3.

Essais	Design	Critères de jugement	Résultats	Conclusions
“Comparative effects of Aspirin and Ibuprofen in the management of Systemic Lupus Erythematosus (SLE)” (35)	Etude randomisée en double aveugle comparant ibuprofène 2400 mg/j avec aspirine 3600 mg/j (en 4 prises). Traitement de dix jours précédé par un washout de trois jours.	Mesure de la douleur par des échelles (douleurs au niveau des articulations) Nombre d’articulations gonflées et/ou sensibles.	Diminution significative du nombre d’articulations douloureuses et sensibles dans le groupe <i>aspirine</i> . 7 patients sur 9 ont ressenti un bénéfice grâce à ce traitement. Aucune modification dans le groupe <i>ibuprofène</i> . Seuls 2 patients sur 8 ont estimé avoir reçu un effet bénéfique du traitement.	L’ibuprofène n’est pas efficace dans le traitement des manifestations du L.E.D. Cependant, un effet bénéfique de l’aspirine ne peut pas être clairement démontré en seulement dix jours de traitement.
“Controlled trial with chloroquine diphosphate in SLE” (37)	Etude randomisée en double aveugle comparant la chloroquine diphosphate à 250 mg/jour à un placebo avec un suivi de 12 mois.	Prévention des rechutes et diminution de la dose de stéroïdes. (différence entre la dose moyenne au début et à la fin de l’étude ; nombre de patients présentant une rechute ; nombre de patients ayant diminué leur dose de prednisolone pendant l’étude)	La dose moyenne de prednisolone était supérieure dans le groupe placebo avec une différence significative à 4, 6 et 10 mois. Le risque de rechute était de 4,6 fois plus important dans le groupe placebo que dans le groupe Chloroquine.	On a observé une fréquence plus faible des symptômes articulaires parmi les patients sous chloroquine comparés aux patients sous placebo. Une tendance similaire a été remarquée pour les manifestations cutanées. De plus, les patients sous chloroquine ont pu obtenir une diminution significative des doses de stéroïdes comparés à ceux recevant un placebo.
“Long term effectiveness of antimalarial drugs in rheumatic disease” (38)	Etude de cohorte composée de 940 patients (dont 19% ayant un L.E.D.) évaluant l’efficacité à long terme de la chloroquine (58% des sujets) comparée à l’hydroxychloroquine (42% des sujets).	Les raisons de l’arrêt du traitement et la durée totale du traitement sont regardées. Les raisons reportées sont : l’inefficacité, la toxicité, ou « autre raison ».	A 24 mois, 50% des patients avaient arrêté leur traitement anti-malariques : 15% à cause de la toxicité et 19% à cause de son inefficacité. En moyenne, 30% des patients continuaient de recevoir leur traitement après 120 mois. Aucune différence n’a été observée entre le groupe Chloroquine et le groupe Hydroxychloroquine.	En utilisant la mesure des taux de discontinuation comme mesure d’efficacité du traitement dans le lupus, l’efficacité à long terme entre la chloroquine et l’hydroxychloroquine est similaire.
“Double-blind, randomized, controlled clinical trial of Clofazimine compared with Chloroquine in patients with SLE”(39)	Etude randomisée en double aveugle étudiant l’efficacité de la clofazimine à 100 mg/jour comparée à la chloroquine diphosphate à 250 mg/jour, pendant six mois chez les patients lupiques ayant une atteinte cutanée.	Mesure de l’évolution des lésions cutanées (amélioration ou aggravation) selon un score déterminé par un médecin « observateur ».	L’efficacité de la clofazimine sur les lésions cutanées est similaire à celle de la chloroquine.	Les résultats suggèrent que la clofazimine pourrait être réservée aux patients ayant exclusivement des manifestations cutanées du lupus et une contre-indication à la chloroquine ; tandis que les anti-malariques peuvent aussi prévenir les aggravations de la maladie.

Tableau 3 (1^{ère} partie) : *Tableau résumant les essais cliniques évaluant les A.I.N.S., les antimalariques et certains immunosuppresseurs dans le lupus*

Essais	Design	Critères de jugement	Résultats	Conclusion
“A double-blind placebo-controlled trial of intravenous methylprednisolone in SLE” (40)	Etude randomisée en double-aveugle, contre placebo, étudiant le bénéfice de l’ajout de méthylprédnisolone (1g dans 500ml de solution saline, trois jours consécutifs) à un traitement conventionnel de prednisolone par voie orale (40 à 60 mg/j). Les patients ont été suivi pendant six mois.	Evolution des grades de sévérité de la maladie basée sur l’évolution clinique et les résultats de laboratoires. Changement dans les doses de prednisolone utilisées.	On observe une plus grande amélioration dans le groupe <i>méthylprédnisolone en IV</i> après quatorze jours de suivi, mais la différence entre les deux groupes n’est pas significative statistiquement. Il n’a pas non plus de différence statistique dans les doses de prednisolone reçues dans les deux groupes.	Les résultats suggèrent que la méthylprédnisolone peut apporter un effet bénéfique chez les patients atteints de L.E.D. lorsqu’elle est utilisée en association avec la prednisolone par voie orale.
“Corticosteroids and neuropsychological functioning in patients with SLE” (41)	Etude en double aveugle randomisée évaluant l’effet de la prednisone (0,5 mg/j) comparé au placebo lors de trois périodes successives. Chaque période est constituée de 21 jours de traitement (placebo ou stéroïdes) suivi de sept jours où les doses de stéroïdes vont être diminuées (diminution de 5 à 10 mg tous les deux jours) et de sept jours de washout.	Tests mesurant les compétences cognitives (mémoire spatiale et verbale, tests psychomoteurs). Etat de l’humeur basé sur six échelles (tension, dépression, colère, vigueur, fatigue, et confusion).	Les stéroïdes ont été associés à une meilleure cognition et une meilleure humeur. cinq patients ont ressenti un effet bénéfique des stéroïdes.	Les stéroïdes ont généralement un effet positif sur les troubles cognitifs et sur l’humeur chez les patients lupiques.
“The effect of moderate-dose Corticosteroids in preventing severe flares in patients with serologically active but clinically stable, SLE” (42)	Etude randomisée en double aveugle comparant la prednisone (30 mg/j pendant deux semaines puis 20 mg/j pendant une semaine et 10 mg/j pendant une semaine) à un placebo. Les patients sont suivis pendant 3 à 18 mois.	Comparaison de la proportion de patients ayant eu une poussée de la maladie. Effet du traitement sur la sérologie (titre d’Ac anti-ADN et protéines du complément C3a). Dose cumulative de corticostéroïdes.	Toutes les poussées sévères (sept au total) sont apparues dans le groupe placebo. On observe une tendance à la diminution de la protéine C3a après un mois de traitement par prednisone mais sans différence significative ; il en est de même pour le taux d’Ac anti-ADN. Seuls les patients ayant eu une poussée sévère ont vu leur traitement corticoïdes initié ou leurs doses augmentées.	Un traitement sous corticoïde à court terme et à doses modérées peut prévenir l’apparition de poussées sévères chez les patients lupiques ayant une modification de leur activité sérologique (augmentation de leur taux de C3a et du taux d’Ac anti-ADN).

Tableau 3 (2^{ème} partie) : *Tableau résumant les essais cliniques évaluant les A.I.N.S., les antimalariques et certains immunosuppresseurs dans le lupus*

3. Les nouvelles cibles thérapeutiques

Les traitements du lupus systémique reposent classiquement sur les corticostéroïdes et les médicaments immunosuppresseurs. Ces deux types de traitement ont l'inconvénient d'agir de façon non spécifique. Une meilleure connaissance de la pathogénie du lupus a permis le développement de thérapies plus spécifiques ayant trois objectifs majeurs :

- L'inhibition de l'activation du système immunitaire (en particulier de la synthèse d'auto-anticorps pathogènes dirigés contre les cellules du soi),
- L'élimination des auto-anticorps et des immuns complexes pathogènes,
- L'inhibition des agressions tissulaires induite par ces auto-anticorps et ces immuns complexes.

3.1 Les inhibiteurs des lymphocytes B

L'inactivation des lymphocytes B au cours du lupus semble possible via des inhibiteurs spécifiques. Ces stratégies anti-lymphocytaires sont prises très au sérieux par les scientifiques. On constate en effet que le nombre d'études montrant le rôle majeur des lymphocytes B dans la pathogenèse des Maladies Auto-Immunes (M.A.I.) est de plus en plus important et ce particulièrement dans le lupus. Dans ce type d'approches, la déplétion sélective des lymphocytes B demeure l'option la plus pratique, l'exemple du rituximab, un anticorps monoclonal anti-CD20, en est la preuve concrète. Les anticorps anti-CD22 sont aussi une option de développement (43).

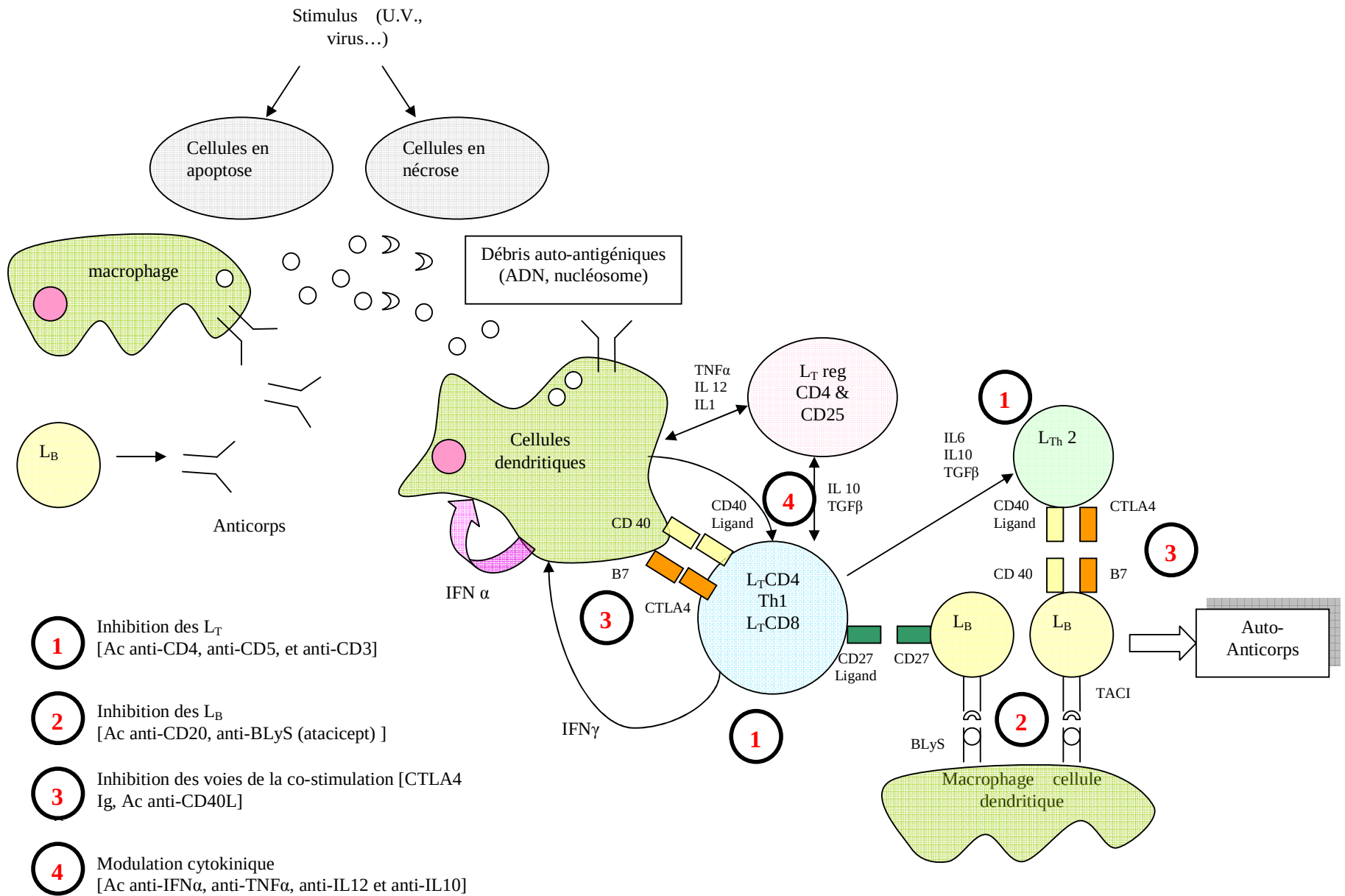


Figure 5 :Schéma physiopathologique et sites d'intervention dans le lupus (schéma simplifié de J.Sibila, 2005) (44)

3.1.1 Un anticorps monoclonal anti-CD20 : le rituximab

Le rituximab est un anticorps monoclonal chimérique anti-CD20. Le CD20 est une molécule présente sur tous les lymphocytes B matures mais qui n'est exprimée ni sur les lymphocytes pré-matures B, ni sur les plasmocytes. La fixation du rituximab sur le CD20 entraîne la lyse du lymphocyte B par un mécanisme de cytotoxicité lié au fragment Fc des Immunoglobulines (Ig), par activation du complément ou par apoptose directe.

Ce médicament est utilisé dans le traitement des lymphomes B depuis 1997 (2). La polyarthrite rhumatoïde est la première M.A.I. pour laquelle le rituximab a démontré une efficacité dans un essai contrôlé (45). Il est actuellement prescrit chez les patients atteints de Polyarthrite Rhumatoïde (P.R.) active sévère en échec de traitement anti-TNF (Tumor Necrosis Factor, Facteur Nécrosant de Tumeur). Parmi les autres maladies auto-immunes ciblées par le rituximab, on retrouve le lupus systémique et la néphropathie lupique.

Les premiers résultats cliniques du rituximab dans le lupus sont très intéressants comme le constate une étude de doses (46) réalisée chez des patients ayant un lupus actif. Les patients étaient répartis dans trois groupes recevant soit de faibles doses (100 mg/m^2) soit des doses moyennes (375 mg/m^2), soit des fortes doses (375 mg/m^2 , quatre fois par semaine). Ce traitement a permis une amélioration des manifestations cutanées et articulaires ainsi qu'une diminution notable significative de la fatigue. En revanche, aucune modification significative des taux d'anti-ADN natif et des taux complémentaires C_3 n'a été relevée. Dans une étude précédente (47) sans aveugle au cours de laquelle six patients atteints d'un lupus résistant au traitement immunosuppresseur avaient reçu deux injections de rituximab (500 mg, deux fois par semaine) et de deux injections de cyclophosphamide ($2 \times 750 \text{ mg}$) en plus d'une corticothérapie par voie orale, deux résultats intéressants ont été mis en avant. Premièrement, pendant le suivi (entre 6 et 18 mois), on a remarqué une amélioration significative du score du BILAG (British Isles Lupus Assessment Group, échelle utilisée pour évaluer la sévérité de la maladie chez des patients atteints de lupus érythémateux disséminé) de 15,3 à l'inclusion à 8,3 en moyenne après six mois. De plus, la plupart des signes cliniques s'est améliorée, en particulier les atteintes rénales (chez deux patients sur trois) mais sans modification du taux d'anticorps anti-ADN ou du taux d'immunoglobuline.

En 2006, Genentech a lancé une étude de phase III pour évaluer le rituximab associé au M.M.F. dans la néphropathie lupique, et plus particulièrement chez des sujets ayant une néphropathie de classe III ou IV : 144 patients ont été randomisés dans cette étude. Le critère de jugement principal était la proportion de sujets ayant obtenu une réponse rénale complète

(diminution de l'atteinte rénale et normalisation de fonctions rénales) ou partielle (pas de perte supplémentaire des fonctions rénales) après 52 semaines de traitement. En mars 2009, Genentech a annoncé que cette étude de phase III n'avait pas atteint l'objectif fixé, le rituximab associé au M.M.F. et aux corticostéroïdes n'avait pas diminué de manière significative l'activité de la maladie après un an de traitement (48).

Le manque d'efficacité du rituximab dans la néphropathie lupique n'est peut être pas l'unique raison qui explique cet échec, le design de l'étude peut être mis en cause. On remarque par exemple que le régime de stéroïdes imposé par le protocole était trop différent de ceux utilisés en clinique : le cyclophosphamide était donné à 500 mg en perfusion juste avant l'injection de rituximab alors que les doses recommandées dans le lupus, bien que non approuvées dans cette indication, sont beaucoup plus faibles (environ 30 mg/jour). En outre, le fait que le lupus soit une maladie peu stable rend très difficile l'interprétation des résultats d'efficacité et peut ainsi sous-estimer les effets du médicament. D'autres essais associant rituximab avec d'autres immunosuppresseurs comme le M.M.F. sont aujourd'hui en cours (49, 50), les résultats devraient nous aider à mieux évaluer l'intérêt d'un anti-CD20 dans le traitement du L.E.D..

3.1.2 Autres exemples d'inhibiteurs de L_B

D'autres anticorps monoclonaux, les anti-CD22 comme l'epratuzumab ou l'alemtuzumab représenteraient de bons candidats capables d'inhiber la surexpression des L_B dans le lupus. En effet, le CD22 est une molécule spécifique de ces lymphocytes. De plus, il a été observé que le ligand CD22 était surexprimé à la surface des lymphocytes B chez les patients lupiques (51, 52).

A l'instar du rituximab, l'epratuzumab pourrait moduler le seuil d'excitation du récepteur sans entraîner une lyse de l'ensemble des lymphocytes B. Cet anticorps a d'abord été développé dans les lymphomes non hodgkiniens. Deux études ouvertes encourageantes ont été réalisées dans le lupus et le syndrome de Sjögren.

Une étude ouverte non contrôlée de phase II (51) a été conduite dans le L.E.D. afin de déterminer la tolérance de la molécule. Le critère de jugement principal était l'amélioration du score du BILAG entre le début et la fin de l'étude. Les quatorze patients ont reçu quatre doses de 360 mg/m² d'epratuzumab (une injection toutes les deux semaines) et ont été suivis pendant dix-huit semaines. Des changements statistiques significatifs ont été observés dans

les scores du BILAG après six, dix et dix-huit semaines de traitement : 15% des patients ont obtenue une amélioration de 50% ou plus de leur score. Ceci doit bien évidemment être contrebalancé par le faible nombre de patients (14 sujets enrôlés au total).

Deux études de phases III contrôlées et randomisées cherchent à évaluer epratuzumab contre placebo. L'activité de la maladie y est mesurée par le score du BILAG.

Les résultats préliminaire d'une étude de phase II montrent que le traitement par un anticorps anti-CD22 permettrait une diminution significative de l'activité de la maladie et une amélioration de la qualité de vie, ainsi qu'une diminution importante des taux de corticostéroïdes requis pour contrôler les poussées (53).

D'autres pistes thérapeutiques suivant la voie de l'inhibition des lymphocytes B sont en cours d'évaluation préclinique (principalement les interactions CD22-CD22 ligand). Une connaissance plus précise du rôle des lymphocytes B dans le lupus devrait permettre d'identifier des cibles thérapeutiques intéressantes.

3.2 Les inhibiteurs des lymphocytes T

Différentes approches peuvent être envisagées pour bloquer les lymphocytes T auto-réactifs qui sont des cellules clefs dans le lupus systémique.

3.2.1 Les anticorps monoclonaux

D'autres anticorps monoclonaux sont à l'étude dans le lupus : les Ac anti-CD4, anti CD5 et anti-CD3.

Les Ac monoclonaux anti-CD4 n'ont encore jamais été évalués chez l'homme. En revanche leur efficacité a déjà été démontrée chez la souris. Lors d'une étude chez la souris lupique, la survie a été supérieure dans le groupe traité par cet anticorps comparé au groupe traité par immunoglobuline. En outre, le traitement par anticorps anti-CD4 a fait diminuer la prolifération des lymphocytes B chez ces souris et a permis de diminuer la sévérité de la M.A.I. après quelques semaines de traitement (54).

Une étude pilote a étudié l'effet de l'anticorps anti-CD5 couplé à la chaîne α de la ricine chez 6 patients atteints de lupus érythémateux disséminé, dont 4 avaient une atteinte rénale. Deux patients avec une néphropathie lupique ont vu leur état général s'améliorer avec

le traitement mais des problèmes de tolérance pourraient empêcher son utilisation chez l'homme (55).

Les anticorps anti-CD3 ne sont actuellement évalués que dans le diabète de type 1 mais leur mécanisme d'action avec effet direct sur les lymphocytes T (L_T) pourrait suggérer un effet potentiel dans les M.A.I. et en particulier dans le lupus. Cependant, aucune étude n'a été réalisée à ce jour (56).

3.2.2 Les anticorps anti-CD40 ligand

La voie CD40 – CD40 ligand est une voie de co-stimulation importante reposant sur l'interaction entre le CD40 exprimé par les cellules présentatrices d'antigènes et le CD40 ligand exprimé par des L_T activés.

Dans le lupus, la population de L_T exprime des CD40L de manière très importante et en parallèle, les lymphocytes B sont eux-aussi capables d'exprimer ces CD40L (57). On retrouve donc des taux de CD40 ligand très élevés dans le sérum des patients lupiques.

Chez les souris lupiques, le blocage de cette voie CD40 – CD40L par un anticorps permet d'améliorer la survie globale. Son utilisation permettrait de diminuer les dépôts d'immuns complexes au niveau du glomérule rénale et ainsi d'inhiber l'inflammation des reins (58).

Plusieurs études ont été conduites chez l'homme afin d'évaluer l'utilité de tels anticorps dans le lupus. Une étude de phase I a testé IDEC-131, un anticorps monoclonal anti-CD40L, administré en IV chez 23 patients atteints de lupus (59). L'injection d'Ac a été bien tolérée et a servi de base à l'étude de phase II. Cette étude qui a regroupé 85 patients, dont 28% avec une atteinte rénale, comparait la molécule IDEC-131 au placebo. Malgré un bon profil de tolérance, le traitement par IDEC-131 n'a pas démontré d'efficacité clinique (60).

Une autre molécule intervenant sur la voie CD40 – CD40L a été développée chez l'homme : il s'agit du BG9588. Lors d'une étude de phase II, le BG9588 a été associé à une diminution du taux d'anticorps anti-ADN natif, une amélioration du taux de complément (C3) et une réduction significative de la protéinurie (61). Cependant, l'étude a dû être stoppée prématurément à cause de thromboses (dont 2 infarctus du myocarde) certainement induites par cet Ac. Le profil de sécurité du BG9588 n'est donc pas acceptable pour un usage chez l'homme.

Les évaluations chez l'homme ont donc été stoppées, mais les études expérimentales évaluant le bénéfice/risque d'une combinaison avec d'autres molécules sont encore en cours, comme par exemple l'association anti-CD40L et CTLA4-1g (62).

3.2.3 Les CTLA4-Ig

Il s'agit d'un inhibiteur de la voie B7-B28/CTLA4, formé par le CTLA4 et par une portion d'immunoglobuline. Les molécules B7 et B28, exprimées par les CPA, sont des co-stimulateurs qui, liés à leur ligand CD28, vont activer la prolifération des L_T. Le ligand CTLA4 peut lui aussi se fixer à B7 avec une affinité supérieure et empêcher l'action de B7 sur les L_T. La protéine de fusion appelée CTLA4-Ig, va donc se fixer sur B7 pour bloquer l'activation lymphocytaire T (63, 64).

Des études menées chez les souris lupiques ont montré que l'injection de CTLA4-Ig, en neutralisant le ligand B7, permettrait de bloquer la production d'anticorps anti-ADN et de prolonger la survie et cela-même a un stade avancé de la maladie. Chez la souris atteinte de néphropathie lupique, CTLA4-Ig prolongerait donc la survie, réduirait l'intensité de la néphropathie et bloquerait la production d'auto-anticorps. Son efficacité semble être amplifiée lors de l'association avec le cyclophosphamide (65-67).

Le CTLA4-Ig a été étudié chez l'homme en phase I d'abord dans le psoriasis et le rejet de greffe. Durant cette phase, le produit a été bien toléré par les patients et des phases II dans le lupus généralisé et dans la néphropathie lupique sont actuellement en cours (68).

3.3 Les inhibiteurs des cytokines

Il s'agit d'un domaine très difficile à analyser car les conclusions tirées des modèles animaux ne peuvent pas toujours être extrapolées chez l'homme. En effet, la maladie se développe très différemment chez les animaux et chez les humains, et l'absence de cytokines ne peut pas être mise en évidence dans les modèles animaux alors qu'elle peut l'être chez l'homme.

3.3.1 Les inhibiteurs de l'IL-10

Il est important de noter que les cytokines de la famille des interleukines (IL) exercent une action complexe dans le système immunitaire : particulièrement l'IL-10, qui régule la production et la différenciation des lymphocytes B, très importante dans le lupus (69).

L'IL-10 est une cytokine complexe produite par différentes populations lymphocytaires. Elle a un rôle de cytokine régulatrice et exerce son action immunosuppressive en inhibant l'activation des monocytes-macrophages et des cellules dendritiques.

L'IL-10 a aussi des effets immunostimulateurs et est ainsi capable d'induire la prolifération et la différenciation des lymphocytes B, en particulier ceux qui produisent des anticorps anti-ADN (70).

Chez l'animal, l'administration IL-10 aggrave l'atteinte rénale lupique, mais cet effet peut être inhibé par l'administration d'Ac monoclonaux anti-IL-10 (71). Cependant, il est difficile de déterminer le rôle exact de l'IL-10 dans les modèles animaux. En effet, certaines études (72) ont mis en avant l'effet protecteur de l'IL-10 dans des modèles murins de lupus. Mais le rôle des cytokines peut dépendre du modèle étudié ou d'autres circonstances, comme la durée d'évolution ou la sévérité de la maladie. Il est donc très délicat d'appliquer ces résultats précliniques à l'homme.

En 2000, les résultats d'une première étude clinique de phase évaluant un anticorps monoclonal anti-interleukine-10 dans le lupus résistant aux corticostéroïdes ont été publiés (69). Six patients ont reçu l'anticorps murin pendant 21 jours. Les premiers résultats étaient encourageant puisqu'il a été observé une diminution des lésions cutanées et des manifestations articulaires ainsi qu'une amélioration du score SLEDAI (SLE Disease Activity Index) et une réduction de la corticothérapie.

3.3.2. Les inhibiteurs du TNF α

Le TNF α est une cytokine qui a de multiples fonctions physiologiques et de nombreuses implications en immunopathologie. Chez la souris lupique, la forme membranaire du TNF α exprimé par les lymphocytes Th1 peut activer la prolifération des lymphocytes B producteur d'auto-anticorps. Des effets contradictoires ont été observés lors de l'injection

d'anti-TNF α chez la souris caractérisés soit par une amélioration soit par une aggravation de la maladie. Ces résultats sont peut-être dus au fait que le TNF α agit à la fois sur les L_T régulateurs et sur les cellules dendritiques (44, 73).

Chez l'homme atteint de lupus, on a observé des taux sériques élevés de TNF α . Plusieurs études ont montré que le TNF α serait produit de manière excessive dans le lupus et pourrait participer à la formation de lésions cutanées, ainsi l'utilisation d'anti-TNF α pourrait-elle se révéler intéressante dans le traitement du lupus. Les données concernant les anti-TNF α sont encore complexes et les résultats cliniques sont quasiment inexistant : Fautrel & Al ont montré qu'Etanercept permettait la régression des lésions lupiques cutanées au cours d'une polyarthrite rhumatoïde (44, 74, 75). Actuellement, une étude de phase II/III universitaire est en cours.

3.3.3. Les anticorps anti-IFN (IFN α et IFN γ)

Les monocytes des patients lupiques, contrairement à ceux des sujets sains, pourraient se différencier en cellules dendritiques sous l'effet de la production excessive d'IFN α . Les cellules dendritiques vont alors se comporter comme de cellules présentatrices d'antigènes provoquant l'activation des lymphocytes T auto-réactifs. Plusieurs études par micro-arrays ont analysé la surexpression des gènes de l'interféron chez les patients lupiques. Ces études sont souvent difficiles à analyser mais démontrent le rôle important joué par l'IFN dans le lupus. Le développement d'anticorps monoclonaux humanisés anti-IFN α pourrait donc agir sur cet excès d'IFN α et ces derniers pourraient être utilisés comme traitement du lupus (44, 76). Une étude de phase I est actuellement en cours.

L'IFN γ est aussi importante dans le lupus murin que dans le lupus humain. Chez les souris atteintes de lupus, l'injection d'IFN γ va aggraver la maladie tandis que le traitement par des anticorps anti-IFN γ va permettre une amélioration de la maladie (77, 78). Malgré ces données intéressantes, aucune étude clinique n'a encore été lancée dans le lupus du fait des effets indésirables observés dans d'autres domaines (notamment des effets bi-phasiques difficiles à moduler).

3.4 Inhibiteur du système BLyS : atacicept

3.4.1 Le système BLyS et APRIL

La cytokine BLyS (B Lymphocyte Stimulator) encore appelée BAFF (B cell Activity Factor of the TNF Family) est impliquée dans la survie et la maturation des L_B auto-réactifs. BLyS peut être exprimée par des monocytes, des macrophages, des cellules dendritiques et d'autres cellules comme les astrocytes ou les neutrophiles et peut se fixer sur plusieurs récepteurs dont le principal est le BAFF-récepteur (figure 5). Ce dernier va influencer la différenciation et la survie des lymphocytes B. BLyS peut aussi se fixer sur des récepteurs TACI (Transmembrane Activator and Calcium modulator and cyclophilin ligand Interactor) et BCMA (B Cell Maturation Antigen). BLyS intervient dans la maturation des lymphocytes B (hors moelle osseuse) ainsi que dans leur prolifération et leur survie. Une production anormalement élevée de BLyS pourrait favoriser la survie préférentielle des lymphocytes B auto-réactifs et la production d'auto-anticorps.(79)

APRIL (A Proliferation Inducing Ligand) est aussi une cytokine de la famille des TNF. Elle est très proche de BLyS puisqu'elle présente 33% d'homologie avec BAFF. On retrouve APRIL dans de nombreux tissus sains mais aussi cancéreux (prostate, pancréas...). APRIL peut être exprimée de manière anormale par les L_B tumoraux alors que les L_B normaux n'expriment pas cette cytokine. Enfin, APRIL peut se fixer sur les L_B grâce aux récepteurs TACI et BCMA mais il existe un troisième récepteur qui lui est spécifique : il s'agit d'APRIL-récepteur (80-82) (figure 6). Les effets d'APRIL sont moins bien définis que ceux de BLyS mais il est admis que cette cytokine stimule aussi la prolifération et la survie des L_B mais surtout qu'elle facilite la production d'IgM. APRIL pourrait ainsi participer à la tolérance des L_B.

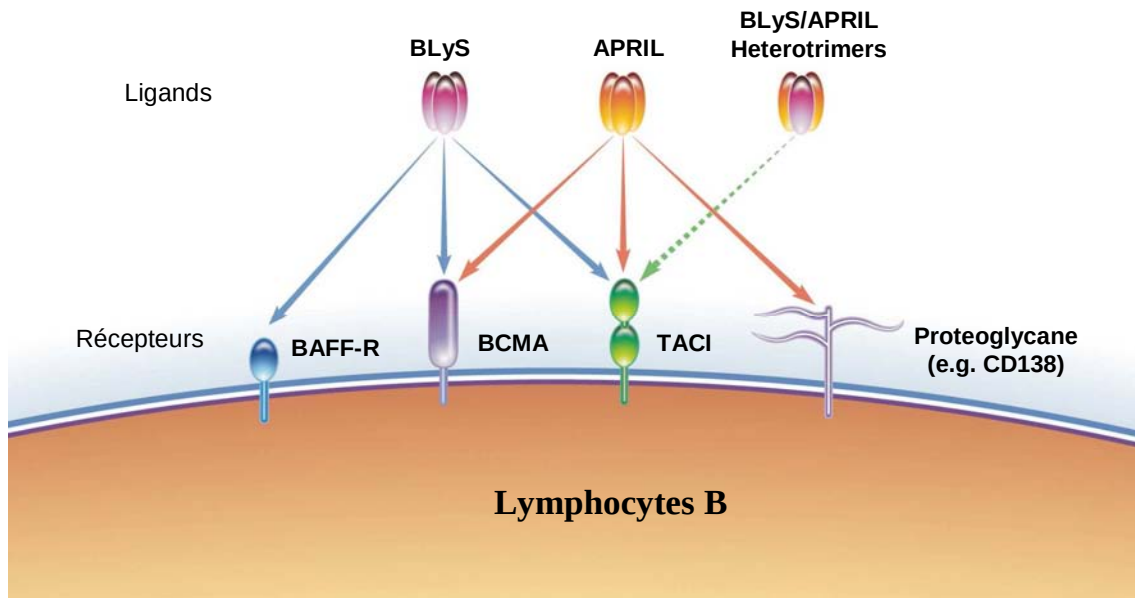


Figure 6 : Les trimères BLyS/APRIL se fixent sur TACI mais pas sur BCMA ou BAFF-récepteur.

Les différents récepteurs des molécules BLyS et APRIL sont formés au fur et à mesure de la maturation des lymphocytes B. Sur la figure 7, on peut voir que TACI est exprimé à un stade plus tardif de la maturation des lymphocytes.

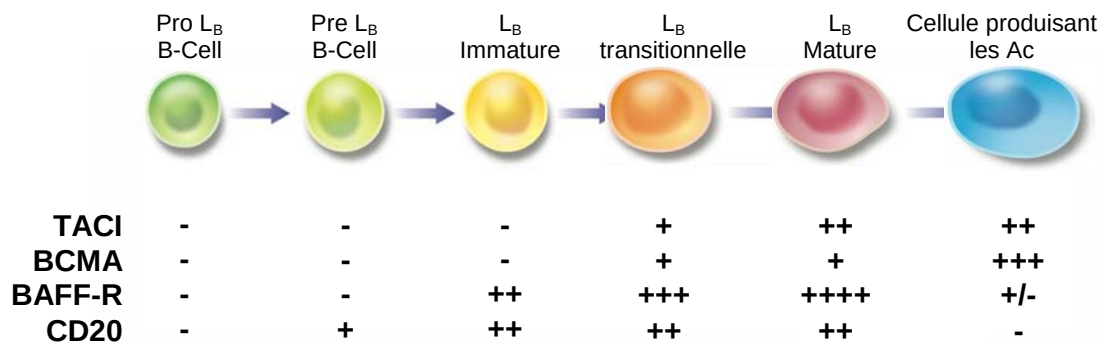


Figure 7 : Expression des récepteurs de BLyS et APRIL au cours du développement des L_B

3.4.2 BLyS et APRIL dans les maladies auto-immunes

Il a été suggéré à plusieurs reprises qu'APRIL et BLyS joueraient un rôle important dans l'apparition et/ou dans le développement des maladies auto-immunes, notamment les L.E.D.

Chez les animaux, l'injection de BLyS favoriserait l'apparition de M.A.I. Ainsi, très logiquement, le traitement par des inhibiteurs de BLyS (tel que TACI-Ig, appelé aussi atacicept) semble-t-il améliorer les symptômes des M.A.I. En 2003, un groupe de travail a ainsi montré que la perte du ligand TACI pouvait causer une prolifération des lymphocytes, établissant aussi qu'atacicept serait un inhibiteur du récepteur TACI et donc un régulateur négatif des L_B (83-86).

En 2001, Zhang et son équipe ont étudié le taux sérique ainsi que les fonctions BLyS chez des patients atteints de lupus érythémateux disséminé (87). Ils ont constaté plusieurs choses : premièrement que les taux de cytokines BLyS étaient augmentés chez les patients atteints de lupus comparé aux patients sains et deuxièmement que cette même cytokine jouerait un rôle encore plus important dans la stimulation des lymphocytes B. Enfin, ils ont aussi montré que le taux élevé de BLyS était associé avec une augmentation de la production d'auto-anticorps anti-ADN, qui eux-mêmes participent à la pathogenèse de la maladie.

Quant au rôle d'APRIL dans le lupus, les résultats sont plutôt contradictoires puisque selon les études, le taux est soit corrélé positivement avec le taux d'auto-AC anti-ADN soit inversement proportionnel à l'activité de la maladie (88, 89). En revanche la similarité structurale des deux cytokines (structures très proches et récepteurs communs) ainsi que leur rôle commun dans le développement et la survie des lymphocytes B sont deux points constamment mis en avant dans ces études.

La surexpression de BLyS et APRIL chez le patient atteint de lupus et leurs effets observés dans les modèles animaux en font des cibles très intéressantes pour de nouveaux traitements. De plus, chez la souris atteinte de lupus, le blocage des fonctions BLyS semble diminuer la sévérité de la maladie et prolonger la survie (90). Il apparaît donc logique d'étudier de manière plus approfondie les antagonistes de BLyS et d'APRIL.

3.4.3 Atacicept, un antagoniste de BLyS et APRIL

Atacicept est une molécule au mécanisme d'action totalement innovant puisqu'il s'agit d'un antagoniste spécifique de BLyS et APRIL (figure 8), elle constitue donc une candidate idéale pour une thérapie ciblant les lymphocytes B. Atacicept est une protéine de fusion recombinante composée de deux parties :

- une partie extracellulaire du récepteur TACI, capable de se lier avec BLyS ou APRIL.
- La seconde partie correspond au fragment Fc d'une immunoglobuline G humaine.

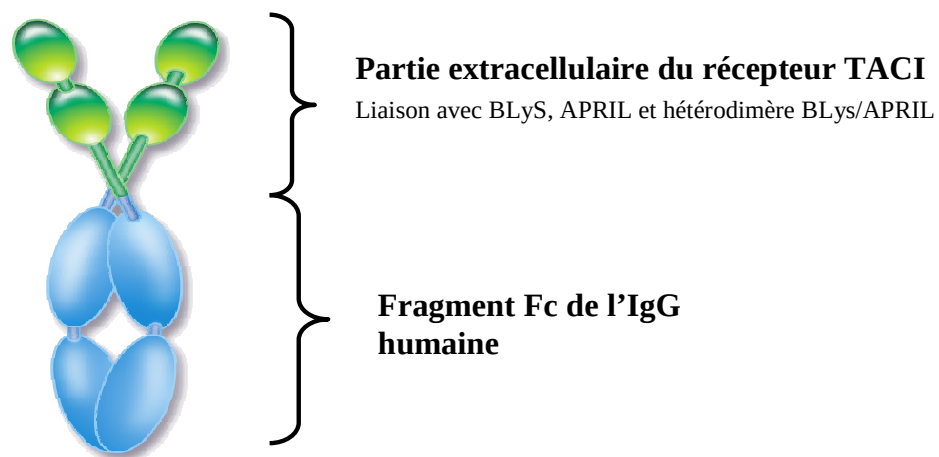


Figure 8 : schéma d'une molécule d'atacicept

Cette nouvelle molécule possède des caractéristiques singulières :

- elle cible les lymphocytes B (qui ont un rôle important dans les M.A.I. et certaines hémopathies à lymphocytes B) à travers le système BLyS/APRIL,
- elle dispose d'un mécanisme d'action original caractérisé par l'inhibition des cytokines BLyS, APRIL et les hétérotrimères BLyS/APRIL, modulateurs des fonctions des lymphocytes B,
- la partie humaine Fc de l'IgG permet d'augmenter sa demi-vie.

Ces spécificités lui confèrent un potentiel thérapeutique large.

La capacité d'atacicept à bloquer les effets de BLyS et d'APRIL lui permet de diminuer le nombre de lymphocytes B et en conséquence les taux d'anticorps. Par conséquent ce traitement pourrait ralentir la progression de la maladie.

Contrairement aux autres molécules bloquant les L_B qui ciblent uniquement BLyS, atacicept est lui capable de bloquer BLyS, APRIL ainsi que les complexes BLyS/APRIL. Comme le récepteur TACI ne s'exprime que tardivement dans la maturation des L_B (voir figure 7), atacicept va agir sur le développement des L_B à un stade plus tardif (figure 9 et 10) et va donc bloquer le développement des L_B matures sans pour autant stopper complètement leur production, il n'y a donc pas de suppression de l'immunité. C'est pour cela que l'on parle d'immunomodulation et non d'immunosuppression. Ce mécanisme d'action va aussi permettre un meilleur rétablissement du taux de L_B et d'Ig à l'arrêt du traitement.

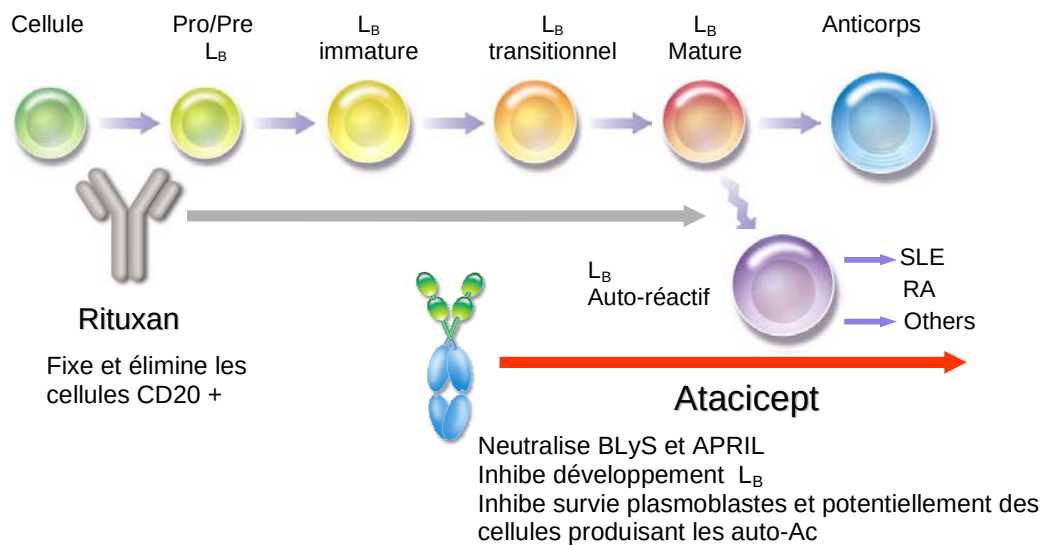


Figure 9 : Comparaison atacicept et rituximab - Atacicept élimine les lymphocytes B par un mécanisme d'action différent du rituximab, il attaque les L_B matures.

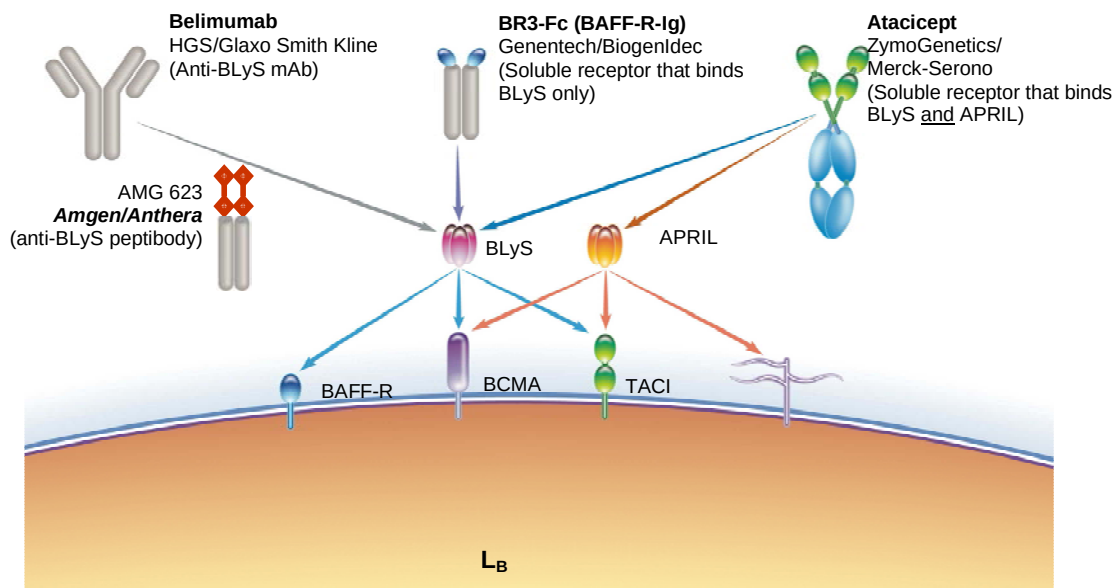


Figure 10 : *Atacicept se fixe sur BLyS, APRIL et hétérotrimères alors que les autres molécules inhibent uniquement BLyS.*

Son mécanisme d'action lui permet potentiellement d'être utilisé dans de nombreux domaines thérapeutiques :

- Le L.E.D. (M.A.I. induite par les L_B),
- La P.R. (avec notamment la récente découverte du rôle important des L_B dans cette pathologie),
- Les hémopathies à lymphocytes B : lymphomes non hodgkinien, la. leucémie lymphoïde chronique (L.L.C), voire le myélome multiple.

3.4.4 Etudes Précliniques

Le traitement par atacicept de souris saines a entraîné un blocage partiel du développement des lymphocytes B tout en ayant un impact minimal sur les cellules précurseurs de ces L_B au niveau de la moelle osseuse ainsi que sur les autres lignées comme les L_T, les monocytes ou les neutrophiles. En utilisant des souris transgéniques surexprimant le récepteur TACI, on observe une diminution significative de la production des L_B matures et

du nombre d'auto-anticorps circulants. Ces souris transgéniques expriment cependant un taux normal de lymphocytes B et T au niveau du thymus, de la moelle osseuse et des ganglions lymphatiques (90).

Du fait de son effet immunosuppresseur, atacicept a été testé dans des modèles animaux dit « hôtes résistants » ce qui a permis d'observer directement ses effets fonctionnels sur le système immunitaire. Dans ces essais, les souris, traitées par atacicept, étaient infectées par le virus *influenza* afin de tester leur réponse immunitaire. Les résultats ont montré qu'atacicept diminuait le nombre de L_B circulant, ainsi que le nombre d'IgG et d'IgM sans pour autant diminuer la capacité de l'animal à éliminer l'infection virale (91).

Dans un modèle animal où des souris femelles atteintes de L.E.D. recevaient pendant cinq semaines une protéine de fusion, il a été observé que ce traitement retardait l'apparition de la maladie tout en limitant sa progression. S'il a été noté une diminution du nombre de L_B pendant la durée du traitement, leur nombre revenait à la normale environ dix semaines après son arrêt (91).

3.4.5 Toxicologie d'atacicept

Les différentes études de pharmacologie ont montré chez la souris et le singe qu'atacicept, à des doses allant jusqu'à 80 mg/kg par mois, n'avait pas d'impact sur les systèmes nerveux, respiratoire et cardiaque (NOAEL, No Observed Adverse Effect level). La dose « sans effet » a été déterminée à 20 mg/kg.

La toxicité d'atacicept a été étudiée chez la souris et le singe en injection sous cutanée :

- en dose unique
- de toxicité subaigüe
- de toxicité subchronique
- de toxicité chronique

Pendant quatre semaines, atacicept a été administré tous les deux jours chez la souris jusqu'à 1200 mg/kg et chez le singe jusqu'à 240 mg/kg, sans qu'aucun signe de toxicité systémique n'ait été observé. Les effets observés dans les études de toxicité subchronique et chronique (13 et 26 semaines) étaient similaires aux effets retrouvés dans les études de courtes durées. Dans tous les cas, les diminutions dose-dépendantes des taux

d'immunoglobulines sériques et de lymphocytes B se résolvait complètement après une période de recouvrement qui était plus ou moins longue selon la durée d'administration (92).

Les données de toxicologie d'atacept sont consistantes avec son profil pharmacologique (diminution du nombre de lymphocytes B et du nombre d'IgG et d'IgM). Il a aussi été démontré dans des études l'associant à la prednisone, au M.M.F. ou au cyclophosphamide (chez la souris) ou encore le combinant au rituximab (chez le singe), que son profil de sécurité restait quasiment inchangé lors de ces associations. Cependant, dans ces mêmes études, certains effets pharmacologiques d'atacept ont été tendanciellement potentialisés (92).

Des études de toxicologie dans la reproduction ont permis de mieux appréhender les effets d'atacept sur la fertilité, le développement embryonnaire et le développement du fœtus chez la souris et le lapin. Les études de fertilité ont d'abord été réalisées chez des souris mâles et femelles et ont montré une diminution du taux de nidation de l'œuf ainsi qu'une augmentation de la perte de l'œuf après nidation (92). En revanche, une autre étude conduite cette fois uniquement chez des souris mâles n'a pas montré d'effets similaires sur leurs fonctions reproductives. Cela suggère qu'atacept aurait un effet néfaste uniquement sur la fertilité des souris femelles.

Les études de développement chez la souris n'ont montré aucune malformation fœtale et aucun effet indésirable sur la fonction maternelle, et ceci quelque soit la dose d'atacept administrée. Chez le lapin, la prise d'atacept pendant la grossesse a été associée à un gain de poids moins important que dans les conditions normales. Cette différence s'explique par une diminution de la quantité de nourriture consommée. Le faible poids moyen des petits à la naissance a donc eu un effet délétère sur la viabilité de la portée.

Partie II :

Nouvelle cible Thérapeutique :

**Evaluation clinique et choix stratégique dans le
développement d'un immunomodulateur,
Atacicept**

1. Atacicept : plan de développement

Le programme atacicept est un programme de développement clinique ambitieux dont le but est d'évaluer cette nouvelle molécule dans différents domaines thérapeutiques, afin d'obtenir une autorisation de mise sur le marché incluant plusieurs indications.

Initialement, la priorité de ce programme fut l'indication Lupus Erythémateux Disséminé avec une première mise sur le marché prévue en 2012 (Figure 11).

1.1 Phase exploratoire du développement clinique d'atacicept

Les projets d'exploration de la molécule atacicept ont commencé en 2003 à la fin des études pré-cliniques.

Parmi les différentes possibilités de développement clinique de phase I, Merck-Serono a décidé de commencer avec prudence la phase exploratoire chez l'homme et de faire une étude courte de dose unique chez le volontaire sain.

Ce choix a été guidé par les recommandations internationales des agences de santé qui préconisent de débiter l'exploration d'un médicament par des études chez les volontaires sains et par l'état des connaissances toxicologiques de la molécule qui, à l'époque, ne comprenait aucune donnée clinique.

Cette première étude a permis de déterminer le niveau tolérance du système immunitaire humain à l'administration de la molécule. Comme ce niveau a été globalement bon pendant la phase I, il n'a pas été jugé utile de continuer les investigations chez le volontaire sain.

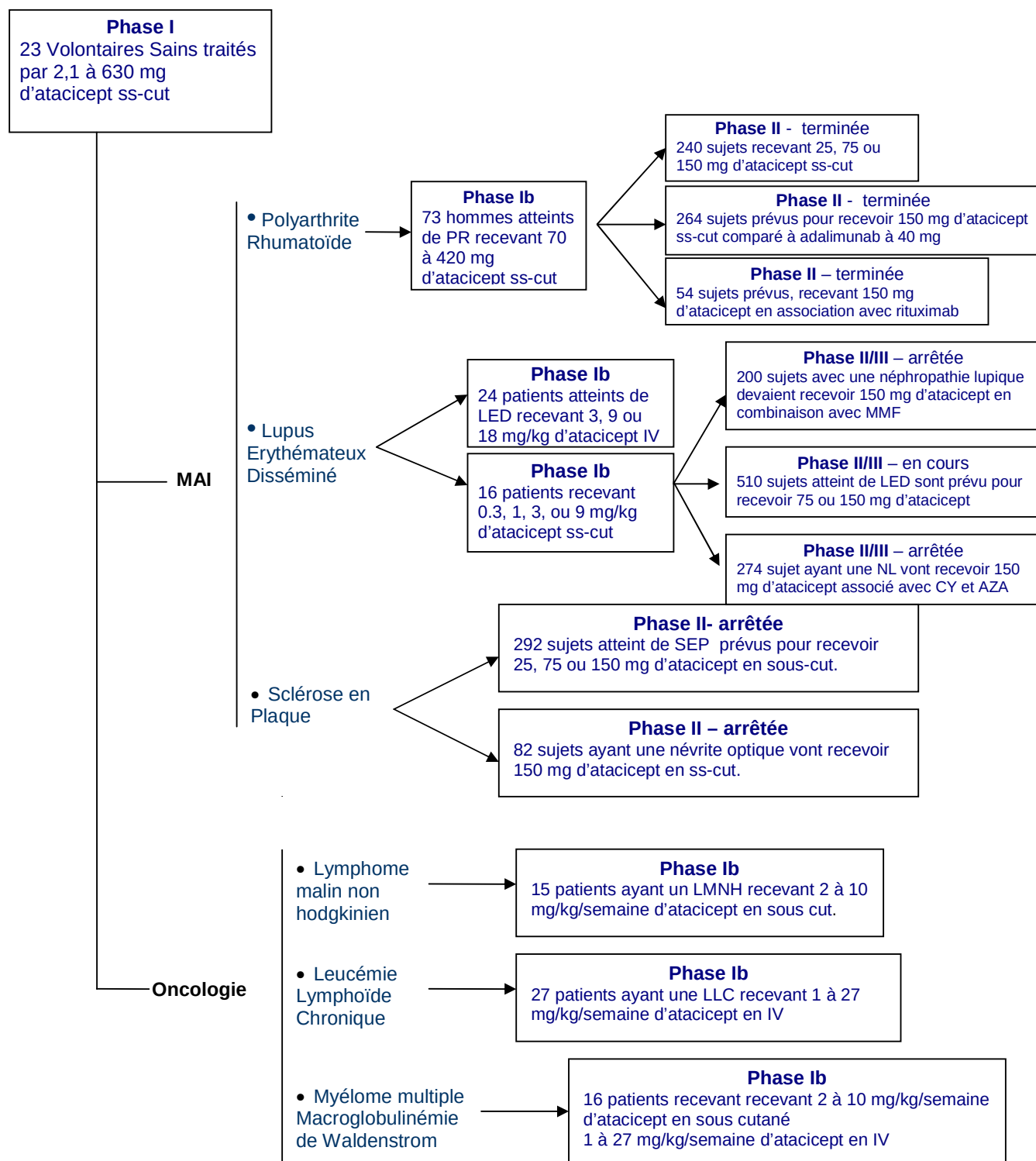


Figure 11 : Schéma du développement Clinique d'Atacicept

A ce stade du projet, il était établi qu'atacept provoquait chez l'animal une diminution du nombre de lymphocytes B (93). Les lymphocytes B ont donc été mis au cœur du programme de développement et deux voies principales se sont ouvertes :

- Les hémopathies malignes car elles impliquent presque toujours les lymphocytes B. On retrouve notamment les lymphomes, les leucémies et les myélomes,
- Les maladies auto-immunes, car ce sont des maladies dues à une prolifération trop importante des auto-anticorps. Or les auto-anticorps sont sécrétés par les plasmocytes, cellules dérivées des lymphocytes B. Une diminution du nombre des L_B entrainerait donc une diminution des plasmocytes ce qui éviterait cette prolifération anormale des auto-anticorps.

Les atteintes malignes des lymphocytes B vont constituer le principal sujet d'étude de la phase exploratoire d'atacept. Trois études vont être lancées dans le lymphome malin non hodgkinien, les leucémies lymphoïdes chroniques et le myélome multiple. Du fait de la grande sévérité des maladies des patients inclus dans ces études et du manque d'alternatives thérapeutiques, il n'a pas été jugé nécessaire de faire des évaluations sur l'administration de doses uniques. En effet, il était acquis qu'une seule dose d'atacept n'aurait pas suffi pour observer une amélioration de l'état des patients. Chaque dose de médicament a donc dû être administrée cinq fois chez chaque patient.

Atacept est aussi évalué dans un autre domaine très vaste : les maladies auto-immunes. En effet, les auto-anticorps à l'origine des symptômes des ces M.A.I. proviennent des lymphocytes B et leur diminution pourrait logiquement permettre de stopper l'évolution de ces troubles. Une évaluation approfondie des traitements existants et une revue systématique des différentes M.A.I. a permis d'en retenir deux : la polyarthrite rhumatoïde et le lupus érythémateux disséminé. Néanmoins, étant donné l'expertise de Merck-Serono dans la sclérose en plaque (S.E.P.), la porte n'a pas été complètement fermée à un développement dans cette pathologie.

Le développement d'atacept dans ces domaines thérapeutiques nécessite une évaluation à dose unique puis à doses répétées. Mais la mise en place de telles études est longue et coûteuse, le choix s'est donc porté sur une seule étude de phase I combinant doses uniques et doses répétées en parallèle. Ce protocole a été rendu possible par la mise en place de revue des données faisant suite à chaque administration de dose.

1.1.1 Phase I chez le volontaire sain

➤ Design

Atacicept a été administré pour la première fois chez l'homme lors d'une étude de phase I (94), en double-aveugle, contrôlée par placebo, avec une augmentation progressive des doses entre les différents groupes (échelle de dose). Le but de l'étude a été d'évaluer la sécurité, la pharmacocinétique ainsi que la pharmacodynamique d'une dose unique d'atacicept administrée en sous-cutanée chez des volontaires sains. Vingt-trois hommes ont été répartis en 4 groupes, chaque groupe recevant atacicept à des doses différentes : 2.1 mg, 70 mg, 210 mg ou 630 mg. Dans chacun des quatre groupes, un seul sujet a été randomisé pour recevoir une injection de placebo les autres volontaires reçoivent atacicept pendant 7 semaines. Il est important de noter que pour des raisons évidentes de sécurité, les groupes ont reçu le traitement les uns après les autres par ordre de dose croissante.

➤ Résultats

Aucun effet indésirable sérieux n'a été rapporté durant cette phase. La molécule a montré un bon profil de tolérance chez le volontaire sain jusqu'à la dose maximum administrée de 630 mg. La nature, l'incidence et la sévérité des effets indésirables ont été comparables entre les groupes d'atacicept et le placebo. Les résultats de la pharmacocinétique (figure 12) ont semblé indiquer une cinétique non linéaire.

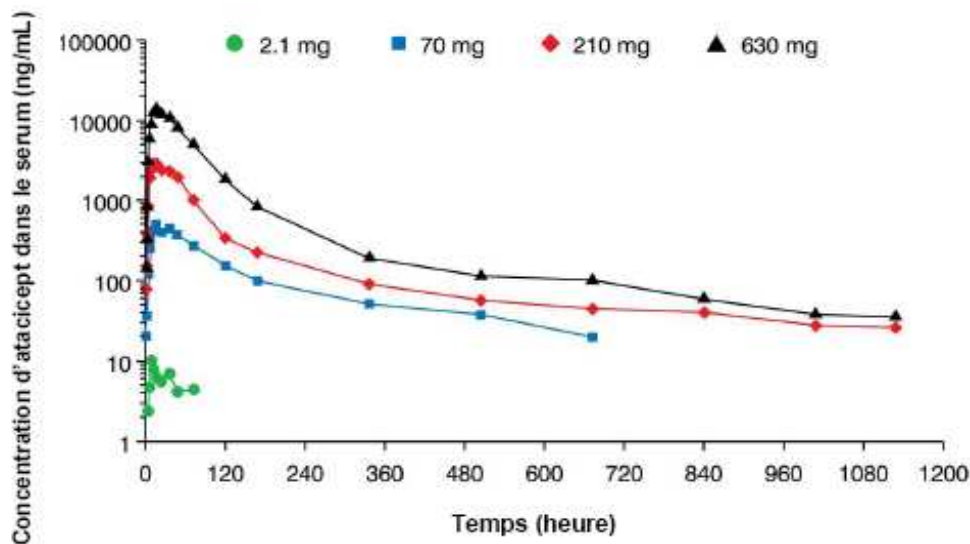


Figure 12 : Profil pharmacocinétique d'atacicept chez le volontaire sain

Concernant la pharmacodynamique (figure 13), il a été observé une diminution du taux d'IgM lors de l'administration des doses de 70, 210 et 630 mg d'atacept comparée au groupe placebo où le taux d'IgM est resté stable. Cet effet s'est maintenu pendant toute la durée de l'étude. Il n'y a pas eu d'effet apparent sur les IgG ou les lymphocytes B après l'administration d'une seule dose d'atacept.

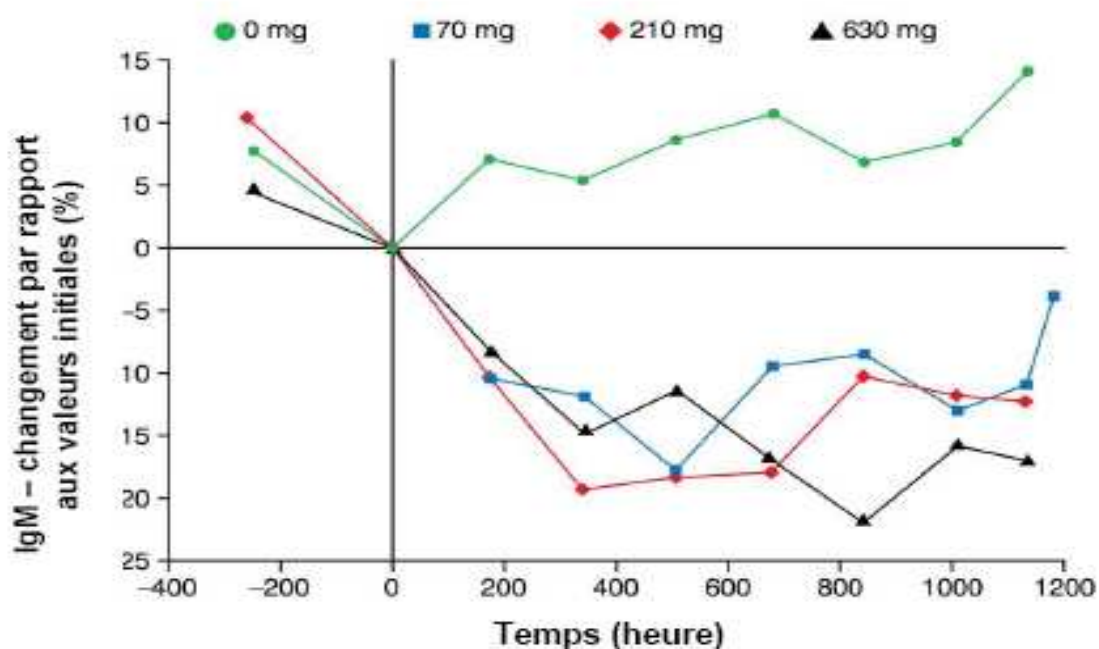


Figure 13 : Modification des taux d'Immunoglobulines M après l'administration d'atacept

➤ Conclusion

Les résultats des études de phase I ont confirmé la bonne tolérance d'atacept en injection sous-cutanée unique. La présence d'une activité biologique a été mise en évidence chez le volontaire sain (comme le prouve la réponse pharmacodynamique des taux d'IgM) après la prise du médicament, ce qui confirme les résultats des études précliniques.

1.1.2 Phase Ib : atteinte maligne des lymphocytes B

➤ Pourquoi atacicept dans les cancers des lymphocytes B ?

Les tumeurs touchant les lymphocytes B constituent un groupe hétérogène de cancers avec différents schémas de traitement et de réponses possibles. Elles correspondent à des maladies allant d'une leucémie lymphoïde chronique, évoluant sur plusieurs années, à des lymphomes agressifs. Les patients présentant une forme agressive ont un pronostic de survie très faible.

En plus de leur rôle dans le développement et la survie des L_B, les molécules BLyS et APRIL semblent être surexprimées dans les cancers touchant les lymphocytes B. Il a aussi été montré que la réponse au traitement et la survie globale dans ces tumeurs malignes sont corrélées aux taux sanguins de stimulateurs BLyS. Ces données suggèrent un rôle possible de BLyS et d'APRIL dans la pathogenèse des cancers à lymphocytes B. Un traitement par atacicept qui agit comme inhibiteur de BLyS et d'APRIL représenterait donc une approche thérapeutique intéressante pour les atteintes malignes des lymphocytes B (95, 96).

1.1.2.1 Atacicept dans les lymphomes malins non Hodgkiniens

➤ Design

Il s'agit d'une étude ouverte (sans aveugle) évaluant différentes doses d'atacicept administrées chez des sujets présentant un lymphome à lymphocytes B soit en rechute de leur maladie soit réfractaire aux précédents traitements. Les lymphomes malins non Hodgkinien (L.M.N.H.) regroupent un large éventail de tumeurs ayant toutes pour origine les lymphocytes B ou T. Les tumeurs à lymphocytes B représentent 75% des cas de L.M.N.H. dans les pays occidentaux. De plus, d'après Novak & Al, les molécules BLyS augmentent la survie des cellules cancéreuses impliquées dans les L.M.N.H. ; par conséquent, le taux de BLyS serait prédictif de la survie globale des patients. En effet, les patients ayant un taux sanguin faible de BLyS auraient un meilleur pronostic que ceux ayant un taux élevé. C'est pourquoi atacicept pourrait être envisagé dans ces types de cancers (96-98).

L'objectif principal est d'évaluer la sécurité de la molécule et la dose maximale d'atacicept tolérée chez ces patients. Les objectifs secondaires sont d'évaluer la pharmacocinétique et la pharmacodynamique d'atacicept afin de déterminer l'intervalle de dose optimale.

Des cohortes de 3 à 6 sujets ont été traitées par atacicept à différentes doses (2, 4, 7 et 10 mg/kg) injectées en sous-cutanée. Quinze sujets ont été enrôlés pour recevoir les 5 injections hebdomadaires. Les patients avec une maladie stable ou une amélioration à la semaine 8 (soit 4 semaines après la dernière injection du médicament) ont été éligibles pour recevoir un traitement hebdomadaire pendant 6 mois. Le suivi des patients s'est fait pendant 28 jours après la dernière dose d'atacicept.

➤ Résultats

Atacicept a été bien toléré quelque soit la voie d'administration : 44 effets indésirables ont été enregistrés (8 dans le groupe 2 mg/kg, 8 dans le groupe 4 mg/kg, 11 dans le groupe 7 mg/kg, et 7 dans le groupe 10 mg/kg), il s'agissait principalement de fatigue, de rougeurs au niveau du point d'injection et de dyspnée. Mais quatre de ces effets indésirables ont été qualifiés de sévère.

La pharmacocinétique (voir annexe VI) a montré des résultats non linéaires mais cohérents avec les premiers résultats obtenus précédemment. Les injections répétées ont entraîné une accumulation faible à modérée d'atacicept total ou du complexe atacicept-BLyS dans le sang.

Après quatre semaines de traitement les anticorps IgA, IgG et IgM ont vu leur concentrations diminuer de façon dose-dépendante en moyenne de 15 à 40%. Le nombre de L_B a été difficile à interpréter du fait des faibles valeurs initiales.

Aucun des sujets n'a obtenu de réponse clinique complète ou partielle à la fin de la semaine 8. Seulement 2 patients ont vu leur maladie se stabiliser après 4 semaines de traitement et sont donc entrés dans l'extension du programme pour y recevoir les doses additionnelles d'atacicept. Malheureusement la maladie a de nouveau progressé chez ces 2 patients pendant la seconde partie de l'étude.

➤ Conclusion

Atacicept a été très bien toléré jusqu'à des doses de 10 mg. Cette dernière étude a mis en évidence, par la diminution des concentrations en immunoglobulines, l'activité biologique de la molécule, ce qui rejoint les précédents résultats. Mais aucune réponse anti-tumorale n'a été observée sur ces lymphomes (à lymphocytes B).

1.1.2.2 Atacicept dans la leucémie lymphoïde chronique

➤ Design

Il s'agit d'une étude de phase I à un seul bras, en ouverte, avec une augmentation régulière des doses d'atacicept, administrées de manières répétées en échelle de dose (figure 14). La population était constituée de patients atteints de leucémie lymphoïde chronique (L.L.C.) soit en rechute de leur maladie soit réfractaires au précédent traitement. La maladie se caractérise par la prolifération des lymphocytes, le plus souvent de type B (dans 95% des cas) (99).

L'objectif principal était d'évaluer la tolérance du médicament et de déterminer la dose maximale tolérée après le premier cycle de traitement par atacicept en injection IV. Les objectifs secondaires étaient d'évaluer la pharmacocinétique et la pharmacodynamique de la molécule, d'explorer ses effets sur les marqueurs biologiques d'activité, et d'évaluer le bénéfice clinique global d'atacicept chez ce type de patients.

L'étude se composait de 6 cohortes composées de 5 injections hebdomadaires et comptait trois semaines d'observation. Les différentes doses testées étaient : 1, 4, 10, 15, 20 et 27 mg/kg.

Avant chaque augmentation de dose, un comité de sécurité (Safety Monitoring Committee, S.M.C.) était chargé de revoir toutes les données et les effets indésirables, afin de décider du passage ou non à la dose supérieure. Une phase d'extension de l'étude était prévue pour les patients ayant une maladie stable ou une amélioration de leur maladie.

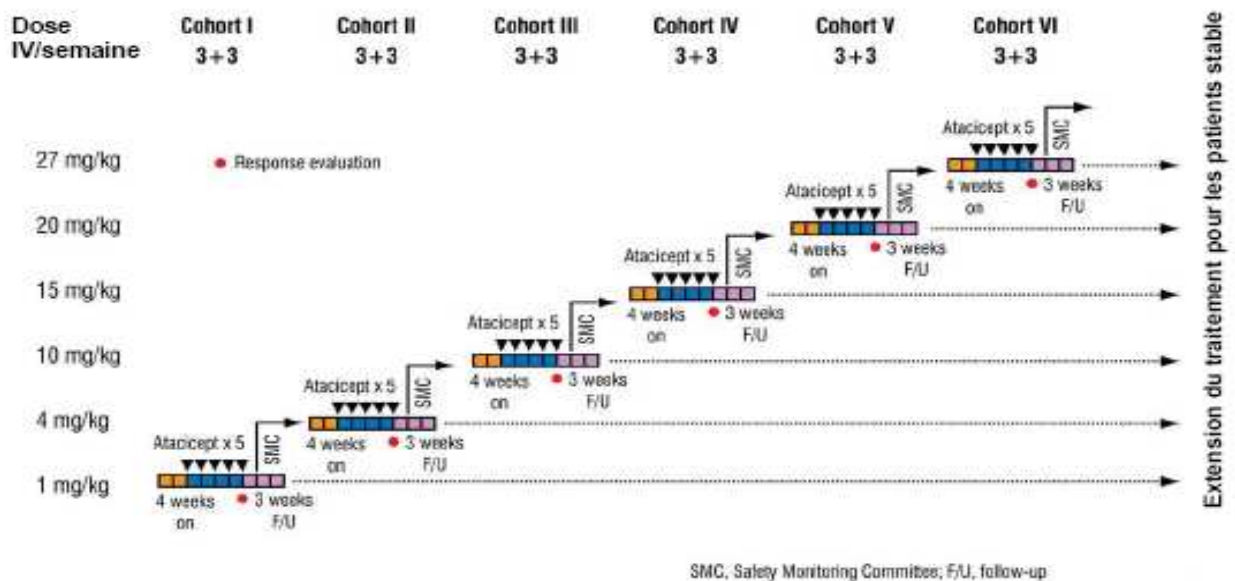


Figure 14 : Schéma de l'étude évaluant atacicept chez les patients ayant une L.L.C. à lymphocytes B

➤ Résultats préliminaires

Aucun effet indésirable grave dû au traitement n'a été observé. Le seul événement indésirable lié au produit est apparu chez un patient de la cohorte 4 mg/kg, il s'agissait de nausée.

Les premiers résultats de pharmacodynamique montraient une diminution du taux d'Ig quelque soit la dose d'atacicept administrée, les courbes de diminution étaient similaires à celles présentées dans l'étude précédente. Les globules blancs et les lymphocytes de certains patients ont diminué après l'administration du médicament.

La réponse clinique était mesurée chez les 14 patients ayant participé à l'étude : 5 patients sur 9 traités dans les cohortes 10, 15 et 20 mg/kg avaient une maladie stable à la fin de l'étude. A la dose de 27 mg/kg, un patient a eu une rémission partielle qui dura 8 mois et 2 autres patients une stabilisation de leur maladie.

➤ Conclusion

Le traitement par atacicept a été très bien toléré, et ceci, à toutes les doses étudiées. Le fait que l'on ait noté une tendance à la stabilisation de la maladie lors de l'administration des doses les plus élevées d'atacicept était une information importante pour la conception des études des phases ultérieures.

1.1.2.3 Atacicept dans le myélome multiple et la macroglobulinémie de Waldenström

➤ Design

Il s'agit d'une étude de phase I/II, exploratoire, elle se compose d'un seul bras, donc sans aveugle, et étudie différentes doses d'atacicept (unique ou répétées) dans certains myélomes malins.

Le myélome multiple est aussi appelé maladie de Kahler et fait partie des lymphopathies touchant les lymphocytes B (100). La macroglobulinémie de Waldenström, moins fréquente que le myélome multiple, est une hémopathie lymphoïde B caractérisée par la présence d'IgM en quantité importante.

Le but de l'étude est d'évaluer la sécurité d'atacicept et de déterminer la dose maximale tolérée chez les sujets ayant un myélome multiple réfractaire ou une rechute de leur myélome ou encore une macroglobulinémie de Waldenström active. L'objectif secondaire est de déterminer le bénéfice clinique pour le patient (taux de progression et taux de rechute de la maladie), et d'évaluer la pharmacocinétique et la pharmacodynamique d'atacicept dans cette population de patients.

Les sujets ont reçu 5 doses hebdomadaires d'atacicept : 2, 4, 7 et 10 mg/kg en injection sous-cutanée. Seize sujets ont été enrôlés pour quatre semaines de traitement et quatre semaines de suivi. Les patients ayant eu une stabilisation de leur maladie après ce premier cycle de traitement seront enrôlés dans l'extension de l'étude pour y recevoir soit deux cycles additionnels de traitement séparés par une fenêtre thérapeutique de 4 semaines, soit en tout 15 injections hebdomadaires d'atacicept à 10 mg/kg (figure 15).

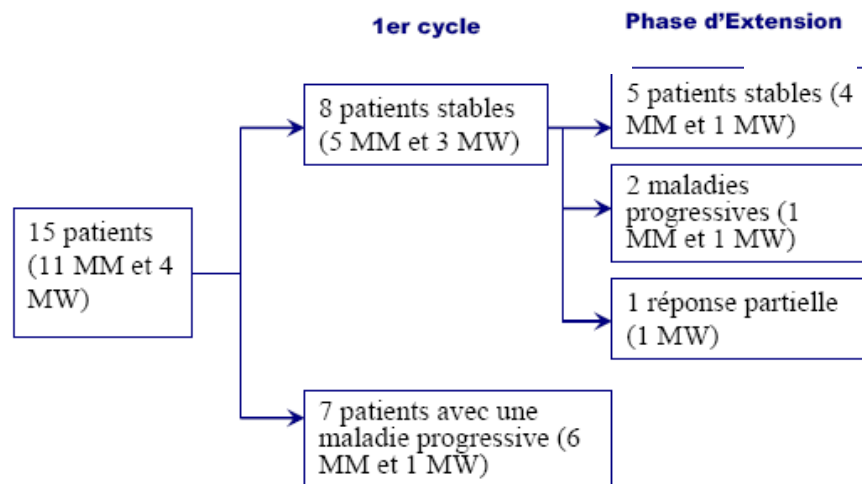


Figure 15 : Evolution clinique des patients ayant un myélome sous atacicept

➤ Résultats

Les résultats indiquent qu'atacept est bien toléré localement et de façon systémique : bien que 8 effets indésirables graves soient survenus pendant l'étude chez 5 patients, aucun n'a été lié au traitement. Seuls les événements suivants ont été considérés comme liés au traitement : érythème, hématome et douleur au niveau du point d'injection, paresthésie et dyspnée.

Concernant la pharmacocinétique (annexe VI), les données de l'essai sur atacept libre (non lié aux cytokines) et le complexe atacept-BLyS, ont montré une cinétique constante et cohérente à travers les différentes doses étudiées. Cependant, le nombre trop faible de patients par cohorte ne permet pas de conclure sur le sujet. On observe une faible accumulation d'atacept libre ou total ainsi qu'une saturation du nombre de complexes atacept-BLyS lorsqu'on augmente les doses. La concentration sérique des complexes TACI-BLyS a évolué vers un plateau après la dernière dose administrée.

Les résultats de la pharmacodynamique montrent que toutes les immunoglobulines ont vu leur taux diminuer après la première administration d'atacept et que cette tendance s'est maintenue dans les groupes à doses répétées. Une diminution dose-dépendante des lymphocytes B totale a été observée chez 7 sujets. Trois de ces sujets ont eu une diminution totale des leurs lymphocytes B de plus de 70% à la fin de l'étude comparée aux valeurs initiales.

Cet essai avait aussi pour but de déterminer l'effet du traitement sur l'activité de la maladie : 5 patients atteints de myélome et 3 de macroglobulinémie ont vu une stabilisation de leur affection après le premier cycle de traitement. Ces 8 sujets sont entrés dans l'extension (4 pour y recevoir deux cycles additionnels de traitement et 4 recevant 15 injections hebdomadaires) : deux d'entre eux ont vu une progression de leur maladie, cinq une stabilisation, et un seul patient a répondu partiellement au traitement (figure 15).

➤ Conclusion

Atacept a été bien toléré chez les patients atteints de myélome multiple ou de macroglobulinémie de Waldenström, aucun effet indésirable grave lié au traitement n'a été observé. L'activité biologique de la molécule a été confirmée par la diminution dose-dépendante des immunoglobulines et des lymphocytes B. Quant à la réponse clinique, une

stabilisation a été observée chez plusieurs patients mais un seul a montré une réponse partielle. Les résultats de cette étude sont cohérents avec les données précédentes, ce qui est encourageant pour la suite du programme clinique.

1.1.3 Maladies auto-immunes

Parallèlement aux phases I faites en oncologie, trois programmes sont lancés dans les maladies auto-immunes, une étude dans la polyarthrite rhumatoïde et deux études dans le lupus érythémateux disséminé.

1.1.3.1 Phase Ib dans la polyarthrite rhumatoïde

➤ Pourquoi atacicept dans la polyarthrite rhumatoïde ?

La polyarthrite rhumatoïde (P.R.) est une maladie inflammatoire chronique touchant les articulations de manière symétrique, pouvant aller jusqu'à la destruction des structures articulaires et péri-articulaires et pouvant causer une mortalité prématurée (101).

La P.R. affecte environ 1% de la population sans qu'aucune cause ne soit connue (102). Cependant, les différentes observations ont permis de mettre en avant le rôle primordial du système immunitaire dans la pathogenèse de cette maladie, avec, notamment, la présence de complexes immuns. En effet, on a observé lors de la P.R. une production d'anticorps (tel que le facteur rhumatoïde) par les cellules sanguines contribuant ainsi à la formation des complexes immuns.

De plus, les taux sanguins moyens de cytokines BLYS et APRIL sont élevés dans la P.R. et dans le L.E.D. (103, 104). Dans le liquide synovial, les taux d'APRIL et de BLYS sont plus élevés que dans le sang, particulièrement en cas d'inflammation des articulations. A ceci s'ajoute le rôle potentiel des lymphocytes B dans la pathogenèse de la P.R. En effet, ils peuvent agir en tant que cellules présentatrices d'antigènes, en sécrétant des cytokines pro-inflammatoires, en produisant des facteurs rhumatoïdes, ou encore en activant les lymphocytes T. Ces éléments suggèrent que les L_B sont une cible appropriée pour traiter la P.R.

➤ Design

Il s'agit d'une étude exploratoire en double aveugle et contrôlée par placebo, avec une échelle de doses (figure 16) (105, 106). Le but de cette étude est d'évaluer la tolérance de la molécule, de mesurer la pharmacocinétique, et de déterminer l'activité d'atacept lors d'administrations en sous-cutanée à des sujets atteints de polyarthrite rhumatoïde.

Dose (mg)	n (active:placebo)				
70	6:2	● A			
70	9:3		● ● ● B		
210	6:2		● C		
210	9:3			● ● ● D	
630	6:2			● E	
420	19:6				● ● ● ● ● ● ● F
Total	55:18	Total 70 mg	Total 210 mg	Total 630 mg	Total 2940 mg

A. 6 semaines de suivi + IDMC mtg ; **B.** 4–6 semaines de suivi + IDMC mtg ; **C.** 8–10 semaines de suivi + IDMC mtg ; **D.** 6–8 semaine de suivi + IDMC mtg ; **E.** 10–12 semaines de suivi + IDMC mtg ; **F.** 12 semaines de suivi + IDMC mtg

IDMC mtg = Internal Data Monitoring Committee meeting (revue des données)

Figure 16 : Design de l'étude d'atacept en phase Ib dans la P.R.

L'objectif principal est de mesurer la tolérance systémique et locale d'atacept administré en une seule fois ou à doses répétées pendant 1 à 3 mois chez des sujets atteints de polyarthrite rhumatoïde. Les objectifs secondaires sont de mesurer la pharmacocinétique et la pharmacocinétique d'atacept dans les mêmes conditions. Cette étude permettra aussi de caractériser les biomarqueurs spécifiques du mécanisme d'action d'atacept, de documenter les marqueurs de l'activité de la maladie (critère de l'A.C.R., présence ou non du facteur rhumatoïde) et enfin de collecter les premières données de l'effet du traitement sur une maladie en progression.

Au total 73 patients ont été inclus dans 6 cohortes avec des doses différentes (70 mg ; 3x70 mg ; 210 mg ; 3x210 mg ; 620 mg ; 7x420 mg). L'intervalle entre deux injections sous-cutanées était de 2 semaines. Pour chacune des cohortes, un comité indépendant était chargé de revoir les données après chaque injection ou groupes d'injection. Ce comité décidait alors s'il était prudent ou non d'augmenter les doses d'atacept.

➤ Résultats

Atacicept a montré une bonne tolérance à la fois systémique et locale. Aucune différence entre les groupes atacicept et contrôle n'a été décelée. Les douleurs et érythèmes au niveau du point d'injection étaient généralement de sévérité faible à modérée, mais fréquentes chez les sujets recevant atacicept. Aucun anticorps anti-atacicept n'a été identifié.

Concernant la cinétique d'atacicept, l'absence de linéarité observée dans cette étude semble soutenir l'hypothèse selon laquelle la molécule possède une cinétique médiée par ses ligands. Et malgré l'absence de linéarité, la cinétique d'atacicept retrouvée dans cette phase I est consistante et prévisible à travers les groupes de doses et entre les doses individuelles ou multiples (annexe VI).

Pour ce qui touche à la pharmacodynamique d'atacicept, les valeurs d'immunoglobulines, en particulier d'IgM, ont montré une forte diminution après la première dose d'atacicept, et cette diminution s'est poursuivie lors de l'administration répétée des doses. La plus forte diminution a été observée dans le groupe atacicept 420 mg x 7. Une baisse du facteur rhumatoïde a été observée après l'administration d'atacicept, le plus souvent dans le groupe 420 mg x 7. Il s'agit d'un événement important, car l'apparition ou l'augmentation du facteur rhumatoïde peut être associée à la pathogenèse ou à une aggravation de la maladie.

Pour ce qui est de l'efficacité d'atacicept, la puissance statistique de cette étude exploratoire était trop faible pour démontrer un effet du traitement sur des critères cliniques ou pour déterminer une différence avec le placebo. En outre, le mécanisme d'action d'atacicept et l'évolution naturelle de la P.R. suggèrent que plus de trois mois de traitement sont nécessaires pour obtenir un effet clinique significatif.

➤ Conclusion

Cette étude exploratoire de phase Ib a montré qu'atacicept est généralement bien toléré à la fois localement au niveau du point d'injection et de façon systémique chez les patients ayant une polyarthrite rhumatoïde. On a observé une diminution dose-dépendante du nombre de lymphocytes B et des taux d'IgM, A et G. Ces taux reviennent à la normale dès l'arrêt

d'atacept. Enfin, le taux de facteur rhumatoïde (R.F.) a diminué et on a observé une tendance générale à l'amélioration des critères A.C.R. Les profils de pharmacocinétique et de pharmacodynamique d'atacept définis ici sont consistants avec le mécanisme d'action proposé.

1.1.3.2 Phase Ib dans le lupus érythémateux disséminé

➤ Pourquoi atacept dans le lupus ?

Comme déjà décrit dans la première partie, les sujets souffrant d'un lupus érythémateux disséminé sont exposés à un traitement médicamenteux chronique souvent associé à des effets indésirables importants. A l'heure actuelle, aucun traitement spécifique ne permet de guérir le L.E.D. Comme déjà souligné plus haut, il a été démontré que les souris exprimant un taux important de BLyS montrent une dérégulation du système immunitaire et certaines caractéristiques similaires à celles des patients lupiques. Chez ces souris qui développent des symptômes semblables au L.E.D., un taux élevé de BLyS serait corrélé à la progression de la maladie (83, 91).

De la même manière, des taux élevés de BLyS ont été mesurés dans le sang de patients atteints de L.E.D. et chez d'autres sujets ayant des maladies auto-immunes telles que la polyarthrite rhumatoïde. On peut donc étendre le lien entre BLyS et la maladie auto-immune du modèle animal au modèle humain (107).

Les manifestations du lupus proviennent principalement des dégâts provoqués par les dépôts de complexes immuns et les thromboses. De plus, nous savons que les anticorps cytotoxiques sont à l'origine d'anémies hémolytiques et de thrombocytopénies. Or le traitement par atacept diminue le nombre de lymphocytes B et donc, par conséquent, le taux d'anticorps. La molécule pourrait donc potentiellement stopper la progression de la maladie.

1.1.3.2.1 Etude de phase Ib dans le L.E.D. avec une administration en sous-cutanée d'atacept

➤ Design de l'étude

Il s'agit d'une phase Ib, en double aveugle, contrôlée par placebo, avec une échelle de doses d'atacept administrées de façon répétée ou non (figure 17) (108). Le but de cet essai est de mesurer la sécurité, la pharmacocinétique et la pharmacodynamique d'atacept administré en sous-cutanée chez les sujets atteints de L.E.D.

Au total, 49 sujets atteints de L.E.D. ont été randomisés dans 6 cohortes, 2 sujets par groupe recevant du placebo et tous les autres recevant atacicept en une seule ou plusieurs doses (0.3 mg/kg ; 1 mg/kg ; 3 mg/kg ; 9 mg/kg ; 1 mg/kg x 4 ; 3 mg/kg x 4) pendant un mois.

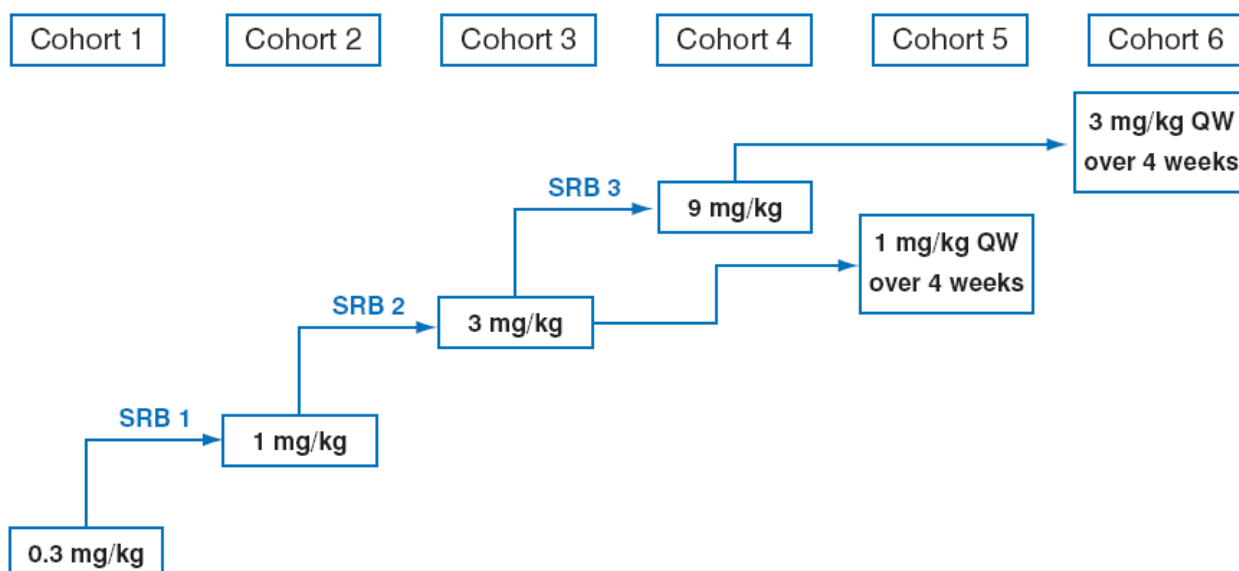


Figure 17 : Schéma de l'étude atacicept dans le L.E.D. présentant les cohortes de doses – SRB=Safety Review Bord, comité de sécurité chargé de la revue des données
QW= once weekly, une injection hebdomadaire pendant quatre semaines

➤ Résultats

Deux effets indésirables graves ont été observés dans l'étude et tous deux ont eu lieu dans les groupes placebo. Il n'y a eu aucune différence statistique dans la fréquence des événements entre les groupes placebo et les groupes atacicept. Les effets secondaires les plus fréquemment relevés étaient des infections respiratoires, des rhinites et des sinusites. Cette étude n'a pas mis en évidence d'augmentation significative du risque d'infection sous atacicept.

La pharmacocinétique de l'administration en sous-cutanée d'atacicept chez les patients atteints de L.E.D., bien que non linéaire, reste prévisible et consistante entre les doses avec ce qui a été observé précédemment. Cette cinétique résulte probablement des liaisons d'atacicept avec les récepteurs BLYS et APRIL. Enfin, l'administration de doses répétées montre une accumulation d'atacicept (figure 18).

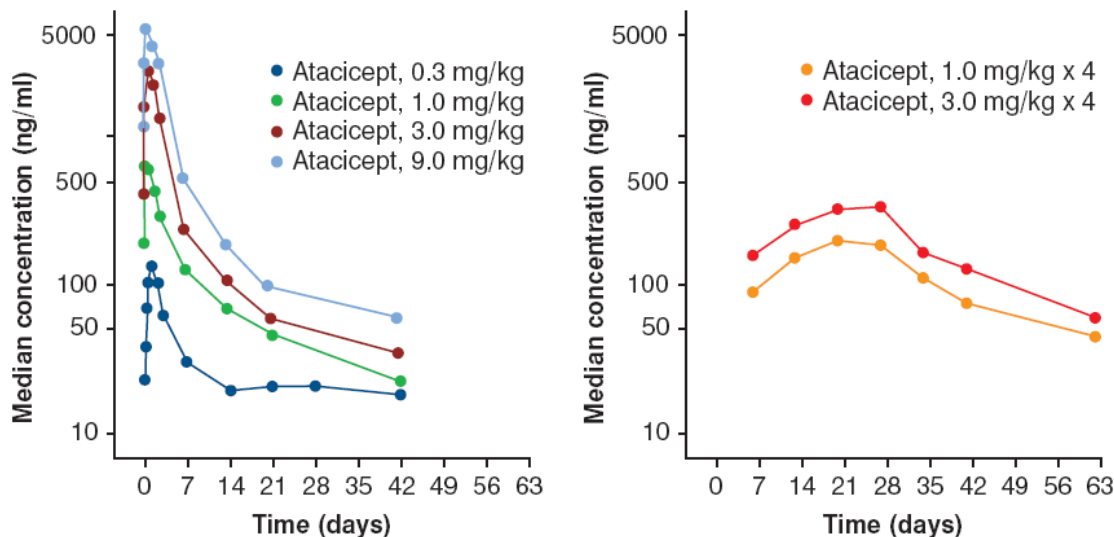


Figure 18 : Concentration d'atacicept libre après administration sous-cutanée chez des patients lupiques

Les changements observés au niveau des marqueurs biologiques de l'activité de la maladie sont cohérents avec le mécanisme d'action d'atacicept et son effet thérapeutique potentiel dans le L.E.D. Des diminutions dose-dépendante des taux d'Ig ont été mesurées chez les patients traités par atacicept. Cet effet est particulièrement important dans les groupes où les doses sont répétées. Les taux d'IgM ont fortement diminué après la première dose d'atacicept et ces taux ont continué de baisser après les secondes doses. La plus forte diminution, observée pour les taux d'IgM, fut d'environ 50% dans la cohorte numéro six et ceci après 46 jours de traitement.

Le traitement par atacicept est aussi associé à une augmentation transitoire des différents types de lymphocytes B : matures, immatures et totaux. Cette augmentation est suivie d'une réduction prolongée des lymphocytes B jusqu'à 6 semaines après le début du traitement.

L'effet du traitement sur l'activité de la maladie a été évalué grâce à la mesure de différents paramètres : les marqueurs sérologiques (anticorps), le taux de complément C₃ et les modifications des scores d'activité de la maladie (Index d'activité SLEDAI, le score de l'index varie de 1 à 105 et un résultat supérieur à 6 est considéré comme cliniquement significatif). Malgré le faible nombre de sujets inclus dans chaque cohorte et la courte durée du traitement, on a observé un effet favorable du traitement sur la plupart des marqueurs de la maladie. Ainsi, sur les 8 patients qui avaient un faible taux de complément C₃ au début de l'étude, 2 patients (appartenant au groupe atacicept à doses répétées) ont vu leur taux se normaliser et 6 patients (sous atacicept à dose unique ou placebo) n'ont pas eu de

changement. Quant au score SLEDAI, 12 patients avaient un score supérieur à six au début de l'étude ; 4 patients sous atacicept ont obtenu un score de zéro à la fin de l'essai, aucun dans le groupe placebo n'ayant atteint ce score. Enfin ces premières observations semblent l'associer à une diminution du taux d'anticorps anti-ADN à l'administration d'atacicept.

➤ Conclusion

Le traitement par atacicept est bien toléré, bien que des réactions au point d'injection aient été observées plus souvent dans le groupe atacicept que dans le groupe placebo. L'impact d'atacicept sur les lymphocytes B et le taux d'Ig a permis de démontrer un effet biologique. Ce qui confirme l'intérêt de ce traitement dans des maladies auto-immunes telles que le L.E.D. Cette étude reste cependant trop étroite et d'une puissance statistique trop faible pour conclure définitivement sur l'effet d'atacicept sur l'activité de ce type de maladies.

1.1.3.2.2 Etude de phase Ib dans le L.E.D. avec une administration en intraveineuse d'atacicept

➤ Design

Il s'agit de la seconde étude de phase Ib évaluant atacicept dans le lupus, mais celle-ci est faite par voie intraveineuse (IV). La méthodologie est très similaire : étude en double-aveugle, randomisée, contrôlée par placebo, et avec une augmentation régulière des doses, uniques ou répétées. Les objectifs sont identiques à l'étude précédente. Les seules différences résident dans la voie et le schéma d'administration d'atacicept, cette étude permettra donc de déterminer quelle est la voie d'administration la plus adaptée pour le traitement par atacicept.

Vingt-quatre patients ayant au moins quatre critères définissant l'A.C.R. vont être randomisés dans quatre cohortes pour recevoir 3 mg/kg, 9 mg/kg, 18 mg/kg ou deux doses de 9 mg/kg d'atacicept (figure 19). Chaque cohorte est composée de 6 patients dont un recevant le placebo.

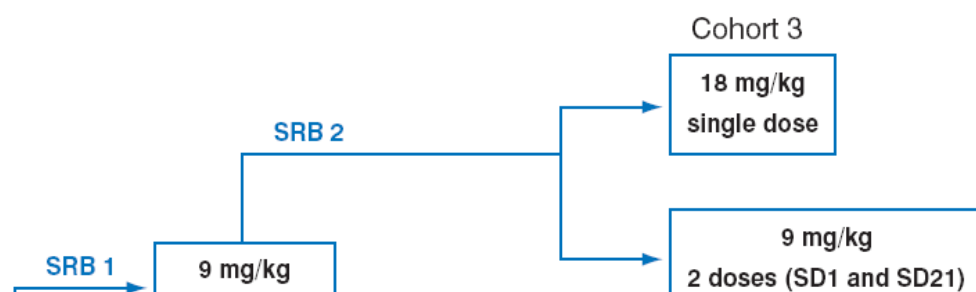


Figure 19 : Design de l'étude évaluant atacicept en IV dans le L.E.D.

➤ Résultats

Très peu d'événements indésirables sont survenus au cours de l'essai (15 événements au total), majoritairement des infections virales et des réactions de faible intensité au niveau du point d'injection. Le faible nombre de sujets inclus dans l'étude ne permet pas de conclure à une différence significative du nombre d'événement indésirables entre les groupes placebo et atacicept.

Les résultats de pharmacocinétique sont consistants entre les doses uniques et répétées et rejoignent les résultats obtenus dans les études précédentes. Comme expliqué plus haut, la non-linéarité de la pharmacocinétique s'explique par les liaisons aux médiateurs BLyS et APRIL.

Les analyses pharmacodynamiques ont permis d'établir l'existence d'une activité biologique lors de l'administration d'atacicept. Les immunoglobulines, et particulièrement les IgM, ont fortement diminué après la première dose et ont continué à chuter après la seconde administration. La plus forte baisse a été observée dans la cohorte numéro 4 avec une diminution d'environ 46% du taux d'IgM 6 semaines après la première injection. Les effets sur les lymphocytes B sont similaires à ceux observés dans l'étude en sous-cutanée : une augmentation initiale transitoire suivie par une diminution des lymphocytes B matures.

Les résultats SLEDAI ont été numériquement améliorés mais cet essai n'avait pas la puissance nécessaire pour montrer un effet sur les critères cliniques. Le nombre de sujets était faible et l'exposition au médicament limitée. De plus, les valeurs initiales étaient déjà généralement faibles, laissant peu d'opportunités pour une amélioration clinique additionnelle.

➤ Conclusion

Atacicept a été plutôt bien toléré aux différentes doses étudiées. La pharmacocinétique n'a pas montré de résultats linéaires mais la courbe était consistante avec les études précédentes et correspondait donc aux attentes. La diminution notable des lymphocytes B matures et totaux ainsi que la diminution des taux d'immunoglobulines sont cohérentes avec l'inhibition des effets BLyS et d'APRIL par atacicept. Aucune conclusion statistique ne peut être tirée sur l'efficacité clinique du fait du faible nombre de sujets et de la faible exposition des patients au médicament. Les données de cette étude représentent donc une bonne base pour l'élaboration de futures études dans le lupus.

1.1.4 Conclusion sur la phase I du développement clinique d'atacicept

➤ Concernant la pharmacocinétique

Atacicept a démontré une cinétique multiphasique et non-linéaire, caractérisée par une augmentation dose-dépendante de la molécule dans le sang.

Après une administration sous-cutanée, atacicept est absorbé relativement vite avec un pic de concentration dans le sang atteint dans les vingt-quatre heures. La biodisponibilité est estimée à 30-40%. La demi-vie de la molécule est d'environ 30 jours et semble indépendante de la dose et de la voie d'administration.

Il est important de noter que les différents paramètres pharmacocinétiques mesurés dans les nombreuses études de phase I étaient consistantes et ce quelque soit l'indication : oncologie, maladies auto-immunes ou volontaires sains.

➤ Concernant la tolérance

Plus de 200 sujets ont été enrôlés dans ces essais de phases I et Ib. Chez 15 de ces sujets (8.5 %) on a relevé 23 effets indésirables graves. Parmi les 162 sujets ayant reçu atacicept, 13 (8%) ont eu un total de 21 événements graves. Parmi ces effets secondaires graves, il y a eu trois morts : un homme fumeur atteint de polyarthrite rhumatoïde, décédé d'un cancer du poumon ; un homme ayant un lymphome B, décédé d'une septicémie suite à une hémorragie intestinale ; et un homme atteint de myélome multiple, décédé des complications de sa maladie. Aucun des effets indésirables graves ni des décès n'a pu être relié au traitement.

Les données concernant les événements indésirables de toutes les études ont été consolidées : comparé au placebo, les effets les plus communs étaient : les maux de tête (18 vs. 5.3%), les pharyngites (9.2% vs. 0), les nausées (6.9 vs. 5.3%), douleurs au niveau du larynx (6.9 vs. 2.6%), et les asthénies (6.1 vs. 7.9%). La plupart des effets indésirables a été considérée comme étant de faible intensité (70%) et non liée au traitement par atacicept (73%) (Tableau 4).

Safety Population				
Preferred Term	Atacicept Subjects (n=131) Events (n=274)		Placebo Subjects (n=38) Events (n=58)	
	Subjects n (%)	Events n (%)	Subjects n (%)	Events n (%)
Subjects with events and total events	80 (61.1)	274 (100.0)	21 (55.3)	58 (100.0)
Headache	17 (13.0)	32 (11.7)	2 (5.3)	2 (3.4)
Nasopharyngitis	12 (9.2)	17 (6.2)		
Nausea	9 (6.9)	9 (3.3)	2 (5.3)	2 (3.4)
Pharyngolaryngeal pain	9 (6.9)	10 (3.6)	1 (2.6)	1 (1.7)
Fatigue	8 (6.1)	9 (3.3)	3 (7.9)	3 (5.2)
Diarrhoea	5 (3.8)	5 (1.8)	2 (5.3)	2 (3.4)
Arthralgia	5 (3.8)	5 (1.8)		
Rhinitis	5 (3.8)	5 (1.8)		
Vomiting	5 (3.8)	5 (1.8)		
Upper respiratory tract infection	4 (3.1)	4 (1.5)	3 (7.9)	3 (5.2)
Cough	4 (3.1)	4 (1.5)	1 (2.6)	1 (1.7)
Anaemia	4 (3.1)	4 (1.5)		
Arthritis	3 (2.3)	3 (1.1)	2 (5.3)	2 (3.4)
Back pain	3 (2.3)	3 (1.1)	1 (2.6)	1 (1.7)
Constipation	3 (2.3)	3 (1.1)	1 (2.6)	1 (1.7)
Oedema peripheral	3 (2.3)	4 (1.5)		
White blood cell count decreased	3 (2.3)	4 (1.5)		
Hypertension	3 (2.3)	3 (1.1)		
Prothrombin time prolonged	3 (2.3)	3 (1.1)		
Respiratory tract infection viral	3 (2.3)	3 (1.1)		
Urinary tract infection	3 (2.3)	3 (1.1)		

T:\TACI_FC\IB_2008\TABLES\PGMT1_AE.SAS 14AUG2008

Adverse Events Coded Using MedDRA Version 10.1

*Emergent event = event occurred any time after the first dose of study medication (atacicept or placebo) in a given study phase

Tableau 4 : *Tableau listant les effets indésirables d'atacicept toutes études cliniques de phase I confondues*

Certains événements indésirables sont apparus de manière constante dans les différentes études :

- Réactions au niveau du site d'injection : les administrations sous-cutanées d'atacicept sont associées à des réactions au niveau du point d'injection. Ces réactions, retrouvées dans toutes les études, sont souvent de faible intensité.

- Infections : le fait qu’atacept agisse sur les lymphocytes B et diminue les taux d’immunoglobulines rend indispensable le suivi des infections. En consolidant les données de toutes les études, on a pu mettre en évidence que les infections les plus fréquentes dans le groupe atacept par rapport au placebo étaient les pharyngites (9.2% vs. 0), les rhinites (3.8% vs. 0) et les infections urinaires (2.3% vs. 0).
- Réactions allergiques : comme atacept est une protéine non humaine, des événements allergiques peuvent survenir par la formation d’anticorps anti-atacept. Jusqu’à présent aucun anticorps anti-atacept n’a été retrouvé mais il est important de suivre les réactions allergiques car les problèmes d’immunogénécité sont importants dans le développement des protéines. Les données consolidées nous précisent que trois sujets ont eu de l’urticaire mais aucune hypersensibilité n’a été rapportée. Ces effets indésirables n’ont pas été estimés sévères, mais deux d’entre eux ont été considérés par l’investigateur comme liés à l’étude.

➤ Concernant l’efficacité

Les essais de phase Ib dans les différents domaines (polyarthrite rhumatoïde, lupus et oncologie) n’avaient pas la puissance statistique nécessaire pour démontrer une efficacité plus importante que le placebo. Cependant, les résultats encourageants de ces essais ont permis la mise en place des phases II du développement clinique d’atacept.

En effet, on retrouve systématiquement une activité biologique d’atacept, caractérisée essentiellement par la diminution du taux d’immunoglobulines de manière dose-dépendante sous l’effet du traitement ainsi que par une diminution prolongée du nombre de lymphocytes B totaux et matures. De plus les premiers résultats, bien que peu nombreux, concernant les scores d’évolution des différentes maladies étaient plutôt encourageant (SLEDAI,...).

Globalement, atacept est plutôt bien toléré et les premières études suggèrent un effet positif du traitement par rapport au placebo.

1.2 Les phases II du développement clinique

Le développement clinique d'atacept comprend aussi plusieurs phases II, actuellement conduite par Merck Serono, dans plusieurs domaines :

- trois études de phase II/III dans le lupus :
 - une étude dans le lupus généralisé
 - une étude dans la néphropathie lupique associant atacept et mycophenolate mofetil
 - une étude dans la néphropathie lupique avec traitement de fond associant cyclophosphamide et azathioprine.
- trois études de phase II étudiant atacept dans la rhumatologie sont en cours et correspondent à la suite de l'étude de phase Ib dans la polyarthrite rhumatoïde :
 - une étude de recherche de dose
 - une étude chez les patients ne répondant pas au méthotrexate
 - une étude associant atacept et rituximab
- deux études de phase II évaluent atacept en neurologie, nouveau domaine thérapeutique dans lequel atacept pourrait avoir un intérêt :
 - une étude dans la sclérose en plaque
 - une étude dans la névrite optique

1.2.1 Développement d'atacept en rhumatologie

L'étude de phase I dans la polyarthrite rhumatoïde n'a pas pu démontrer un effet clinique du fait de sa puissance statistique trop faible. Cependant, les effets observés sur les taux d'immunoglobulines et le nombre de L_B semblent montrer un effet favorable d'atacept sur la P.R. La molécule ne présente pas de problème de tolérance et est plutôt bien supportée par les patients. De plus, les données de cette étude sont cohérentes avec les autres résultats de phase I.

Les résultats cliniques récoltés et les données sur les réponses dose-dépendantes à atacept vont permettre le développement en phase II de la molécule dans la polyarthrite rhumatoïde. Ce programme contient trois études (68). Au total, 558 sujets ont été enrôlés dans ces essais conduits en double-aveugle et contre placebo.

La première est une étude de recherche de dose. Les sujets de cette étude sont des sujets atteints de P.R. en rechute malgré un traitement par un anti-TNF α . L'objectif principal est d'évaluer l'efficacité de la molécule sur les symptômes de la P.R. Trois doses différentes (25, 75 ou 150 mg) seront administrées en injection sous-cutanée. Les objectifs secondaires sont de compléter les informations sur le profil de tolérance et de sécurité de la molécule. Le traitement est divisé en deux périodes : la période d'induction où le patient va recevoir les injections de médicament 2 fois par semaine pendant les 4 premières semaines suivie d'une période d'entretien de 21 semaines où le traitement sera administré une fois par semaine. Actuellement, une quarantaine d'effets indésirables ont été rapportés dans cette étude, dont 10 ont été classés comme probablement liés au traitement.

La deuxième étude est conduite chez les patients atteints de P.R. active malgré un traitement au méthotrexate et n'ayant jamais reçu d'anti-TNF α . L'objectif principal est d'évaluer l'efficacité d'atacept sur les symptômes de la P.R. comparée au placebo chez ce type de patients. Les objectifs secondaires sont de compléter les informations du profil de tolérance et de sécurité d'atacept. L'étude est composée de quatre bras :

- un bras recevant atacept à 150 mg, deux fois par semaine pendant la phase d'induction (quatre semaines) et une fois par semaine pendant la phase d'entretien (vingt-et-une semaines)
- un bras recevant atacept à 150 mg une fois par semaine pendant toute la durée de l'étude
- un bras recevant du placebo
- un bras recevant un comparateur, adalimumab (HUMIRA[®])

Les sujets seront suivis pendant treize semaines après la dernière administration du traitement.

La troisième étude associe atacept avec rituximab chez les sujets avec une P.R. et ayant déjà reçu rituximab. A l'instar des deux études précédentes, l'objectif de cette étude est d'évaluer la sécurité et la tolérance d'un traitement combiné. Les objectifs secondaires ont pour but de caractériser la pharmacocinétique d'atacept dans ces conditions et d'évaluer les premiers effets d'efficacité du traitement combiné sur les symptômes de la maladie. L'étude va être séparée en deux cohortes :

- dans la cohorte 1, les patients vont recevoir rituximab avant atacept. Atacept sera donné en injection sous-cutanée à 150 mg une fois par semaine pendant 25 semaines, suivi d'une période de suivi de 32 semaines sans traitement.

- dans la cohorte 2, les patients recevront en même temps rituximab et atacicept. Atacicept sera donné en injection sous-cutanées à 150 mg une fois par semaine pendant 25 semaines, suivi d'une période de suivi de 40 semaines sans traitement. Les patients de la cohorte 2 seront enrôlés dès que le recrutement de la cohorte 1 sera finalisé.

Dans cette dernière étude, l'approche est très sécurisée. En effet, l'association rituximab + atacicept pourrait se révéler très dangereuse car elle peut entraîner une très forte diminution des L_B si les deux traitements sont initiés en même temps. La première partie de l'étude aura donc pour but de mieux cerner la tolérance de cette association.

Les résultats obtenus dans ces études de phase II nous permettront de décider s'il faut poursuivre ou non le développement clinique d'atacicept en phase III en vue de son enregistrement dans la PR.

1.2.2 Développement d'atacicept en neurologie

➤ Pourquoi atacicept dans la sclérose en plaque ?

La S.E.P. est une maladie démyélinisante inflammatoire et chronique touchant le système nerveux central ; c'est la première cause de séquelles neurologiques chez le jeune adulte. Elle est caractérisée par des rechutes récurrentes (ou poussées) constituées par des signes neurologiques et des symptômes variables. Après quelques années la plupart des patients vont développer une forme progressive de leur maladie.

Le principe selon lequel la S.E.P. est une maladie principalement médiée par les L_T a beaucoup évolué ces dernières années. Il est maintenant admis que les L_B contribuent à cette maladie par deux mécanismes (68, 109, 110) :

- au niveau cellulaire, les L_B font office de cellules présentatrices d'antigènes qui vont stimuler les L_T CD4 et produire des cytokines pro-inflammatoires.
- Au niveau du système immunitaire, les L_B produisent des anticorps directement contre les composants du système nerveux central (S.N.C.). Les immunoglobulines persistent pendant plusieurs années, suggérant que la réponse immunitaire contre les antigènes se maintient dans le S.N.C. Les analyses histologiques ont confirmé que les L_B et les anticorps jouent un rôle d'intermédiaire dans l'apparition et l'évolution de la pathologie chez une grande partie de la population atteinte de S.E.P.

Les différentes découvertes dans le domaine animal soutiennent l'hypothèse selon laquelle les cytokines B_{LYS} et APRIL sont régulées par les L_T chez les patients atteints de S.E.P. Les inhibiteurs de B_{LYS} et APRIL pourraient donc avoir une utilité thérapeutique dans cette maladie. En outre, certaines données cliniques proposent une approche thérapeutique ayant pour cible les lymphocytes B (comme c'est le cas pour rituximab). C'est pourquoi il semble intéressant d'explorer les molécules comme atacicept qui ciblent les lymphocytes B dans la prise en charge thérapeutique de la sclérose en plaque. De telles recherches permettraient ainsi d'explorer le potentiel neuroprotecteur de ce traitement.

➤ Les phases II de neurologie

Comme les résultats des études de phase I dans les autres domaines thérapeutiques étaient positifs et qu'atacicept présentait une bonne tolérance, le développement en neurologie a pu être initié directement par deux études de phase II.

La première étude de phase II, était menée en double aveugle et contre placebo (68). Elle avait pour but d'évaluer l'efficacité de 3 doses d'atacicept dans la réduction de l'inflammation du S.N.C. Les mesures étaient essentiellement basées par la réalisation régulière d'I.R.M. Les objectifs secondaires étaient l'évaluation de la tolérance et de la sécurité de trois doses d'atacicept, ainsi que la détermination de la dose minimale active chez les patients ayant une S.E.P. Cette étude comportait 4 bras : trois pour les différentes doses d'atacicept (25, 75 et 150 mg) et un pour le groupe placebo.

La seconde étude en neurologie a été réalisée dans la névrite optique. La névrite optique est une maladie touchant le S.N.C. et qui est très proche de la sclérose en plaque. En effet, tout comme dans la S.E.P., sa pathogénèse implique les lymphocytes B. La névrite est une manifestation clinique typique de la S.E.P., mais dans le cas de la névrite optique, ce symptôme n'est pas disséminé et cible uniquement le nerf optique.

Cette étude randomisée, menée contre placebo, avait pour but non seulement d'évaluer la sécurité et la tolérance de la molécule mais aussi d'explorer l'effet neuro-protecteur d'atacicept chez les sujets ayant une névrite optique. L'essai ne comportait que 2 bras, un groupe atacicept et un groupe placebo, avec un schéma d'administration similaire à l'étude précédente.

Plus de 300 patients devaient être enrôlés dans ces deux études mais elles ont été arrêtées subitement pour des raisons de sécurité : le comité de sécurité chargé de revoir les

données aurait mis en avant le fait qu'atacept serait à l'origine d'une aggravation de la S.E.P. Actuellement, les données sont en cours de revue et les patients toujours suivis.

1.3 Développement d'atacept dans le lupus

Les études de phases Ib dans le lupus érythémateux disséminé (que ce soit par voie IV ou sous-cutanée) ont montré une bonne tolérance du produit et une sécurité d'emploi acceptable. Il a aussi été mis en avant une activité biologique chez ces patients. Des données d'efficacité clinique et des informations supplémentaires sur la relation dose-effet biologique sont nécessaires pour développer atacept dans le lupus. Trois études de phases II/III constituent le développement de la molécule dans le L.E.D. Ces essais cliniques sont des études pivots, indispensables à la constitution du dossier de demande d'autorisation de mise sur le marché d'atacept avec, comme première indication, le lupus érythémateux disséminé.

Ce programme de développement commence par une étude de phase II/III dans le lupus érythémateux disséminé. Grâce aux bons résultats de sécurité et d'efficacité obtenus dans les phases I et au vu de l'avancement des projets des firmes concurrentes dans la même aire thérapeutique, Merck-Serono a décidé de prendre le risque de ne pas mener d'études de phase II et de conduire directement une étude pivot de phase II/III. L'objectif étant d'être les premiers à mettre à la disposition du corps médical un traitement efficace pour une maladie, la L.E.D., qui aujourd'hui n'en dispose pas.

Le but de l'essai est d'évaluer atacept comparé au placebo dans la prévention des poussées chez les sujets ayant un lupus. Les objectifs secondaires sont de continuer d'évaluer le profil de sécurité et de tolérance de la molécule chez les patients lupiques mais aussi de confirmer la dose optimale d'atacept et d'obtenir d'autres informations sur le mécanisme d'action, la pharmacocinétique et la pharmacodynamique de la molécule.

Afin de réduire toutes poussées de la maladie, les patients vont recevoir des corticostéroïdes à fortes doses avant de rentrer dans l'étude. Après cette période initiale de 13 semaines en moyenne, les patients éligibles vont être randomisés pour recevoir atacept (à 75 ou 150 mg) ou son placebo. Les injections vont suivre le schéma déterminé pendant les études précédentes (quatre semaines de phase d'induction, quarante-huit semaines d'entretien et six mois de suivi). 510 patients ayant un lupus érythémateux disséminé répondant aux critères A.C.R., avec un taux d'Ac antinucléaires positifs dans le sang, vont être enrôlés.

Les résultats de cette étude ainsi que ceux des autres études de ce programme vont permettre d'envisager l'enregistrement d'atacept dans le L.E.D.

La seconde étude de ce programme est lancée dans la néphropathie lupique (complication grave du L.E.D.) afin de palier au manque de médicament dans cette maladie. Il s'agit d'un essai randomisé en double-aveugle, contrôlé par placebo.

L'objectif est d'évaluer l'efficacité d'atacept comparée au placebo chez les sujets ayant une néphropathie lupique active et recevant un traitement immunosuppresseur par le mycophenolate mofetil. Les objectifs secondaires sont de déterminer le profil de sécurité et de tolérance d'atacept dans ces conditions, de mesurer la pharmacocinétique et la pharmacodynamique de la molécule et d'évaluer les effets d'atacept sur certains biomarqueurs de la maladie.

Les sujets répondant aux critères d'éligibilité vont, avant d'être randomisés dans l'étude, être traités par une forte dose de corticostéroïdes et de M.M.F. pendant 2 semaines. Puis, les patients recevront soit atacept soit placebo. Parallèlement à ce traitement, les doses de corticostéroïdes vont diminuer progressivement.

Cette seconde étude pivot pourrait permettre la mise sur le marché de ce médicament aux Etats-Unis.

La troisième étude qui vient compléter ce programme de développement est aussi conduite chez les patients ayant une néphropathie lupique. Au départ, le programme devait contenir seulement les deux études précédentes. Cependant, les formes variées de la maladie lupique entraîne une grande diversité des prises en charges en fonctions des pays (particulièrement différentes entre l'Europe et les Etats-Unis) et les deux essais présentés ne sont pas suffisants pour permettre l'enregistrement du médicament en Europe. Cette étude lancée plus tardivement que les autres dans le programme a pour but d'obtenir les données nécessaires à la mise sur le marché européen.

Ce projet nommé LN2 (pour *Lupus Nephritis 2*) est présenté en exemple dans la partie suivante.

2. Aspect méthodologique d'une étude clinique dans la néphropathie lupique

Nous avons choisi l'exemple du projet LN2 afin d'illustrer deux aspects important du développement clinique :

- les impératifs méthodologiques à respecter dans la mise en place d'essais cliniques
- les difficultés rencontrées dans la conduite de ces essais dans certains domaines thérapeutiques où l'efficacité est plus difficilement mesurable.

Le projet LN2 est un essai de phase II/III portant sur atacicept dans le traitement de la néphropathie lupique, son intitulé exact est : « *A phase II/III trial, randomised, double-blind, placebo-controlled trial to evaluate the safety and efficacy of atacicept in combination with corticosteroids and sequential therapy with cyclophosphamide and azathioprine in subject with lupus nephritis* ».

Le programme de développement vise à la fois la néphropathie lupique et le lupus érythémateux disséminé. Dans la néphropathie lupique, il est nécessaire de trouver de nouvelles options thérapeutiques plus performantes permettant de préserver la fonction rénale et d'éviter la survenue d'insuffisance rénale. Le mécanisme d'action d'atacicept, qui inhibe deux facteurs de croissances BLYS et APRIL qui ont un impact sur la progression de la maladie, pourrait aboutir à un nouveau traitement pour les patients atteints de lupus et améliorer la fonction rénale dans les cas de néphropathie.

Les caractéristiques cet essai et les motivations qui ont orientées les choix du protocole vont être expliqués, détaillés, et ensuite discutés, le but étant de mettre en évidence les difficultés méthodologiques rencontrées lors de la mise en place de cette étude.

2.1 Objectifs

Un essai clinique est toujours défini par un objectif. A un essai clinique correspond une seule problématique clairement définie : le traitement étudié, la pathologie et les conditions d'administration du traitement. Un seul objectif principal devrait donc être fixé pour chaque essai. Néanmoins, comme une étude peut être très complexe du fait de la pathologie et des conditions d'administration du traitement, que son coût peut être très élevé

et que le temps nécessaire à sa réalisation peut être limité, elle pourra être conduite de manière à pouvoir évaluer d'autres données et répondre à d'autres questions. Ces autres objectifs sont regroupés sous le terme « objectifs secondaires » et parfois « objectifs tertiaires » (111).

Dans le protocole LN2, l'objectif principal est d'évaluer l'efficacité d'atacept comparée à un placebo chez les sujets ayant une néphropathie lupique active, et recevant simultanément des corticostéroïdes et une thérapie immunosuppressive par cyclophosphamide (CY) suivi d'azathioprine (AZA).

L'objectif secondaire de cet essai est d'évaluer le profil de sécurité et de tolérance d'atacept chez ces patients. De plus, l'étude va permettre d'évaluer l'effet d'atacept sur les bio-marqueurs de la maladie lupique et d'identifier les variations génétiques associées à la réponse au traitement par atacept et à l'activité de la maladie (objectifs tertiaires)

Dans le cas de la néphropathie lupique, on peut aussi envisager deux autres problématiques qui vont rentrer dans les objectifs :

- le nouveau médicament est-il évalué en tant que traitement d'entretien ou traitement inducteur ?
- le médicament est-il étudié en monothérapie ou en thérapie d'ajout ?

2.1.1 Traitement d'entretien contre traitement d'induction

Comme expliqué dans la première partie, le traitement de la néphropathie lupique nécessite deux phases de traitement consécutives. La première période de thérapie est constituée par un traitement d'induction ayant pour but d'induire une rémission de la maladie. Les molécules utilisées pendant cette phase sont souvent très efficaces mais aussi très toxiques. On retrouve le cyclophosphamide ou le mycophenolate mofetil souvent associés à des stéroïdes (comme la prednisone). La seconde phase est constituée d'un traitement d'entretien dont le but est de maintenir la rémission de la néphropathie lupique, initiée pendant la première période. Durant cette deuxième phase, les molécules immunosuppressives seront utilisées à des doses plus réduites, et les doses de corticostéroïdes diminuées. Les essais cliniques dans le lupus vont donc inclure cette problématique « traitement inducteur / traitement d'entretien ».

Le design de l'étude LN2 inclut atacicept à la fois pendant la période d'induction et celle d'entretien. En effet, la molécule est administrée à raison de 2 fois par semaine pendant les 4 premières semaines (période d'induction) suivie d'une injection d'atacicept par semaine pendant les 48 semaines suivantes. Le protocole permet donc l'évaluation de la molécule dans les deux phases de traitement.

Les résultats de l'essai ne permettront pas d'évaluer séparément l'efficacité du traitement dans les deux phases mais pourront seulement nous renseigner sur l'efficacité du produit pour les deux périodes cumulées. Il reste donc d'autres analyses à effectuer afin de pleinement évaluer l'efficacité du médicament (seulement en inducteur et seulement en entretien). Pour cela, il faudrait mettre en place deux essais séparés ce qui demande plus de temps et plus d'investissement. Stratégiquement et pour gagner du temps, il est souvent plus intéressant de combiner les objectifs.

2.1.2 Monothérapie contre thérapie d'ajout

Lorsqu'une nouvelle molécule est découverte, deux types d'évaluation sont possibles en clinique :

- ce nouveau traitement peut être évalué seul dans la maladie contre le traitement de référence ou un placebo. On parle de monothérapie car ce traitement sera donné seul pour traiter la maladie (ou un symptôme de la maladie).
- le traitement sera évalué en associant cette nouvelle molécule à un traitement déjà existant dans la maladie. On parle de thérapie d'ajout.

Dans notre cas, atacicept est évalué comme un traitement associé à la thérapie Eurolypus (32). Ce traitement consiste à donner une faible dose de cyclophosphamide (500 mg en injection IV tous les 15 jours) suivie d'azathioprine pendant la période d'entretien. Cette thérapie a déjà démontré son efficacité dans plusieurs essais cliniques.

L'analyse des résultats se fera sur l'association atacicept / traitement Eurolypus. Il ne sera pas possible de déterminer l'impact d'atacicept seul sur la maladie. En effet, lorsque deux traitements sont combinés, les effets peuvent être potentialisés ou au contraire diminués. De même, les effets indésirables peuvent être accentués. Cette étude ne permettra donc pas à elle seule de déterminer l'efficacité propre d'atacicept. Pour ce faire, il faudra se baser à la fois sur les résultats de ces études d'association et sur les études dans lesquelles la molécule était utilisée seule.

Il sera impossible, après avoir conduit ce type d'essai, d'administrer atacicept seul aux patients atteints de N.L. car on ne connaît pas l'activité exacte de la molécule. D'autres études vont être nécessaires pour compléter les données.

Il est très difficile de réaliser un essai en monothérapie dans une maladie aussi grave que la néphropathie lupique. En effet, on ne peut pas éthiquement laisser un patient uniquement sous un nouveau traitement dont l'efficacité n'a pas été démontrée. Dans une maladie où le pronostic vital est en jeu, l'éthique nous impose de réaliser des essais cliniques en thérapie d'ajout. Ces études sont compliquées à mettre en place et il est ensuite difficile d'évaluer l'efficacité propre de la molécule testée.

2.2 Critères de jugement

Lorsque l'objectif d'une étude est d'évaluer l'effet thérapeutique d'un traitement, on appelle « critères de jugement » les variables qui permettront de quantifier cet effet. L'efficacité du traitement peut être évaluée par un ou plusieurs critères de jugement. Néanmoins, afin de faciliter l'évaluation de l'objectif principal de l'étude, le critère de jugement doit, si possible, être unique et ne doit répondre qu'à une seule question, ceci permettra de comparer les résultats entre différents essais. Si plusieurs questions sont posées, on distinguera alors le critère de jugement principal des critères de jugement secondaires.

Les hypothèses statistiques et le calcul du nombre de sujets à inclure sont basés sur les résultats attendus du critère de jugement principal (112).

Les critères utilisés sont de deux ordres :

- les critères quantitatifs, mesurables.
- les critères qualitatifs, obtenus par l'interrogatoire du patient ou l'appréciation du médecin.

Les critères doivent avoir des qualités « métrologiques » c'est-à-dire qu'ils doivent être validés dans la pathologie étudiée, précis et reproductibles (condition la plus difficile à remplir). En outre, dans une étude de bonne qualité, il n'existe qu'un seul critère principal et plusieurs critères secondaires.

Dans l'exemple de l'étude LN2, le critère de jugement principal est la proportion de sujets ayant confirmés leur réponse complète comme définie par les guidelines A.C.R. Les critères secondaires sont nombreux : la proportion de patients ayant une réponse confirmée partielle, la proportion de patients n'ayant pas de réponse au traitement (ni complète ni partielle), la proportion de patients ayant un score A ou B au BILAG (British Isle Lupus Assessment Group), l'évaluation des scores de qualité de vie SF-36 (Short Form-36), et enfin les scores de fatigue KFSS (Krupp Fatigue Score Scale).

Le critère principal et les critères secondaires de l'étude LN2 sont des critères de substitution basés sur le type de réponse (complète ou partielle).

2.2.1 Critère de substitution

Le critère de jugement d'un essai clinique est un des points les plus importants à définir. Un critère sera jugé de bonne qualité s'il s'agit d'un critère clinique, avec un bénéfice direct pour le patient (par ex. diminution de la mortalité). Quand le médicament est évalué sur un critère qui ne représente pas un bénéfice pour le patient, on parle de critère intermédiaire ou critère de substitution.

Le critère principal de jugement de la LN2 est un critère intermédiaire car il n'est pas directement lié à un bénéfice pour le patient. Ce type de critère peut être utilisé dans les essais cliniques mais il est préférable que celui-ci soit validé auparavant par des études épidémiologiques robustes, comme ceci a été fait pour le taux de cholestérol pour lequel on a démontré qu'il était très fortement lié aux maladies cardiovasculaires.

Dans le cas de la néphropathie lupique, il est très difficile de déterminer un critère clinique. La communauté médicale définit la gravité de la maladie en fonction du type de lésions rénales et de leur évolution, très variable d'un patient à l'autre. Dans ce contexte, des bio-marqueurs reflétant l'évolution de la maladie se révéleraient pratiques en clinique et pourraient être utilisés pour évaluer les effets du traitement lors des essais. Si une relation directe entre un effet clinique et un marqueur était prouvée, un critère de substitution de ce type pourrait être validé et pourrait être utilisé comme critère de décision clinique. Pour cela, il serait nécessaire de faire une étude de méta-analyse qui, à partir des résultats de différents essais, pourrait déterminer le degré de corrélation entre le critère intermédiaire et le critère principal. De la sorte, on pourrait prédire pour tous les nouveaux essais l'effet attendu sur le critère principal, compte tenu de l'effet sur le critère de substitution (113).

Le critère principal de la LN2, basé sur le type de réponse du patient (réponse complète ou partielle) n'a jamais été validé. Malgré le nombre important d'études menées dans le lupus, aucune n'a eu un critère clinique comme critère principal et aucun des critères de substitution utilisés n'a été validé. L'utilisation de critères non validés est souvent « historique » et justifié par le fait qu'il s'agit de critères « provisoires », il n'y a donc pas d'argument en assurant la validité. Contrairement à ce qui a été expliqué plus haut, c'est donc l'usage qui tient lieu de validation (par exemple dans le SIDA, le critère utilisé est le taux de CD4 ou la charge virale, qui sont des critères non cliniques).

C'est en accord avec la FDA que des critères de substitution non validés ont été choisis pour les deux études dans la néphropathie lupique car, selon les experts, ils sont très probablement liés à un bénéfice clinique.

2.2.2 Type de réponse

Le critère principal de jugement de l'étude LN2 est déterminé par la proportion de sujets ayant une réponse complète confirmée (telle que définie par les recommandations de la société américaine de rhumatologie, A.C.R., (23)) après 52 semaines de traitement. Par réponse complète on entend : normalisation de la fonction rénale (le taux de filtration glomérulaire doit être compris dans les 10% de la valeur normale, qui est de 90 mL/min/1.73 m²) ; amélioration de la protéinurie (ratio protéine/créatinine <0.2 mg/mg) ; et amélioration de l'hématurie (sédiment urinaire limité et pas de globules rouges dans les urines).

Parmi les critères secondaires on retrouve notamment la proportion de sujets, 52 semaines après le début du traitement, ayant :

- une réponse complète dite « modifiée » confirmée : définie par un retour à la normale de la fonction rénale (pas d'aggravation) et une amélioration de la protéinurie (ratio protéine/créatinine <0.5 mg/mg) et de l'hématurie.
- une réponse partielle confirmée : définie comme une aggravation de la fonction rénale inférieure à 10%, une amélioration de plus de 50% de la protéinurie et une amélioration de l'hématurie.
- une non-réponse au traitement (les deux premiers critères ne sont pas atteints).
- une réponse complète définie par les recommandations de l'A.C.R. ou une réponse partielle.

Comme expliqué précédemment, l'efficacité d'atacept est mesurée par rapport à un critère de substitution. Ce critère évalue le nombre de patients ayant une réponse complète par rapport au nombre de patients n'atteignant pas cette réponse.

Afin d'étudier toutes les possibilités de ce nouveau traitement, les critères secondaires sont là pour déterminer les possibilités de réponse partielle à atacept (patients ayant une réponse complète ou une réponse partielle par rapport aux patients n'ayant pas de réponse au traitement). Les différentes qualifications du type de réponse ont été définies afin d'une part de pouvoir harmoniser les résultats et d'autre part de pouvoir comparer les résultats entre les différentes études menées dans le lupus.

Dans ce type de pathologie, les autorités réglementaires requièrent une réponse clinique complète voire une rémission afin de délivrer une autorisation de mise sur le marché. On parle de « rémission » lorsque le sujet ne reçoit plus de traitement pour son lupus, à l'inverse on parle de « réponse complète » lorsque le patient continue son traitement. Enfin cette réponse clinique doit être prolongée et donc caractérisée par une absence complète de la maladie pendant au moins six mois consécutifs. Si le critère principal de réponse complète n'est pas atteint à la fin de l'essai, les critères secondaires sur les réponses partielles donneront de bonnes indications pour la suite du développement d'atacept dans le lupus.

2.3 Population

La population incluse dans LN2 a été sélectionnée par des critères très précis que l'on appelle critères « d'inclusion » et « d'exclusion ». Cet essai clinique a enrôlé des sujets qui ont une néphropathie lupique active au moment de leur sélection.

Le calcul statistique du nombre de patients est d'une part basé sur les résultats observés dans les études publiées étudiant l'efficacité de CY, AZA et des corticostéroïdes, et est d'autre part réalisé de manière à obtenir une différence absolue de 20% entre les groupes placebo et atacept. Le nombre total de sujets tient aussi compte du nombre de personnes qui seront perdues de vue au cours de l'étude. Ainsi, au total, 137 sujets par bras de traitement seront randomisés dans l'étude, soit une population totale de 274 patients.

2.3.1 Choix des critères de sélection

Les critères d'inclusion et d'exclusion d'une étude regroupent toutes les raisons médicales ou sociales selon lesquelles une personne peut ou ne peut pas participer à une étude. Ils vont donc servir à la sélection des patients et définir un type de population. Cette sélection a pour but de rassembler des personnes ayant certaines caractéristiques ou conditions communes qui permettront de mieux connaître et d'évaluer l'efficacité du traitement. De même, l'exclusion de certaines personnes est nécessaire car elles pourraient souffrir du traitement ou compliquer son évaluation. Cette population prédéfinie sera la principale population cible lors de la mise sur le marché du médicament.

Plus les critères seront nombreux et stricts, plus il sera difficile de trouver des patients ayant le profil recherché. Dans le cas de la LN2, on compte huit critères d'inclusion et trente critères d'exclusion. Le nombre de critères mais aussi le fait qu'ils soient très restrictifs amène à penser que le recrutement des sujets dans cette étude sera long et difficile (112).

Dans les critères d'inclusion on retrouve :

- la définition de la maladie (selon les critères de l'A.C.R.), le diagnostic de la N.L. par biopsie rénale (grade III ou IV) et son activité (définie par la protéinurie et l'hématologie),
- la présence ou non des anticorps antinucléaires (ANA),
- patients majeurs ayant signé un consentement libre et éclairé.

Dans les critères d'exclusion, on retrouve :

- des résultats de laboratoire (G.F.R., transaminase AST ALT, IgG,...),
- certaines molécules prises concomitamment à l'étude ou précédant la visite de sélection sont interdites (CY, AZA, stéroïdes en IV, M.M.F. ou méthotrexate),
- l'intolérance à certains traitements (AZA, CY, IEC),
- la participation à d'autres essais cliniques en même temps que celle-ci ou précédant l'étude,
- certaines maladies concomitantes ou précédant l'étude (ulcère gastroduodéal, hépatite C, tuberculose, maladie de Creutzfeld Jacob, insuffisance cardiaque ou cancer).

La définition très précise de la population de l'étude a été très vite considérée comme un problème. L'étude de faisabilité avait d'ailleurs fait ressortir que le nombre de patients

répondant aux critères d'entrée était très faible. Pour contrecarrer cette estimation très faible du taux de recrutement, un grand nombre de sites dans un grand nombre de pays devra être ouvert pour réduire au maximum la durée du recrutement et ainsi ne pas retarder la sortie des résultats de l'étude.

Du fait de l'absence de modèle d'essai clinique dans la néphropathie lupique, on retrouve des populations très variables d'un essai clinique à un autre. Aucun des modèles explorés n'a pu prouver son efficacité et donc être reproduit de façon systématique, la définition de la population type pour la néphropathie lupique reste encore floue et chaque étude clinique a sa propre approche du problème.

2.3.2 Taille de l'échantillon

La détermination de la taille de l'échantillon découle d'un calcul statistique précis. Ce calcul est basé sur l'effet attendu du médicament et plus particulièrement sur la différence de résultats attendue sur le critère de jugement principal entre les différents bras de l'étude. Plus la différence d'efficacité attendue entre les deux traitements (médicament testé et médicament de référence ou placebo) sera faible, plus le nombre de sujets à inclure sera important. A l'opposé, si le traitement est très efficace, un petit nombre de sujet suffira pour obtenir un résultat statistiquement significatif.

L'effet du traitement mesuré par le biais du critère de jugement principal est associé à une variabilité inter-individuelle (ou écart type de la mesure). Plus la variabilité entre les sujets est faible, moins il faudra inclure de patients dans l'essai. Pour avoir une faible variabilité, il faut par exemple utiliser des groupes de patients très homogènes et réduire les erreurs de mesure en utilisant un laboratoire centralisé (111). Cette variabilité inter-individuelle est difficile à déterminer à priori. Elle peut soit être déterminée par la conduite d'étude pilote, soit à partir de la littérature. Mais parfois, certaines études prévoient des analyses intermédiaires qui vont permettre de réajuster la taille de l'échantillon.

Ce calcul prend aussi en compte :

- la puissance souhaitée de l'étude correspondant au risque $1-\beta$, c'est-à-dire la probabilité de mettre en évidence une différence entre deux traitements, si cette

différence existe vraiment. Dans LN2 elle est fixée à 90% ; plus la puissance est grande, plus il faudra de sujets dans l'étude.

- le risque α , c'est-à-dire le risque de conclure que le traitement est efficace alors qu'il ne l'est pas. Il est de 0.05% dans LN2. Plus ce risque est faible, plus le nombre de sujets à inclure est important.
- le test statistique choisi par le protocole, l'estimation du nombre de patients perdus de vue pendant l'étude, le nombre de patients présélectionnés mais non randomisés car n'ayant pas tous les critères d'éligibilité.

Le contexte de la LN2 rend le calcul difficile, car celui-ci peut uniquement se baser sur deux petites études de phases exploratoires.

2.4 Traitement d'essai

Le traitement testé dans un essai clinique est aussi nommé par l'abréviation IMP (Investigational Medication Product ou Médicament Expérimentale).

Le protocole regroupe toutes les caractéristiques de l'IMP. En premier lieu, le calcul de la dose administrée qui dépend de plusieurs facteurs. Mais on retrouve aussi le schéma d'administration et le détail sur les traitements concomitants à administrer pendant la durée de l'étude.

2.4.1 Détermination de la dose

Dans le cas d'un nouveau traitement, la dose à administrer à l'homme est déterminée en tenant compte des effets observés chez l'animal lors des études toxicologiques. Ces études réalisées avant les tests chez l'homme, évaluent la nocivité du produit à différentes expositions/doses. Par prudence, la première dose testée est faible, elle correspond à la dose pour laquelle aucun effet toxique n'a été observé chez l'animal, divisée par un facteur de sécurité (114) :

$$\text{Première dose} = \text{dose maximale sans effet toxique} / \text{facteur de sécurité}$$

Ce facteur de sécurité est supérieur ou égal à dix. Il prend en compte les modèles précliniques utilisés en pharmacologie, mais aussi le mécanisme d'action de la molécule, les organes cibles et les voies métaboliques impliquées. La progression des doses doit se faire ensuite selon des critères de tolérance clinique. Les risques identifiés en préclinique peuvent amener à ne pas passer à la dose supérieure. Dans le cas d'atacept et de la néphropathie lupique, il faut considérer avec attention l'organe cible, le rein, très impliqué car très sensible aux médicaments. Il faut donc prévoir une surveillance étroite des reins pendant la durée de l'étude.

Les essais de phase II du développement clinique d'un médicament ont pour but principal de déterminer la dose et la posologie optimale du traitement. Ce sont des travaux étudiant la relation dose-réponse. La détermination de la dose optimale est une étape essentielle dans le plan de développement. Du fait de l'absence de phase II étudiant la dose-réponse d'atacept dans la néphropathie lupique, il est plus difficile de déterminer correctement la dose optimale d'atacept nécessaire pour traiter la N.L. C'est donc basée sur les études précliniques et les résultats des études cliniques exploratoires que la dose de médicament a été fixée pour la phase II/III.

L'ensemble des informations a montré qu'atacept administré à la dose de 150 mg par injection sous-cutanée (jusqu'à deux fois par semaine) avait un ratio bénéfice/risque favorable. Cette dose permettrait d'obtenir une réponse proche de la réponse maximale et de la saturation des récepteurs TACI. La même dose sera utilisée pour les différentes phases II en cours sans recherche de dose.

2.4.2 Autres considérations liées au traitement de l'essai

Le protocole définit les conditions et la voie d'administration en se basant sur les phases exploratoires. Les deux phases I ont évalué atacept en sous-cutanée et en intraveineuse. La voie IV a été explorée lors de l'administration de doses plus importantes d'atacept. La voie sous-cutanée s'est révélée plus facile d'utilisation pour le patient, sans problème de tolérance au niveau du point d'injection pour les doses souhaitées.

Les bases de données existantes dans le L.E.D. et dans la néphropathie lupique ont permis de déterminer des modèles de pharmacocinétique/pharmacodynamique, et ainsi d'envisager atacept à la fois dans la phase d'induction et dans la phase d'entretien. Cette dose de charge utilisée pendant la phase induction pourrait fixer une grande partie des

récepteurs BLyS et APRIL et ainsi empêcher leurs actions sur les L_B via le récepteur TACI. Le traitement d'entretien agirait en empêchant l'activité des cytokines sous-jacente à ces récepteurs. La combinaison de ces deux types de régime permettrait d'obtenir une réponse précoce tout en maintenant cette action par la suite.

La dose d'atacept pendant la période de traitement a été fixée à une fois par semaine, car il a été montré qu'un traitement plus fréquent mais à des doses plus modérées produisait une meilleure réponse qu'une administration moins fréquente de doses plus fortes. La détermination de la fréquence d'administration de la molécule pendant la phase d'induction ainsi que la durée de cette première phase est basée sur la tolérance des sujets aux injections sous-cutanées.

Le protocole définit aussi une liste des médicaments que les investigateurs pourront ou non associer à atacept lors de l'essai en fonction des interactions qui pourraient faire diminuer ou augmenter l'efficacité du produit.

Dans le cas de la LN2, atacept est associé à d'autres médicaments qui sont des corticostéroïdes, des immunosuppresseurs (cyclophosphamide et azathioprine) et des inhibiteurs de l'enzyme de conversion. Les doses de glucocorticoïdes sont particulièrement bien détaillées (la dose initiale va être diminuée au fur et à mesure de l'étude jusqu'à une dose minimale stable de prednisolone).

Il est fortement recommandé dans les études sur le lupus d'utiliser une dose de corticostéroïdes réduite et fixe pour tous les patients afin d'éviter les biais de suivi, et rendre ainsi possible l'interprétation des résultats. En effet, chaque changement, même minime, dans les traitements concomitants, que ce soit les stéroïdes, les immunosuppresseurs ou tout autre médicament, peut influencer le critère de jugement principal. Le protocole doit donc fournir toutes les considérations nécessaires afin de standardiser l'administration des traitements utilisés de manière concomitante avec atacept.

2.5 Design de l'essai

Comme le montre la figure 20, le design de l'étude LN2 est complexe. Ceci est notamment dû au fait que, durant l'étude, les patients continuent de recevoir leur traitement de fond.

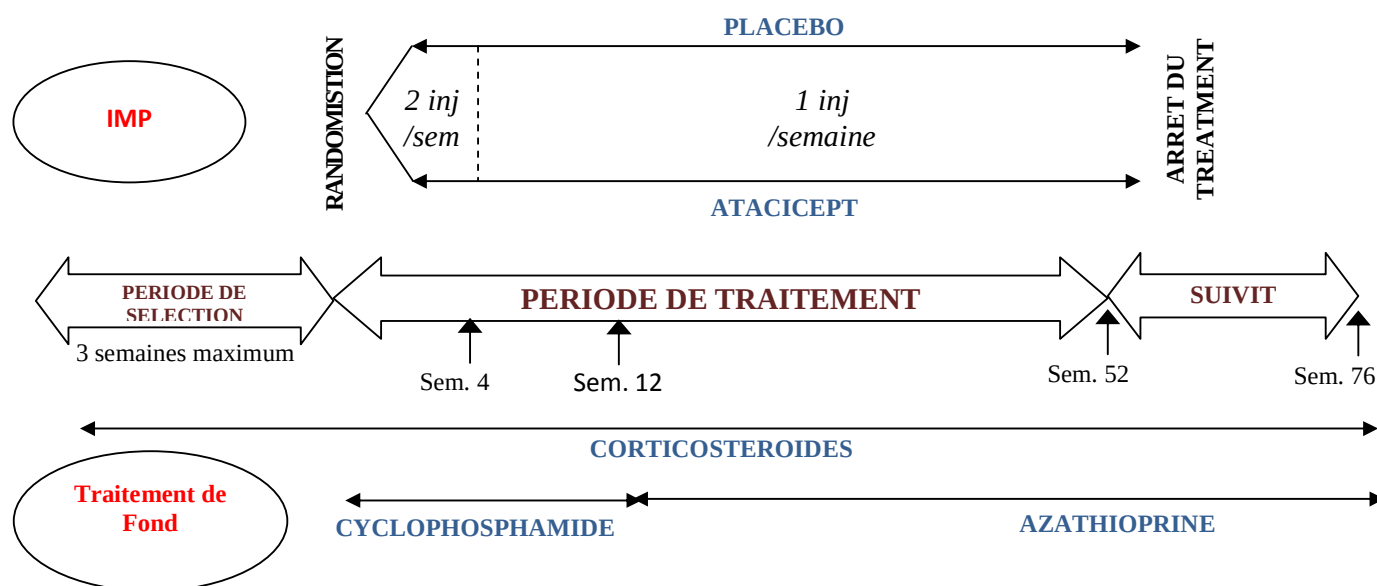


Figure 20 : Schéma du protocole LN2

Les sujets répondant à tous les critères d'inclusion seront randomisés pour recevoir atacicept 150 mg ou un placebo (avec un ratio 1:1). A partir du premier jour de l'étude (J-1), le traitement testé sera administré en sous-cutanée deux fois par semaine et ce pendant les quatre premières semaines de l'étude. Puis l'administration du traitement se fera une fois par semaine. La durée totale du traitement est de cinquante-deux semaines.

Du fait de la sévérité de la maladie, les patients vont recevoir en parallèle un traitement de fond appelé « Euro-Lupus Therapy ». Ce régime est constitué d'une faible dose de CY administrée en IV (six injections de 500 mg, séparées par un intervalle de deux semaines) poursuivi par azathioprine (2 mg/kg/jour) deux semaines après la dernière injection de CY. En plus, le patient va recevoir une corticothérapie avec une dose de charge de stéroïdes à J-1 (pour inhiber une éventuelle poussée) et des corticoïdes par voie orale dès le

premier jour de sélection. Le traitement oral consiste à commencer par 0.5 mg/kg/j de prednisolone ou équivalent pendant quatre semaines puis à diminuer les doses de stéroïdes de 2.5 mg toutes les deux semaines jusqu'à une dose moyenne de 5 à 7.5 mg de prednisolone par jour. Ce traitement sera poursuivi jusqu'à la fin de l'étude.

2.5.1 Comparateur

La guideline européenne ICH E10 décrit le principe de la mise en place d'un comparateur dans les essais cliniques (115). L'évaluation d'un nouveau médicament ne peut se faire en toute rigueur qu'en comparant des résultats d'un groupe de malades ayant reçu le nouveau produit aux résultats d'un groupe de témoins ne l'ayant pas reçu. Le choix du groupe contrôle est extrêmement important si l'on veut démontrer l'efficacité d'un médicament. En effet, l'amélioration d'un patient après un traitement peut être due au traitement en lui-même, mais aussi à une régression naturelle de la maladie ou à la prise en charge thérapeutique du patient (attention portée au malade, prise d'un traitement). Dans un groupe unique de patients traités par un nouveau médicament, il serait impossible de différencier l'effet propre du traitement, de l'effet placebo.

D'un point de vue scientifique, l'effet placebo est considéré comme le niveau de base de l'efficacité (effet pharmacologique nul) (figure 21).

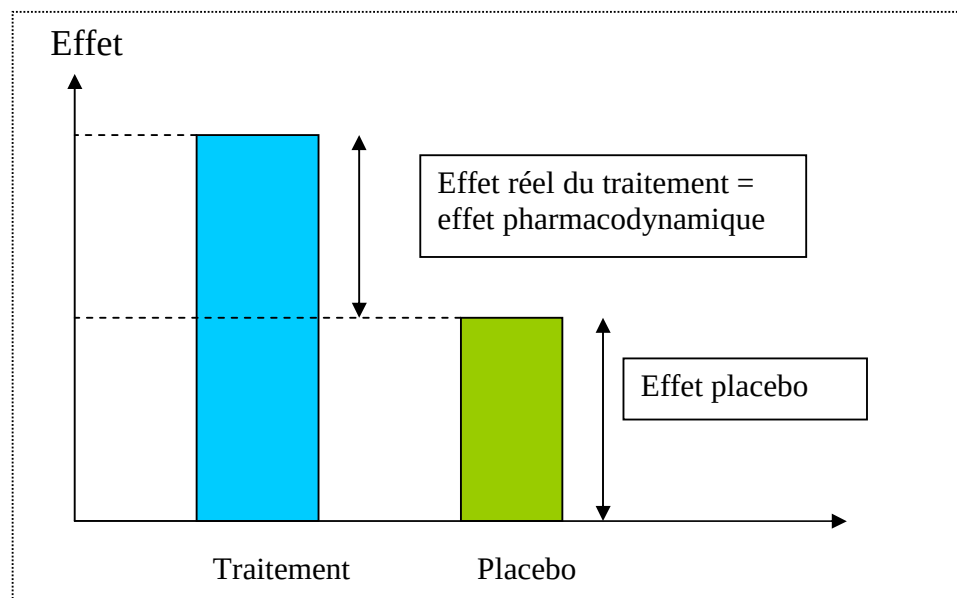


Figure 21 : Différence entre effet placebo et effet réel

Ainsi, lors d'un essai et afin d'éviter les biais liés à ces effets parallèles au traitement, on utilise un système de comparaison constitué d'un groupe contrôle. Ce groupe contrôle sera traité par un médicament comparateur. Un comparateur est défini comme un médicament dont on connaît l'efficacité dans l'indication étudiée. Si ce médicament n'existe pas, on utilisera alors un placebo (112, 116).

Sur le plan scientifique, un essai de supériorité contre placebo reste le type d'essai le plus satisfaisant car il est non biaisé. Mais sur le plan éthique, il s'agit en quelques sortes de leurrer le patient et de le priver de traitement. En effet, à l'heure actuelle, il existe des traitements contre la plupart des maladies (et pouvant être qualifiés de traitements de référence) et il ne serait pas déontologique de ne pas en faire profiter les patients, même dans le cadre d'un essai clinique. De même, il est difficile de demander à un patient d'arrêter son traitement habituel pour participer à un essai comportant un groupe placebo. D'un point de vue éthique, tous les malades doivent pouvoir bénéficier du meilleur traitement disponible (116, 117).

Dans l'étude LN2, le comparateur est un placebo. Cependant, comme dans la plupart des études dans le lupus, il s'agit d'un essai pour un traitement d'ajout à une thérapie standard. Ce traitement de fond est la thérapie EuroLupus. Ce régime est considéré comme le traitement de référence de la néphropathie lupique en Europe. Un des avantages de ce type d'essai, c'est qu'il permet l'évaluation des interactions au niveau de la pharmacocinétique et de la pharmacodynamique avec les produits couramment utilisés dans le L.E.D.

2.5.2 Randomisation

Les groupes définis par le protocole de l'essai clinique doivent être similaires de manière à ce qu'il n'existe aucune différence entre eux en dehors du traitement reçu. On doit donc retrouver dans les groupes le même type de patients au même stade de la maladie. Ainsi, à la fin de l'essai, s'il existe une différence, elle ne sera due qu'au traitement.

La randomisation est une méthode d'allocation du traitement aux patients par le système du hasard qui va permettre d'obtenir une parfaite similitude entre les groupes. Chaque patient a la même chance de recevoir le traitement A que le traitement B. La randomisation masquée permet d'éviter le biais d'allocation du traitement. Par exemple, le

médecin qui procédera lui-même à l'allocation du médicament pourrait faire une différence entre les patients selon la sévérité de leur maladie.

La randomisation va permettre la formation de groupes comparables (figure 22). La différence d'activité de la maladie observée entre les deux groupes à la fin de l'essai sera alors uniquement due à la différence de traitement.

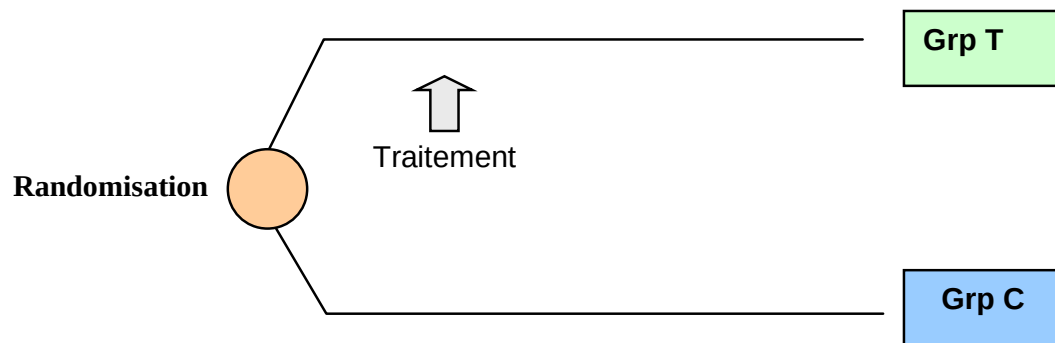


Figure 22 : La randomisation permet d'obtenir 2 groupes dont la seule différence réside dans l'administration du traitement

2.5.3 Double aveugle

La comparabilité issue de la randomisation doit être maintenue tout au long de l'essai et ceci peut être réalisé grâce à un suivi objectif des patients et à une utilisation similaire des traitements concomitants. Pour cela, les conditions de réalisation doivent être telles que ni les patients, ni le personnel soignant ne sachent qui reçoit le placebo ou le produit et à quelles doses. Pour pouvoir obtenir de telles conditions, une procédure de double aveugle ou double insu est mise en place.

Les biais évités par le double aveugle sont :

- le biais de traitement : lié à une différence de prise en charge des patients entre les deux groupes. L'allocation plus soigneuse ou attentive des patients dans un des groupes peut avoir à elle seule des effets suggestifs dans l'évaluation des patients.
- le biais d'attrition : lié aux décisions du médecin pour terminer le traitement d'un patient selon son groupe. Il pourrait influencer certains patients à rester dans l'étude.
- le biais d'évaluation : lié à la conviction du médecin sur l'efficacité ou non du traitement alloué. On peut notamment retrouver dans ce biais des descriptions différentes de l'état clinique des patients (intensité des douleurs, effets indésirables).

Les études ayant pour but la mise sur le marché d'un nouveau médicament doivent avoir un certain niveau de qualité ; et dans ce cadre, une étude en double-aveugle randomisée est indispensable (figure 23). Ces méthodes qui ont pour but d'éviter les biais vont être mises en place dans l'étude LN2. Du fait des différents stades de la maladie, la randomisation sera stratifiée en fonction des traitements précédemment reçus par le patient, du taux de filtration glomérulaire et de l'origine ethnique. La stratification est faite afin que ces différentes caractéristiques, qui peuvent influencer l'évolution de la néphropathie, soient équitablement réparties dans les deux groupes et ne viennent pas fausser les résultats de l'étude (118, 119).

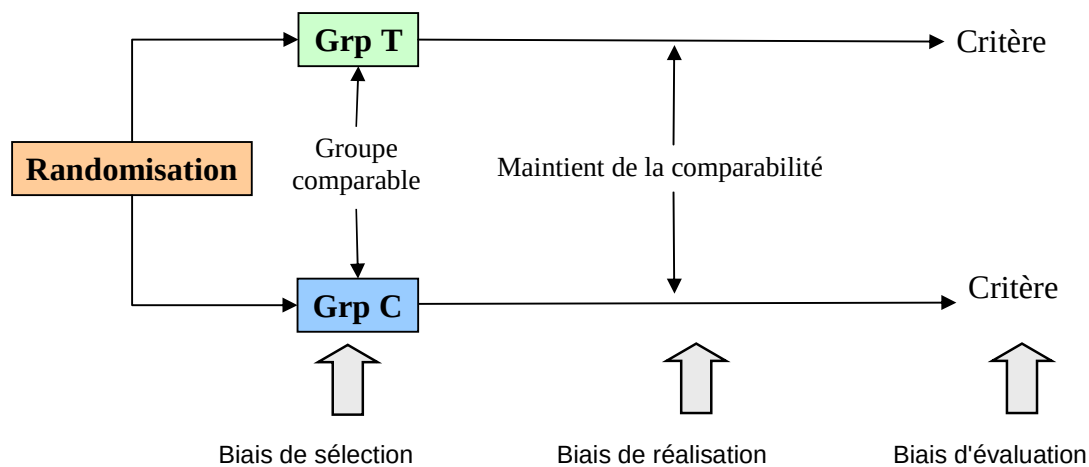


Figure 23 : Essais contrôlé randomisé en double aveugle qui permet d'éviter les biais de sélection, de réalisation et d'évaluation

2.5.4 Durée du traitement

Un essai clinique doit durer assez longtemps pour permettre aux différents traitements d'être évalués de la meilleure façon possible. Dans le cas de maladies aiguës, des essais de courte durée semblent appropriés. Dans le cas d'une maladie chronique, le traitement sera alors évalué sur une plus longue période, ce qui le rapproche plus de son utilisation future.

Dans le cas d'une maladie auto-immune, un essai de courte durée ne pourrait pas démontrer que la réponse est durable et que le traitement est sûr. Cependant, il est difficile de conduire des essais dans ce domaine car ce sont des maladies caractérisées par des poussées et par des changements fréquents de traitement dus à l'évolution de la médecine de ces maladies.

Dans le domaine du lupus, les agences internationales recommandent que la durée de l'essai soit de douze mois, bien que des périodes de traitement plus courtes puissent être envisagées selon l'organe étudié ou le critère de jugement choisi pour l'étude.

Dans le cas de LN2, au vu du temps nécessaire à atacicept pour agir comme immunomodulateur, la période de traitement a été fixée à un an de traitement. Néanmoins afin de mieux connaître le profil de sécurité et d'efficacité de la molécule, une période de suivi de six mois est prévue, elle permettra d'évaluer avec précision les effets qui pourraient être liés au traitement.

2.6 Conclusion : Difficultés opérationnelles

De nombreuses difficultés ont été rencontrées lors de la mise en place de l'étude LN2. En effet, la complexité de l'étude a rendu sa réalisation très difficile, les objectifs de recrutement et le calendrier prévu pour une mise sur le marché en 2012, ont été difficiles à respecter.

Afin d'obtenir une meilleure projection de la réalisation du projet, une étude de faisabilité au niveau de potentiels sites investigateurs a été réalisée mondialement avant le lancement du projet. Elle a ciblé différents domaines :

- potentiel de recrutement des centres : revue des critères d'éligibilité des patients, présence d'étude compétitive ou similaire pouvant affecter le recrutement, population vulnérable devant nécessiter d'autres protections (double accord des parents pour les mineurs),
- revue de certaines exigences du protocole : expériences passées de la société dans le domaine, intervention thérapeutique prévue par le protocole consistant avec les soins standards du site, médicament facile à prendre (observance), flexibilité des visites,
- budget de l'étude ou au niveau de l'investigateur : estimation du budget adéquat avec les attentes du protocole (complexité du protocole, nombre de visites de monitoring...),
- ressources nécessaires : personnel qualifié, nombre de moniteurs nécessaires, présence de co-investigateurs et infirmières présents sur site, formation reçue, expérience dans les essais cliniques et dans le lupus,

- équipements : disponibilité d'accueil dans le centre, équipement de réanimation présent en cas d'urgence.

Les conclusions de l'étude de faisabilité ont tout d'abord mis en avant le caractère compétitif du domaine dans lequel la LN2 est conduite : environ dix-sept études étaient en cours dans la néphropathie lupique au moment de la faisabilité. De plus, le traitement de fond proposé dans le protocole n'est pas utilisé couramment à travers le monde, ce qui réduit le nombre de pays pouvant conduire l'étude. Enfin, le taux de recrutement déterminé par cette étude était très faible, de 0.2 patient/site/mois.

A partir de ce taux attendu de recrutement, il a été jugé nécessaire d'ouvrir 160 centres dans 37 pays afin de recruter le nombre de patients à inclure dans le temps imparti par l'étude. La sélection des pays et des sites est un procédé très long, car il faut trouver les sites ayant un fort potentiel de recrutement. En fait, le choix des pays se base sur :

- l'expérience antérieure de la société dans le pays,
- le potentiel de recrutement (selon la distribution de la maladie mais aussi selon les résultats de la faisabilité),
- les conditions d'approvisionnement en IMP des sites (temps nécessaire pour avoir le médicament disponible sur site, licence d'importation demandée pour chaque envoi ...),
- les conditions liées aux analyses de sang par les laboratoires centralisés basés à Genève et Indianapolis (facilité d'envoi des échantillons hors du pays, temps que mettent les échantillons pour arriver aux différents laboratoires dans la limite de stabilité des échantillons...),
- les contraintes liées aux autorités compétentes (temps pour obtenir les approbations des comités d'éthique et/ou de l'agence de santé),

Il est important de prendre le temps nécessaire pour sélectionner les pays ayant les meilleurs potentiels. La priorité a été donnée aux pays connus pour obtenir rapidement l'approbation des Comités d'Ethiques et des Autorités de Santé.

Afin de contrer ces difficultés et pour gagner du temps, une partie du travail va être sous-traité à une C.R.O. (Clinical Research Organisation) qui pourra plus facilement déployer une stratégie d'action à travers le monde quels que soient les pays choisis.

3. Problèmes rencontrés et discussion

3.1 Problèmes de sécurité et conséquences : Cas des études LN1 et LN2

Comme expliqué précédemment, l'étude LN1 était au départ la seule étude dans la néphropathie lupique à faire partie du programme de développement d'atacept. Ci-dessous on retrouve le schéma de l'étude.

Les deux études sont similaires et on retrouve des objectifs très proches (déterminer l'efficacité d'atacept comparé au placebo chez des patients atteints de néphropathie lupique recevant du MMF) ; les critères de jugement sont identiques afin de pouvoir être comparés entre eux, et la population attendu est de 200 patients ayant des critères d'inclusion et d'exclusion sont semblables à ceux trouvés dans la LN1.

La principale différence réside dans les traitements concomitants alloués pendant l'étude. A la place du traitement Eurolypus (AZA + CY), les patients recevront du Mycophenolate Mofetil. Ce traitement commence 14 jours avant atacept à la dose de 1000mg/jour et sera augmenté progressivement jusqu'à une dose de 2000 mg/jour. L'administration d'atacept reste identique : 2 injections par semaine pendant les 4 premières semaines et une seule fois par semaine pendant les 48 semaines d'entretien.

Après huit mois de recrutement, seulement 6 patients au total ont été randomisés dans l'étude LN1 dont 4 pour des problèmes liés à des effets indésirables graves. Pour trois d'entre eux, leur taux d'immunoglobulines, pourtant normal à leur entrée dans l'étude, est descendu en dessous du seuil de 3 g/L (diminution de plus de 50%). Deux de ces trois sujets avaient une infection pulmonaire considéré comme un effet indésirable grave.

Dans cette étude, les patients commençaient par un traitement avec mycophenolate mofetil et une forte dose de corticostéroïdes pendant 14 jours. Ensuite débutait le traitement par atacept (150 mg deux fois par semaine) et en parallèle les doses de stéroïdes diminuaient.

Réalisée en septembre 2008, l'analyse des événements indésirables graves a montré que le traitement par M.M.F. seule provoquait déjà la chute des Ig et que cela avait pu être amplifié lors de l'ajout d'atacept. Le faible taux d'immunoglobulines est à l'origine des infections graves ; en dessous d'un taux d'immunoglobulines de 3g/L on parle d'immunodéficience. La perte d'immunoglobulines apparaît comme multifactorielle : à la fois

à cause des médicaments (M.M.F., stéroïdes, atacicept) mais aussi de la maladie (protéinurie). Le rapport bénéfice/risque observé n'étant plus jugé favorable, la décision a été prise d'arrêter ce protocole.

Face à ces résultats, la question de continuer la deuxième étude (LN2) s'est posée. Les données précliniques sont peu connues mais il est admis que le cyclophosphamide a lui aussi un effet sur les IgG. Considéré comme trop risqué, le protocole LN2 est alors mis en attente et doit être amendé avant de pouvoir continuer.

Le risque d'associer atacicept à un autre immunosuppresseur semble important, surtout dans la néphropathie lupique du fait de la physiopathologie de la maladie (protéinurie). Les effets semblent plus limités dans le lupus généralisé (mise en place de mesure de sécurité pour les autres études).

La décision d'arrêter une étude ne se fait pas facilement, non seulement d'un point de vue financier (temps et argent investi) mais aussi d'un point de vue opérationnel. Tout d'abord l'arrêt, même temporaire d'un essai clinique doit faire l'objet d'un signalement aux Autorités Compétentes de chaque pays (Agences Réglementaires comme l'AFSSAPS et Comités d'Ethiques) qui ont déjà donné un avis favorable au protocole ou qui sont en train de l'évaluer. Il faut en parallèle informer tous les investigateurs de la décision du promoteur. Toutes les mesures possibles doivent être mises en place pour garantir la sécurité du patient en donnant une explication claire et détaillée de la décision. Il faut aussi s'assurer du suivi approprié de ces patients avec éventuellement une nouvelle prise en charge. De même, tous les sous-traitants impliqués dans l'étude vont être informés et les contrats arrêtés. Il faut aussi gérer la destruction des médicaments fournis et des échantillons de sang prélevés qui ne seront pas analysés. D'un point de vue logistique cela peut être très long et très coûteux d'arrêter un projet bien engagé. C'est pour cela qu'il est important de déterminer ce qui s'est passé et d'éviter de refaire les mêmes erreurs.

3.2 Quelles leçons peut-on tirer de cette expérience ?

Comme expliqué plus haut, le lupus est une maladie auto-immune due à la présence d'auto-anticorps dirigés contre des antigènes ADN du soi. Atacicept est une molécule qui cible les lymphocytes B et qui pourrait empêcher la survie des cellules responsables de la production d'anticorps ; il est donc logique de s'intéresser à l'effet clinique de cette molécule

dans le lupus érythémateux disséminé et dans la néphrologie lupique. L'arrêt précoce survenu dans la conduite des études pour cette indication soulève des questions importantes sur le développement des immunomodulateurs dans les maladies auto-immunes. Où est l'erreur ? Quelles leçons peut-on tirer de cette expérience ?

1. La connaissance des immunosuppresseurs et des immunomodulateurs est encore très limitée et leur utilisation (particulièrement lorsqu'ils sont associés entre eux ou à d'autres traitements) est encore très peu maîtrisée.

On peut, par exemple comparer atacicept avec un autre immunomodulateur comme rituximab, car ils agissent tous les deux sur les lymphocytes B. Bien que leurs mécanismes d'action soient différents, leur cible commune peut faire penser que les effets dans les M.A.I. seront proches. Rituximab a, comme atacicept, été étudié dans la polyarthrite rhumatoïde pour laquelle il a reçu l'autorisation de mise sur le marché en 2006.

Dans la sclérose en plaque, les résultats d'une étude de phase II ont été publiés récemment, et ont montré une diminution des lésions mesurées par IRM pour les patients traités par rituximab pendant quarante-huit semaines.

D'un point de vue clinique, la proportion de patients ayant des poussées était moins importante pour les patients traités par rituximab que pour ceux sous placebo. D'autres études sont encore en cours dans la S.E.P., notamment sur les formes progressives.

Atacicept a échoué récemment dans la sclérose en plaque avec l'arrêt de toutes les études dans la S.E.P., car la molécule semble aggraver la maladie : ce qui prouve que malgré leur ressemblance, ces deux molécules n'agissent pas de la même manière. En résumé, le tableau 5 compare les effets des deux molécules dans les trois maladies auto-immunes testées.

	Rituximab	Atacicept
S.E.P.	Résultats positifs	Aggravation de la maladie
P.R.	Approuvé depuis 2006	Evaluation en cours
L.E.D./N.L.	Pas d'action	A réévaluer en fonction des traitements concomitants

Tableau 5 : *Comparaison des effets de 2 immunomodulateurs, atacicept et rituximab, dans les maladies-auto-immunes*

Mais pourquoi atacicept aggrave-t-il certaines M.A.I. et rituximab non ? Pourquoi ces deux molécules qui ont la même cible n'ont pas la même action thérapeutique ?

Les immunomodulateurs vont entraîner des mécanismes compensateurs encore peu connus et qui ne sont pas tous maîtrisés. Les nouveaux médicaments issus des biotechnologies ont des effets tellement imprévisibles que la mise en place des essais cliniques pour évaluer ces molécules est un réel défi. Surtout que dans la plupart des essais, plusieurs immunosuppresseurs sont associés. Alors comment prévoir l'effet d'un cocktail de molécules sur le système immunitaire humain ?

2. Les études toxicologiques disponibles avant la mise en place des études cliniques étaient certainement trop faibles.

Quand le design des études dans la néphropathie lupique a été finalisé, les données précliniques associant atacicept à un autre immunosuppresseur étaient très peu nombreuses. La seule étude disponible était une étude pilote de quatre semaines combinant atacicept avec M.M.F. chez la souris CD-1. Les résultats ont montré que la co-administration d'atacicept et de mycophenolate mofetil amenait une plus grosse déplétion de lymphocytes B totaux comparé à un seul traitement immunosuppresseur. Toutes les souris retrouvaient leur taux de L_B initial après l'arrêt du traitement. Face à ces résultats très limités, il est difficile de déterminer l'impact propre des deux molécules. En revanche, le fait que les souris se soient rétablies rapidement tendrait à montrer que l'association n'est pas dangereuse.

Cette étude avait pour but d'évaluer la sécurité d'utilisation de l'association atacicept et mycophenolate mofetil de façon concomitante et surtout elle a pu servir de base aux designs des différentes études de la toxicologie complète de la molécule.

Sans toxicologie bien définie, il est impossible de prédire les risques d'une molécule. Il est très important de définir les études de toxicologie selon l'utilisation prévue du médicament chez l'homme. En effet, des associations de différents traitements étant courantes pour les maladies concernées, il est primordial de réaliser les études précliniques testant ces combinaisons. D'après les directives européennes (120), les études non cliniques évaluant les associations de traitements sont recommandées avant la mise en place d'essais à grande échelle et d'études cliniques à long terme, ainsi qu'avant la mise sur le marché. Particulièrement, quand plus de deux études cliniques de phase III sont prévues, les études précliniques de toxicité combinée sont fortement recommandées. La durée de l'étude de

combinaison doit être équivalente à la durée de l'essai clinique prévu jusqu'à un maximum de 90 jours.

En réalité, l'étude de la toxicologie complète d'atacept avec un autre immunosuppresseur ne s'est faite que parallèlement aux études LN1 et LN2. Plusieurs études ont été réalisées parmi lesquelles une association atacept et mycophenolate mofetil chez la souris pendant 5 ou 13 semaines (121). Les résultats qui ne furent disponibles qu'après l'arrêt des deux études, ont montré que la combinaison des deux molécules a diminué la concentration des lymphocytes B totaux de manière plus importante qu'atacept seul après 5 semaines de traitement. Après 13 semaines, la variabilité du taux de lymphocytes B était tellement importante que les résultats furent difficilement interprétables.

Une seule étude pilote associant atacept et cyclophosphamide pendant 4 semaines a été réalisée chez la souris. Bien que le traitement par atacept ou cyclophosphamide seul ait induit des réductions du nombre de L_B totaux, une diminution encore plus grande a été observée lorsque les deux traitements étaient combinés. L'association d'atacept et de cyclophosphamide a aussi entraîné une diminution plus importante des IgG dans le sérum comparée aux animaux traités par chacune des molécules seules. La co-administration des deux molécules a un effet synergique non négligeable sur la déléition des lymphocytes B le taux d'immunoglobuline.

Toutes les études ont été réalisées chez des animaux sains, et il serait raisonnable de continuer les études précliniques avec de telles associations ; ceci permettrait d'établir avec plus de précisions le profil du médicament avant la mise en place d'une étude de phase III.

Concernant l'évaluation d'atacept dans le lupus, il est certain que la société manquait de résultats d'études toxicologiques avant de débiter les essais chez l'homme. Les nouvelles thérapies associent très souvent différents immunosuppresseurs et/ou immunomodulateurs en même temps et doivent donc être utilisées et étudiées avec précaution, en prenant soin de mener toutes les études nécessaires, sans accélérer certaines étapes.

3. Le développement d'atacept dans le lupus était un programme ambitieux qui s'est retrouvé stoppé en un an. La troisième leçon que l'on peut tirer de cet échec est l'impact de l'arrêt d'une étude dans un programme de développement d'un médicament.

La stratégie initiale est très risquée : après seulement deux études dans le L.E.D., la compagnie a pris le risque de réaliser trois études de phases II/III. De plus, aucun patient atteint de néphropathie lupique n'avait été préalablement traité avant la mise en place de la LN1.

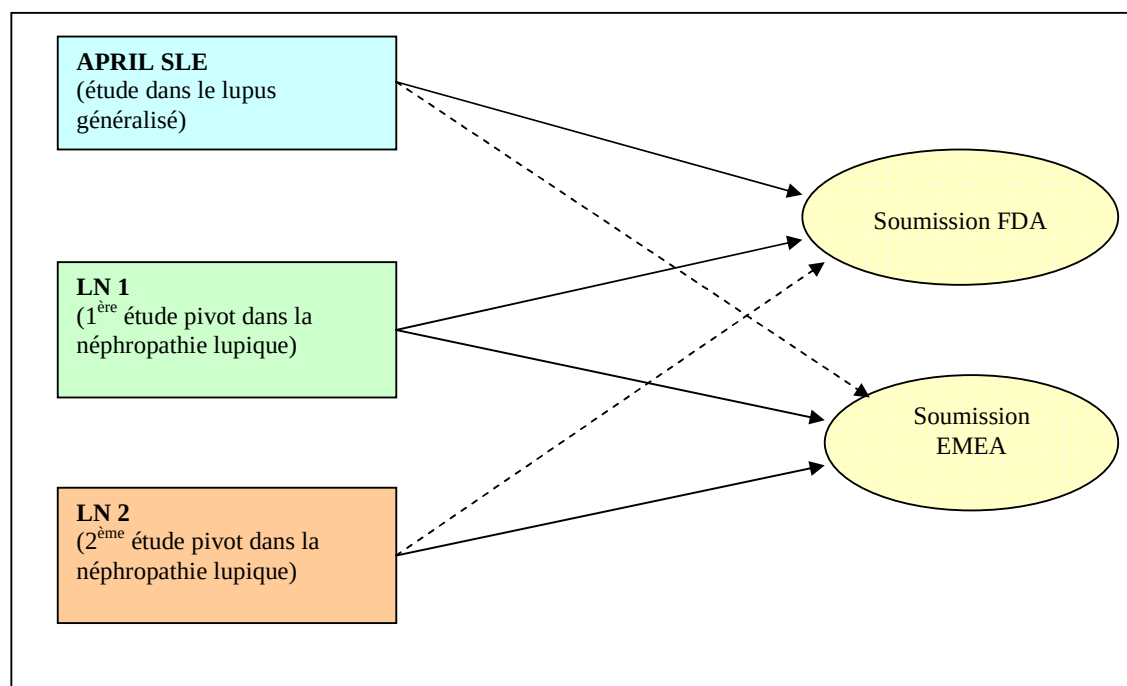


Figure 24 : stratégie de développement clinique pour la demande de mise sur le marché en Europe (EMA= European Medicines Agency) et aux Etats-Unis (FDA= Food and Drug Administration).

L'étude dans le L.E.D. généralisé et l'étude LN1 étaient prévues pour être la base de la soumission du dossier d'enregistrement aux Etats-Unis, avec l'étude LN2 en support. LN2 et LN1 constituaient le dossier d'enregistrement en Europe, l'étude SLE venant en soutien.

On peut aussi ajouter que le protocole LN1 répondait à toutes les demandes de la FDA puisque le protocole avait été revu et approuvé au cours d'une réunion appelée Special Protocol Assessment (SPA). Le SPA est un accord passé entre la FDA et l'entreprise pharmaceutique stipulant que la méthodologie, la taille de l'échantillon, les critères d'évaluation et le plan d'analyse des données de l'étude sont considérés comme acceptables par la FDA et pourraient permettre d'apporter les données nécessaires à une demande d'enregistrement du médicament. Mais cet accord n'est pas synonyme de réussite par la mise en place d'un design « parfait » : l'obtention du SPA n'est pas une garantie d'absence de risque ni pour la compagnie ni pour le produit et encore plus important, il n'est pas synonyme

d'absence de complications pour les patients. De la même façon, la seconde étude LN2 avait fait l'objet d'une discussion identique avec l'EMA ainsi qu'avec de nombreux experts et investigateurs afin d'aboutir à un protocole adapté à l'Union Européenne.

Quand la LN1 a été stoppée, l'enregistrement aux Etats-Unis n'était plus possible car l'étude APRIL-SLE seule ne suffisait pas à répondre aux demandes des autorités (figure 24). La décision d'arrêter ensuite LN2 va entraîner la révision de toute la stratégie d'enregistrement : deux études pivots sont nécessaires pour soumettre une demande de mise sur le marché.

Le développement dans le L.E.D. est techniquement très risqué car il n'existe pas de design précis d'essais cliniques qui donnent systématiquement des résultats satisfaisants dans le lupus, et encore moins dans la néphropathie lupique (échec du Cellcept® et du Rituxan®) : à l'heure actuelle aucune compagnie n'a réussi à développer de produit dans ce domaine. Il n'y a pas de modèle de développement, ni d'expérience positive : que ce soit par l'entreprise pharmaceutique ou les médecins, la prise en charge se fait encore « à tâtons ».

Un plan de développement clinique doit être réfléchi, cohérent et ne faire l'économie d'aucune étape. C'est en quelque sorte la fondation, la structure de base qui va permettre de déployer l'ensemble du programme clinique. Bâcler une étape, faire l'économie d'un essai, peut remettre en cause l'ensemble de l'édifice et conduire à l'échec du projet.

Concernant atacicept dans le lupus, tout est à reconstruire, c'est l'ensemble du plan de développement qui est à repenser. Trois solutions sont possibles :

- abandonner le développement du produit dans la néphropathie lupique, au risque que cette affection reste sans traitement et alors qu'atacicept pourrait être efficace,
- recommencer toutes les étapes des études cliniques en abordant le développement de façon plus progressive et en cherchant à résoudre les problèmes, notamment de tolérance, au fur et à mesure qu'ils se présentent, voire de les anticiper,
- revoir l'objectif de mise sur le marché et se concentrer uniquement sur le lupus généralisé (selon les résultats de l'étude dans le L.E.D. en cours).

3.3 Pourquoi est-il difficile de conduire une étude dans le lupus ?

Problèmes communs et solutions pour mettre en place une étude clinique dans le lupus.

Les designs des essais cliniques dans la néphropathie lupique sont très compliqués et de ce fait il est très difficile de comparer les études entre elles. Les problèmes rencontrés lors de la mise en place des études LN1 et LN2 ont été aussi rencontrés lors d'autres études. Et même si les nombreux essais réalisés n'ont pas permis d'obtenir un traitement approuvé, ils ont cependant apporté de nombreuses solutions sur la conduite d'essais dans le lupus.

Les problèmes rencontrés sont le plus souvent liés à :

- la stratification des populations à haut risque de néphropathie lupique,
- la comparaison du type de rémission de la maladie et/ou des critères de jugement,
- l'utilisation appropriée des traitements,
- l'interprétation de l'activité de la maladie,
- les indices d'activité de la maladie.

1. Les critères de sélection des patients doivent prendre en compte la population hétérogène atteinte de L.E.D. Etant donné la variabilité de l'expression de la maladie, et les différentes manifestations de la maladie, le protocole devra définir clairement le groupe de patients à recruter. En résumé (tableau 6), les critères d'éligibilités doivent être aussi large que le permet l'objectif de l'étude, tout en tenant compte de la grande diversité de la maladie et des patients (122).

1.	Définition de la maladie : Critères de classification du L.E.D. (ex : A.C.R.) Atteintes des organes (biopsie des reins en cas de néphropathie) Présence de biomarqueurs (anticorps anti-ADN)
2.	Temps depuis le diagnostic de la maladie
3.	Données démographiques (âge, sexe, ethnie)
4.	Activité de la maladie (index mesurant l'activité de la maladie)
5.	Sévérité de la maladie (échelles mesurant les atteintes des organes)
6.	Complications (syndrome antiphospholipides)
7.	Co-morbidités
8.	Traitements : Stéroïdes, antimalariques et immunosuppresseurs Anticoagulant, agent antiplaquettaires et inhibiteur de l'enzyme de conversion.

Tableau 6: critère d'éligibilité et caractéristiques initiale à prendre en compte lors d'un essai clinique dans le L.E.D.

2. Il est très difficile d'évaluer correctement les conclusions d'un essai clinique randomisé dans le lupus. Il s'agit d'une maladie cyclique touchant de nombreux organes, ce qui complique l'identification et la reproductibilité des critères de jugement (123).

I.	Activité de la maladie – exemples
1.	Indices d'activités : SLEDAI, SLAM, BILAG, ECLAM, SELENA, SLEDAI, SLAM-R
2.	Néphropathie active, définie par les analyses d'urine, la clairance à la créatinine, la protéinurie
3.	Les poussées d'exacerbation de la maladie
II.	Atteintes des organes
1.	Index A.C.R./SLICC
2.	I.R. stade terminal
3.	Taux de créatinine sérique doublé, augmentation de créatinine sérique de 50%
4.	Biopsie
III.	Qualité de vie
1.	SF-36

Tableau 7 : Recommandation OMERACT (124)

Il est clairement recommandé de mesurer (Tableau 7) l'activité de la maladie, les dommages portés aux organes, la qualité de vie, les effets indésirables et le coût des traitements par rapport aux bénéfices apportés :

- Index d'activité de la maladie :

- BILAG (British Isles Lupus Assessment Group) regroupant 87 items, couvrant la majorité des manifestations du lupus. Le score varie de A (maladie sévère) à E (absence de maladie).
- SLEDAI, (SLE Disease Activity Index) 24 items évaluant la maladie sur les 10 derniers jours, un score supérieur à 6 est cliniquement significatif.
- ECLAM, (European Consensus Lupus Activity Measurement) 12 catégories mesurant l'activité de la maladie dans le mois qui précède. Le score varie de 0 à 17.5.
- SLAM, (Systemic Lupus Activity Measure) 30 items mesurant l'activité du mois qui précède.

Leur utilisation reste limitée (critères secondaires) dans les essais randomisés, car ils ne rendent pas compte de la sévérité de la maladie.

- Mesure des atteintes des organes :

- Index SLICC/A.C.R. (Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology): 31 items permettant d'évaluer les séquelles de la maladie au cours du temps sans préjuger de leur cause. Le score va de 0 à 48 points, mais le résultat est souvent difficile à interpréter.
- Poussée rénale et/ou amélioration de la fonction rénale : doublement du taux de créatinine, dialyse ou transplantation pouvant prédire une insuffisance rénale chronique.

- Qualité de vie :

- SF-36 : validé et sensible, il détermine le point de vue des patients sur leur propre état de santé.
- D'autres questionnaires pourraient être utilisés. Récemment, un questionnaire spécifique a été développé, le SSC (SLE Symptom Checklist), mais il n'est pas encore utilisé dans les essais cliniques.

- Evaluation générale de la maladie :
 - Les mesures de l'activité de la maladie par le patient et le médecin peuvent différer d'une personne à l'autre.
 - nombre de poussées : intéressant pour comparer les patients et déterminer un nombre de poussées pour lequel le patient doit sortir de l'étude. Mais les poussées « générales » sont difficilement identifiables du fait de leur hétérogénéité, contrairement aux poussées spécifique d'un organe, plus clairement définies.

I. Poussées Rénales (« Flare ») (125)
1. Augmentation répétée des valeurs initiales de la protéinurie à 24h. 2. Augmentation répétée des valeurs initiales de la créatinine sérique de plus de 20% ou dépassant le taux de 0,3 mg/dl, accompagnée de protéinurie (>1 g/jour), hématurie. 3. Hématurie répétée nouvelle, ou augmentation de l'hématurie de 2 grades comparée au grade initiale.
II. Traitement de l'I.R. (32)
1. Absence de réponse primaire 2. poussées résistantes aux glucocorticoïdes
III. Rémission rénale complète (126)
Protéinurie <0,3 g/jour, avec des sédiments urinaire normaux, un taux d'albumine sérique normal et les valeurs de créatinine sérique et de clairance à la créatinine dans les 15% des valeurs initiales.

Tableau 8 : exemples de critères de jugement utilisé dans certains essais dans les pathologies rénales.

Pour faciliter le développement des traitements futurs, des marqueurs de réponse au traitement ayant une corrélation avec les critères de jugement clinique à long terme ont été définis. Les biomarqueurs pourraient être capables d'identifier une population de patients ayant une maladie active et qui pourraient être de meilleurs « répondeurs » à un type de traitement. Il est intéressant d'explorer quels biomarqueurs pourraient devenir des marqueurs de réponse clinique. Des études ont montré que l'augmentation du taux d'Ac anti-ADNdb peut être utilisée pour initier de façon préventive un traitement qui diminue les poussées, et ce

marqueur serait plus sensible que la mesure du taux de C3 ou C4 pour prédire les exacerbations de la maladie (127).

3. Les traitements concomitants, même stables durant la durée de l'étude, peuvent entraîner des interactions dans l'effet du traitement et donc une confusion lors de l'analyse des résultats (123).

Les patients atteints de L.E.D. ont rarement un seul organe atteint et les designs des essais doivent anticiper les changements nécessaires de traitement en cas de nouvelles manifestations. Le protocole doit aussi définir les changements de traitements concomitants, et l'exclusion des patients de l'étude s'ils prennent des médicaments interdits par le protocole.

La définition d'une augmentation de l'activité de la maladie, d'une poussée et l'autorisation de prendre certains traitements concomitants doit être établie à priori et strictement suivie pendant la conduite de l'étude.

On tient compte tout particulièrement des inhibiteurs de l'enzyme de conversion qui ont une action sur les fonctions rénales et la protéinurie, mais aussi des corticostéroïdes. La plupart des études autorise l'utilisation de corticostéroïdes de manière concomitante au traitement testé et ceci malgré le biais possible lors de l'analyse (128). En effet, l'augmentation de la dose pourrait être liée à une absence de réponse au médicament testé. C'est pour cela qu'il est important de définir les changements de dose dans le protocole.

Il est aussi conseillé de déterminer un traitement de secours qui sera administré en cas d'échec du premier traitement.

CONCLUSION

Le lupus érythémateux disséminé est une maladie inflammatoire chronique rattachée au groupe des maladies auto-immunes. Les manifestations cliniques de cette maladie sont extrêmement variées et peuvent se présenter sous forme d'atteintes de la peau, des reins, des articulations, des poumons voire du système nerveux. La prévalence du L.E.D. dans le monde est très difficile à évaluer ; en France on estime le nombre de cas entre 20 000 et 40 000 (129), il touche principalement les femmes âgées de 15 à 45 ans. C'est une affection encore difficile à diagnostiquer car les premiers symptômes sont très peu spécifiques (fatigue, douleur articulaire et fièvre modérée). Le pronostic de la maladie varie énormément d'un patient à l'autre et est fortement dépendant de la prise en charge thérapeutique. Au final, le décès résulte moins de la maladie en elle-même que de ses complications. Ainsi, un patient atteint de L.E.D. peut aussi bien décéder d'insuffisance rénale, d'infections, d'atteinte du système nerveux central, que d'embolies ou d'autres complications cardiovasculaires. Parmi toutes ces complications, l'atteinte rénale reste la plus fréquente et est malheureusement aussi l'une des plus sévères avec un taux de survie encore faible : 60% de survie à 20 ans chez le patient atteint de L.E.D. avec manifestations rénales contre 82% en leur absence (130). Les traitements actuellement disponibles contre la néphropathie lupique se limitent aux glucocorticoïdes et aux immunosuppresseurs et cela fait plus de 50 ans qu'aucun médicament innovant n'a été approuvé spécifiquement pour cette pathologie, ni même d'ailleurs pour le lupus généralisé (131). Ce manque cruel de solutions thérapeutiques est la principale raison qui a poussé Merck Serono à étudier Atacicept dans cette maladie.

Atacicept cible à la fois BLyS et APRIL, deux cytokines faisant partie de la superfamille des TNF. La molécule agit à différents stades du développement des lymphocytes B, son action immunomodulatrice étant basée sur la diminution du taux circulant de lymphocytes B matures. Or, comme ces mêmes lymphocytes B sont impliqués dans de nombreuses pathologies, atacicept présente un potentiel thérapeutique très large. C'est ce qui a motivé Merck-Serono à lancer un programme de développement ambitieux qui comprenait de nombreuses indications comme le lupus érythémateux disséminé, la néphropathie lupique, la polyarthrite rhumatoïde et la sclérose en plaques, ainsi que des hémopathies à L_B.

A l'heure actuelle, plus de mille patients ont été randomisés dans les essais de phases II/III de ce programme. Cependant, au cours de la mise en place de ces études cliniques, plusieurs problèmes de tolérance sont apparus et certains essais ont été stoppés prématurément : des huit études initiées au lancement du programme seules quatre sont encore en cours.

Afin de mieux appréhender le profil bénéfice/risque de la molécule, il est important de bien comprendre les tenants et les aboutissants de ces abandons prématurés

L'objectif principal d'un essai clinique est d'établir le rapport bénéfice/risque du nouveau traitement testé en évaluant son efficacité et sa tolérance tout en précisant les conditions optimales de son emploi. Afin d'obtenir des données fiables, la mise en place d'un programme de développement clinique doit suivre une méthodologie rigoureuse et reproductible. La qualité des données récoltées, indispensables à l'évaluation de l'efficacité et de la sécurité du traitement testé, dépend donc entièrement du respect de ces conditions.

Or, dans la néphropathie lupique, il est difficile de suivre une méthodologie parfaitement reproductible. Cela est dû à la difficulté à définir l'état d'avancement de la maladie dans la population testée. En effet, l'expression de la maladie varie énormément d'un sujet à l'autre et il est très ardu de définir avec précision à quel stade de sa maladie se trouve le patient atteint de néphropathie lupique. Il est donc presque impossible de définir de façon reproductible des critères de jugement purement cliniques pour ces essais, ce sont donc souvent des critères de substitution qui sont utilisés.

En outre, il est délicat d'analyser l'effet du médicament testé puisque les protocoles associent de nombreux traitements concomitants (comme les stéroïdes) pouvant interagir entre eux.

En ce qui concerne atacicept, son évaluation dans la néphropathie lupique a rapidement été arrêtée pour des problèmes de tolérance. Plusieurs raisons expliquant l'arrêt prématuré de ces essais ont été mises en avant. La première est liée à la nature de la molécule elle-même, comme la majorité des immunosuppresseurs, c'est une molécule complexe dont l'action est peu prévisible chez l'homme. Ensuite, la faiblesse des données récoltées lors des études de toxicologie n'a pas permis de supporter la complexité du protocole qui associait plusieurs traitements.

Pour éviter ces écueils, des experts de la néphropathie lupique ont publié des recommandations définissant précisément les critères de jugements, les traitements à associer, la population à traiter et bien d'autres paramètres. Mais au final, ces guidelines sont si complexes qu'il est difficile de s'y retrouver.

Malgré toutes ces difficultés, les recherches continuent afin d'améliorer la prise en charge la néphropathie lupique (68). Ainsi selon *clinicaltrial.gov*, 18 études de phase I à III

impliquant des molécules aussi diverses que M.M.F., Abatacept, Tacrolimus, Etanercept ou Rituximab évaluent leur efficacité aussi bien en phase d'induction qu'en phase d'entretien. D'autres chercheurs, eux, focalisent leurs travaux sur le cyclophosphamide au travers d'études observationnelles. A ces approches purement médicamenteuses s'ajoutent de nombreuses études sur l'implantation de cellule souches.

Récemment lors d'une seconde étude clinique de phase III, un anticorps monoclonal, dirigé spécifiquement contre la cytokine BLYS, le belimumab (aussi connu sous le nom de lymphostat-B), a montré qu'il était capable d'améliorer significativement 2 indices d'activité du lupus érythémateux disséminé, le SLEDAI et le SELENA (132). Cet anticorps, qui a un mécanisme d'action très similaire à ataccept, est la première molécule d'une nouvelle classe thérapeutique, les inhibiteurs de BLYS, qui a montré une efficacité prometteuse dans le lupus généralisé. Il reste à confirmer cette efficacité pour ataccept dans le LED et dans la néphropathie lupique pour que nous puissions dire que cette nouvelle classe a le potentiel pour révolutionner la prise en charge de ces pathologies.

Les approches sont multiples mais le but est unique : mettre à disposition du corps médical des solutions pour la prise en charge d'une maladie, le L.E.D., qui aujourd'hui manque terriblement de traitement. Néanmoins, comme nous l'avons montré, aucun manque thérapeutique, aussi cruel soit-il, ne peut justifier une quelconque remise en cause de la rigueur méthodologique à apporter aux évaluations cliniques. C'est le caractère irréprochable de la méthodologie d'un essai clinique qui lui confère son aptitude à démontrer le bien fondé d'une nouvelle solution thérapeutique.

ANNEXES

ANNEXE I

CRITERE DE CLASSIFICATION DU LUPUS ERYTHEMATEUX DISSEMINE DE L'ACR (AMERICAN COLLEGE OF RHUMATHOLOGIE)

Critères mis à jour en 1997 (1^{ère} publication en 1982) en anglais (133). Ces critères sont particulièrement utilisés dans les essais cliniques où il est dit qu'une personne est atteinte d'un lupus si elle présente au moins quatre de ces onze critères.

The 1997 Update of the 1982 American College of Rheumatology Revised Criteria for
Classification of Systemic Lupus Erythematosus

Criterion	Definition
1. Malar Rash	Fixed erythema, flat or raised, over the malar eminences, tending to spare the nasolabial folds
2. Discoid rash	Erythematous raised patches with adherent keratotic scaling and follicular plugging; atrophic scarring may occur in older lesions
3. Photosensitivity	Skin rash as a result of unusual reaction to sunlight, by patient history or physician observation
4. Oral ulcers	Oral or nasopharyngeal ulceration, usually painless, observed by physician
5. Nonerosive Arthritis	Involving 2 or more peripheral joints, characterized by tenderness, swelling, or effusion
6. Pleuritis or Pericarditis	a) Pleuritis--convincing history of pleuritic pain or rubbing heard by a physician or evidence of pleural effusion OR b) Pericarditis--documented by electrocardiogram or rub or evidence of pericardial effusion
7. Renal Disorder	a) Persistent proteinuria > 0.5 grams per day or > than 3+ if quantitation not performed OR b) Cellular casts--may be red cell, hemoglobin, granular, tubular, or mixed
8. Neurologic Disorder	a) Seizures--in the absence of offending drugs or known metabolic derangements; e.g., uremia, ketoacidosis, or electrolyte imbalance OR b) Psychosis--in the absence of offending drugs or known metabolic derangements, e.g., uremia, ketoacidosis, or electrolyte imbalance
9. Hematologic Disorder	a) Hemolytic anemia--with reticulocytosis OR b) Leukopenia--< 4,000/mm ³ on ≥ 2 occasions OR c) Lymphopenia--< 1,500/ mm ³ on ≥ 2 occasions OR d) Thrombocytopenia--<100,000/ mm ³ in the absence of offending drugs
10. Immunologic Disorder	a) Anti-DNA: antibody to native DNA in abnormal titer OR b) Anti-Sm: presence of antibody to Sm nuclear antigen OR c) Positive finding of antiphospholipid antibodies on: 1. an abnormal serum level of IgG or IgM anticardiolipin antibodies, 2. a positive test result for lupus anticoagulant using a standard method, or 3. a false-positive test result for at least 6 months confirmed by Treponema pallidum immobilization or fluorescent treponemal antibody absorption test
11. Positive Antinuclear Antibody	An abnormal titer of antinuclear antibody by immunofluorescence or an

ANNEXE II

CLASSIFICATION DES NEPHROPATHIES LUPIQUES SELON LA SOCIETE INTERNATIONALE DE NEPHROLOGIE ISN/RPS (INTERNATIONAL SOCIETY OF NEPHROLOGY/RENAL PATHOLOGY SOCIETY)

Classification des néphropathies lupiques datant de 2003 (en anglais). (134)

**INTERNATIONAL SOCIETY OF NEPHROLOGY/RENAL PATHOLOGY SOCIETY
(ISN/RPS) 2003 CLASSIFICATION OF LUPUS NEPHRITIS**

Class I Minimal mesangial lupus nephritis	Light microscopy findings	Normal.
	Immunofluorescence electron microscopy findings	Mesangial immune deposits.
	Clinical manifestations	Mild proteinuria.
Class II Mesangial proliferative lupus nephritis	Light microscopy findings	Purely mesangial hypercellularity or mesangial matrix expansion with mesangial immune deposits.
	Immunofluorescence electron microscopy findings	Mesangial immune deposits; few immune deposits in subepithelial or subendothelial deposits possible.
	Clinical manifestations	These patients have mild renal disease such as asymptomatic hematuria or proteinuria that usually does not warrant specific therapy.
Class III Focal lupus nephritis Class III (A) Active lesions: focal proliferative lupus nephritis Class III (A/C) Active and chronic lesions: focal proliferative and sclerosing lupus nephritis Class III (C) Chronic inactive lesions: focal sclerosing lupus nephritis	Light microscopy findings	Active or inactive focal, segmental, or global glomerulonephritis involving <50% of all glomeruli.
	Immunofluorescence electron microscopy findings	Subendothelial and mesangial immune deposits.
	Clinical manifestations	Many patients present with active generalized SLE and mild-to-moderate renal disease with hematuria and moderate proteinuria; significant minority show worsening renal function and may progress to class IV lupus nephritis.

(suite à la page suivante)

Class IV Diffuse lupus nephritis Class IV-S (A) Active lesions: Diffuse segmental proliferative lupus nephritis Class IV-G (A) Active lesions: Diffuse global proliferative lupus nephritis Class IV-S (A/C) Active and chronic lesions: diffuse global proliferative and sclerosing lupus nephritis Class IV-S (C) Chronic inactive lesions: diffuse segmental sclerosing lupus nephritis Class IV-G (C) Chronic inactive lesions: Diffuse global sclerosing lupus nephritis	Light microscopy findings	Active or inactive diffuse, segmental or global glomerulonephritis involving $\geq 50\%$ of all glomeruli; subdivided into diffuse segmental (class IV-S) when $\geq 50\%$ of involved glomeruli have segmental lesions (involving less than half of glomerular tuft) and diffuse global (class IV-G) when $\geq 50\%$ of involved glomeruli have global lesions.
	Immunofluorescence electron microscopy findings	Subendothelial immune deposits.
	Clinical manifestations	These patients usually present with clinical evidence of renal disease including hypertension, edema, active urinary sediment, worsening renal function, and nephrotic range proteinuria is present; these patients often have active extrarenal SLE.
Class V Membranous lupus nephritis	Light microscopy findings	Diffuse thickening of glomerular basement membrane without inflammatory infiltrate; possibly, subepithelial deposits and surrounding basement membrane spikes on special stains, including silver and trichrome; may occur in combination with class II or IV; may show advanced sclerosis.
	Immunofluorescence electron microscopy findings	Subepithelial and intramembranous immune deposits; subendothelial deposits present only when associated proliferative component is present.
	Clinical manifestations	These patients have clinical and laboratory features of nephrotic syndrome, usually without manifestations of active SLE.
Class VI Advanced sclerosis lupus nephritis	Light microscopy findings	Advanced glomerular sclerosis involving $\geq 90\%$ of glomeruli, interstitial fibrosis, and tubular atrophy, all morphological manifestations of irreversible renal injury.
	Clinical manifestations	These patients usually have significant renal insufficiency or end-stage renal disease and are unlikely to respond to medical therapy.

ANNEXE III

INDEX D'ACTIVITE DE LA MALADIE BILAG (BRITISH ISLES LUPUS ASSESSMENT GOUP)

Signes et symptômes évalués par l'index BILAG mis à jour en 2004 (en anglais). (135)

BILAG ASSESSMENT FORM Version 4			
Patient ID	Patient Name	Date Of Birth	
Clinic	Assessed By	Assessment Date	
SCORES: 1 = IMPROVING ; 2 = SAME ; 3= WORSE ; 4 = NEW			
GENERAL		CARDIOVASCULAR + RESPIRATORY	
1. Pyrexia (documented)		48. Pleuropericardial pain	
2. Weight loss - unintentional >5%		49. Dyspnoea	
3. Lymphadenopathy/splenomegaly		50. Cardiac failure	
4. Fatigue/malaise/lethargy		51. Friction rub	
5. Anorexia/nausea/vomiting		52. Effusion (pericardial or pleural)	
MUCOCUTANEOUS		53. Mild or intermittent chest pain	
6. Maculopapular eruption - severe, active (or discoid/bullous)		54. Progressive cxr changes-lung fields	Y/N
7. Maculopapular eruption – mild		55. Progressive cxr changes-heart size	Y/N
8. Active discoid lesions - generalised/extensive		56. ECG evidence of pericarditis or myocarditis	Y/N
9. Active discoid lesions localised includes lupus profundus		57. Cardiac arrhythmias incl. tachycardia >100, no fever	Y/N
10. Alopecia (severe, active)		58. Pulmonary function fall by >20%	Y/N
11. Alopecia (mild)		59. Cytohistological evidence of inflammatory lung disease	Y/N
12. Panniculitis (severe)			
13. Angio-oedema		VASCULITIS	
14. Extensive mucosal ulceration		60. Major cutaneous vasculitis incl.ulcers	
MUCOCUTANEOUS (continued)		VASCULITIS (continued)	
15. Small mucosal ulcers		61. Major abdominal crisis due to vasculitis	

BILAG ASSESSMENT FORM Version 4			
Patient ID	Patient Name	Date Of Birth	
Clinic	Assessed By	Assessment Date	
SCORES: 1 = IMPROVING ; 2 = SAME ; 3= WORSE ; 4 = NEW			
16. Malar erythema		62. Recurrent thromboembolism (excluding strokes)	
17. Subcutaneous nodules		63. Raynaud's	
18. Perniotic skin lesions		64. Livedo reticularis	
19. Peri-ungual erythema		65. Superficial phlebitis	
20. Swollen fingers	Y/N	66. Minor cutaneous vasculitis	
21. Sclerodactyly	Y/N	(nailfold vasculitis, digital vasculitis, purpura, urticaria)	
22. Calcinosis	Y/N	67. Thromboembolism (excl. stroke) - 1st episode	Y/N
23. Telangiectasia	Y/N		
NEUROLOGICAL		RENAL	
24. Deteriorating level of consciousness		68. Systolic blood pressure mmHg	value
25. Acute psychosis, delirium, confused state		69. Diastolic blood pressure (5th phase) mmHg	value
26. Seizures		69a. High Blood Pressure Due to Lupus	Y/N
27. Stroke or stroke syndrome		70. Accelerated hypertension	Y/N
28. Aseptic meningitis		71. Dipstick (- = 0, + = 1, ++ = 2, +++ = 3, ++++=4)	value

BILAG ASSESSMENT FORM Version 4			
Patient ID	Patient Name	Date Of Birth	
Clinic	Assessed By	Assessment Date	
SCORES: 1 = IMPROVING ; 2 = SAME ; 3= WORSE ; 4 = NEW			
NEUROLOGICAL (continued)		RENAL (continued)	
29. Mononeuritis multiplex		72. Protein-Creatinine Ratio (mg/mmol)	value
30. Ascending or transverse myelitis		73. Newly documented Protein:Creatinine ratio >100	Y/N
31. Peripheral or cranial neuropathy		74. Nephrotic syndrome	Y/N
32. Disc swelling/cytoid bodies		75. Serum Creatinine (μmol/L)	value
33. Chorea		76. GFR mL/min/1.73m ²	value
34. Cerebellar ataxia		77. Active urinary sediment	Y/N
35. Headache severe, unremitting		78. Histological evidence of active nephritis - within 3 months	Y/N
36. Organic depressive illness			
37. Organic brain syndrome incl. pseudotumor cerebri		HAEMATOLOGY	
38. Episodic migrainous headaches		79. Haemoglobin g/dL	value
		80. Total white cell count x 10 ⁹ /L	value
MUSCULOSKELETAL		81. Neutrophils x 10 ⁹ /L	value
39. Definite myositis (Bohan & Peter)		82. Lymphocytes x 10 ⁹ /L	value
40. Severe polyarthritis - with loss of function		83. Platelets x 10 ⁹ /L	value
41. Arthritis		84. Evidence of active haemolysis	Y/N
MUSCULOSKELETAL (continued)		HAEMATOLOGY (continued)	
42. Tendonitis		85. Coombs Test Positive	Y/N

BILAG ASSESSMENT FORM Version 4				
Patient ID	Patient Name	Date Of Birth		
Clinic	Assessed By	Assessment Date		
SCORES: 1 = IMPROVING ; 2 = SAME ; 3= WORSE ; 4 = NEW				
43. Mild chronic myositis			86. Evidence of circulating lupus anticoagulant or phospholipid Y/N	
44. Arthralgia				
45. Myalgia				
46. Tendon contractures and fixed deformity Y/N				
47. Aseptic necrosis Y/N				

ANNEXE IV

INDEX MESURANT LES ATTEINTES CLINIQUES DANS LE LUPUS – SLICC (SYSTEMIC LUPUS INTERNATIONAL COLLABORATING CLINICS).

L'index SLICC évalue les atteintes viscérales du Lupus, particulièrement les poumons et les reins (en anglais). (136)

**Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology
Damage Index for Systemic Lupus Erythematosus***

Item	Score
Ocular (either eye, by clinical assessment)	
Any cataract ever	1
Retinal change or optic atrophy	1
Neuropsychiatric	
Cognitive impairment (e.g. memory deficit, difficulty with calculation, poor concentration, difficulty in spoken or written language, impaired performance levels) or major psychosis	1
Seizures requiring therapy for 6 months	1
Cerebrovascular accident ever (score 2 if >1)	1 (2)
Cranial or peripheral neuropathy (excluding optic)	1
Transverse myelitis	1
Renal	
Estimated or measured glomerular filtration rate <50%	1
Proteinuria ≥3.5 gm/24 hours	1
or	
End-stage renal disease (regardless of dialysis or transplantation)	3
Pulmonary	
Pulmonary hypertension (right ventricular prominence, or loud P2)	1
Pulmonary fibrosis (physical and radiograph)	1
Shrinking lung (radiograph)	1
Pleural fibrosis (radiograph)	1
Pulmonary infarction (radiograph)	1
Cardiovascular	
Angina or coronary artery bypass	1
Myocardial infarction ever (score 2 if >1)	1 (2)
Cardiomyopathy (ventricular dysfunction)	1
Valvular disease (diastolic murmur, or systolic murmur >3/6)	1
Pericarditis for 6 months, or pericardiectomy	1
Peripheral vascular	
Claudication for 6 months	1
Minor tissue loss (pulp space)	1
Significant tissue loss ever (e.g. loss of digit or limb)(score 2 if >1 site)	1 (2)
Venous thrombosis with swelling, ulceration, or venous stasis	1

(suite à la page suivante)

Item	Score
<i>Gastrointestinal</i>	
Infarction or resection of bowel below duodenum, spleen, liver, or gall bladder ever, for any cause (score 2 if >1 site)	1 (2)
Mesenteric insufficiency	1
Chronic peritonitis	1
Stricture or upper gastrointestinal tract surgery ever	1
<i>Musculoskeletal</i>	
Muscle atrophy or weakness	1
Deforming or erosive arthritis (including reducible deformities, excluding avascular necrosis)	1
Osteoporosis with fracture or vertebral collapse (excluding avascular necrosis)	1
Avascular necrosis (score 2 if >1)	1 (2)
Osteomyelitis	1
<i>Skin</i>	
Scarring chronic alopecia	1
Extensive scarring or panniculum other than scalp and pulp space	1
Skin ulceration (excluding thrombosis) for >6 months	1
Premature gonadal failure	1
Diabetes (regardless of treatment)	1
Malignancy (exclude dysplasia) (score 2 if >1 site)	1 (2)

*Damage (nonreversible change, not related to active inflammation) occurring since onset of lupus, ascertained by clinical assessment and present for at least **6 months** unless otherwise stated. Repeat episodes must occur 6 months apart to score 2. The same lesion cannot be scored twice.

ANNEXE V

SCHEMA DES VISITES ET DES EVALUATIONS AU COURS DE L'ESSAI LN2

SCHEDULE OF TRIAL ASSESSMENTS

Screening and Study Day 1 (Randomisation)

	Screening Visit	Study Day 1
Informed Consent	X	
Randomisation (within 24 h before first IMP)		X
Corticosteroids¹	X	X
Cyclophosphamide		X
Azathioprine		
IMP Injection		X
Demographic data	X	
Medical and disease history/medication/surgery/procedures	X	
Documentation of SLE diagnosis and ACR criteria	X	
Chest X-ray	X ²	
Tuberculin skin test	X ³	
Physical examination	X	X
Vital signs, including weight (and height at Study Day 1)	X	X
12-lead ECG	X	
BILAG		X
SLICC		X
Laboratory Assessments		
Haematology	X	X
Blood chemistry	X	X
Direct Coombs analysis		X
Coagulation	X	X
Urinalysis/protein:creatinine ratio	X	X
24-hour urine protein	X	X
Urine sediment	X	X
Serum virology (HBsAg, HCV and HIV)	X	
Serum pregnancy test	X ⁴	
Urine pregnancy test		X ⁴
Antibodies to atacicept (BAb, NAb)		X
Pre-treatment renal biopsy	X ⁵	
Pharmacokinetics		
Free atacicept		X
Total atacicept		X
Composite Atacicept		X
Pharmacodynamics		
Free APRIL		X
Free BLyS		X
ESR	X	X
CRP	X	X
IgG	X	X
Total immunoglobulin, IgM, IgA		X
C3, C4		X
ANAs and anti-dsDNA antibodies	X	X
Anti-Sm, anti-RNP, anti-Ro, anti-La, RF		X
Anti-cardiolipin, Lupus anticoagulant		X
Samples for flow cytometry analysis		X
Pharmacogenomics		
Genotyping		X ⁶

	Screening Visit	Study Day 1
Gene expression profiling		X ⁶
HRQL, HRU		
SF-36		X
KFSS		X
HRU		X
Safety		
Concomitant meds & procedures	X	X
Adverse events	X	X

1 High-dose corticosteroids (up to 35 mg/day prednisolone or equivalent) are to be started by the time of the Screening visit. In addition, three daily IV pulses of 750 mg methylprednisolone will be given starting on Study Day 1 (this treatment may be started during the screening period if deemed clinically necessary.)

2 If no chest X-ray is available from within 3 months before screening (and if allowed by local guidelines and regulations).

3 If required by national or local guidelines for tuberculosis screening.

4 For women of childbearing potential or who are postmenopausal for less than 2 years.

5 Results of a renal biopsy performed within 3 months before screening must be available to establish that the subject has ISN/RPS Class III or IV (A or A/C) LN. If no biopsy is available from this period, a biopsy must be performed at the time of screening.

6 In consenting subjects only; to be analysed at a later date if trial shows efficacy.

Schedule of Assessments: Treatment and Follow-up Periods

Schedule begins on following page; footnotes are listed following the table.	Loading Period		Maintenance Period														Follow-Up			
Week	2	4	6	8	10	12	16	20	24	28	32	36	40	44	48	52 or EOT	4 & 12 weeks post last dose	24 weeks post last dose		
Study Day	15	29	43	57	71	85	113	141	169	197	225	253	281	309	337	365	393 and 449	533		
Corticosteroids ¹	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
Cyclophosphamide ²	X	X	X	X	X															
Azathioprine ²						Daily from week 12														
IMP Injection	Twice Weekly (BIW)		Once Weekly (QW)																	
Physical examination				X					X				X			X		X		
Vital signs, including weight (also height at week 52)	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
12-lead ECG																X				
BILAG		X		X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X				
SLICC Damage																X				
Laboratory Assessments																				
Haematology	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
Coagulation		X		X					X			X				X				
Coombs test		X		X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X				
Blood chemistry	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
Urinalysis/protein:creatinine ratio	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
24-hr urine protein																X				
Urine Sediment		X		X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X (4 wk)			
Urine pregnancy test ³		X		X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
Antibodies to atacicept (BAb, NAb)																X				

	Loading Period		Maintenance Period														Follow Up	
Week	2	4	6	8	10	12	16	20	24	28	32	36	40	44	48	52 or EOT	4 & 12 weeks post last dose	24 weeks post last dose
Study Day	15	29	43	57	71	85	113	141	169	197	225	253	281	309	337	365	393 and 449	533
Pharmacokinetics																		
Free Atacicept		X		X					X							X	X (12 wk)	
Total atacicept		X		X					X							X	X (12 wk)	
Composite atacicept		X		X					X							X	X (12 wk)	
Pharmacodynamics																		
ESR		X		X					X							X		
CRP	X	X		X					X				X			X		
IgG	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Total immunoglobulin, IgM, IgA	X	X		X		X			X				X			X	X	X
C3, C4	X			X					X				X			X		
ANAs and anti-ds-DNA antibodies	X	X		X					X				X			X		
Anti-Sm,anti-RNP,anti-Ro, anti-La, RF		X							X							X		
Anti-cardiolipin, lupus anticoagulant	X	X		X		X			X				X			X		
Samples for Flow Cytometry		X		X		X			X							X	X (12 wk)	X
Pharmacogenomics⁴																		
Gene expression profiling																X		
Health-Related QOL and HRU																		
SF-36, KFSS				X					X			X				X		
HRU	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		

	Loading Period		Maintenance Period														Follow Up	
Week	2	4	6	8	10	12	16	20	24	28	32	36	40	44	48	52 or EOT	4 & 12 weeks post last dose	24 weeks post last dose
Study Day	15	29	43	57	71	85	113	141	169	197	225	253	281	309	337	365	393 and 449	533
Concomitant meds & procedures	Continuous throughout trial																	
Local injection & tolerability	Continuous throughout trial																	
Adverse events	Continuous throughout trial																	

1 High-dose corticosteroids (up to 35 mg/day prednisolone or equivalent) are given during screening and for the first 2 weeks of the treatment period, and then tapered until 10 mg/day is reached at Week 24. In addition, three daily IV pulses of 750 mg methylprednisolone will be given starting on Study Day 1 (this treatment may be started during the screening period if deemed clinically necessary). The subject must come to the clinic on Days 2 and 3 for administration of these pulses.

2 CY will be administered IV every 2 weeks in 6 pulses at a fixed dose of 500 mg. AZA will be started at Week 12, 2 weeks after the last CY injection, and will continue through the follow-up period; subjects must attend clinic at Week 12 when AZA treatment is initiated.

3 For women of childbearing potential or who are postmenopausal for less than 2 years; additional serum or urine tests may be performed as indicated.

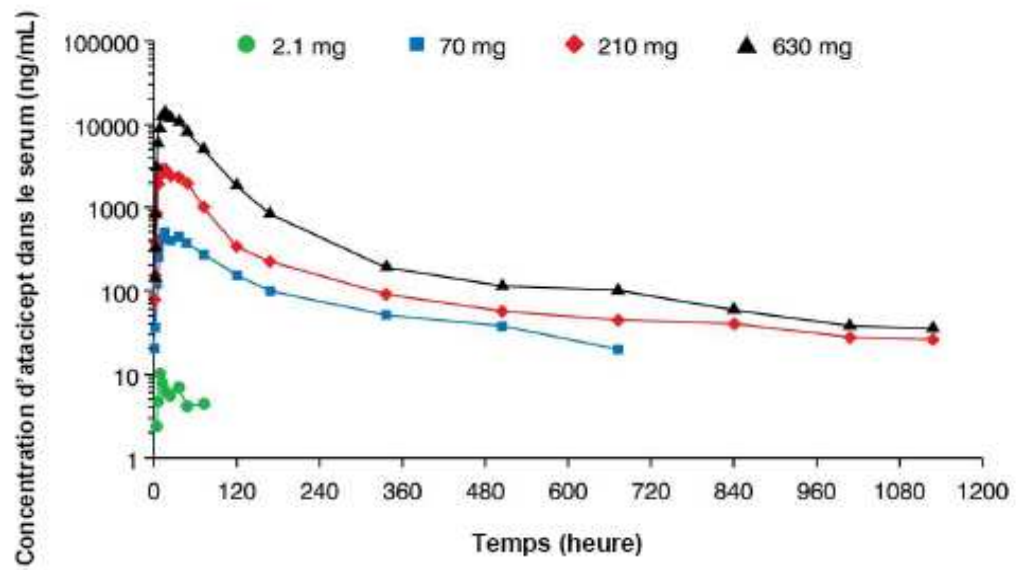
4 Upon subject consent; to be analysed at a later date if trial shows efficacy.

ANNEXE VI

PHARMACOCINETIQUE D'ATACICEPT ADMINISTRE DANS LES DIFFERENTES INDICATIONS DE PHASE I :

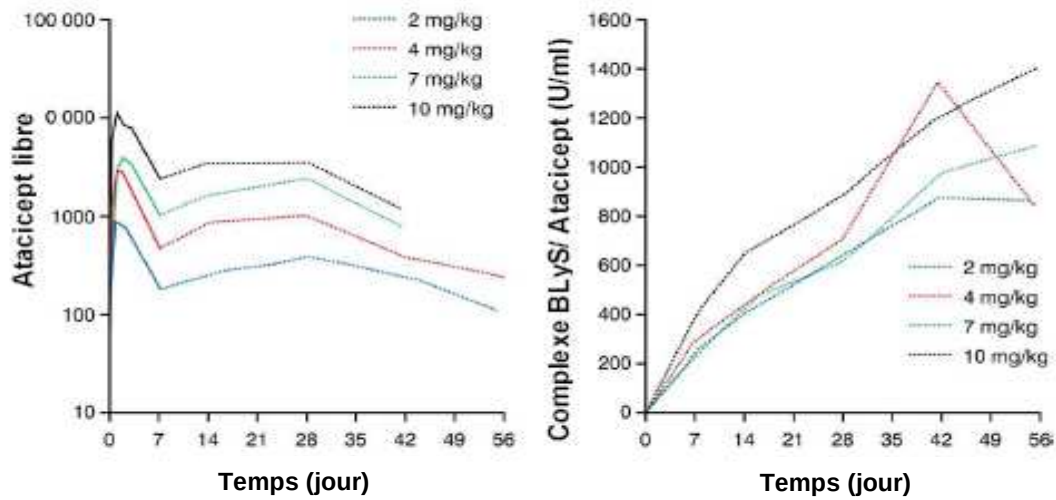
- chez le volontaire sain,
- chez les patients atteints de lymphome malin non hodgkinien,
- chez les patients atteints de myélome multiple ou de macroglobulinémie de Waldenström,
- chez les patients atteints de polyarthrite rhumatoïde,
- chez les patients atteints de lupus érythémateux disséminé,

Phase I chez le volontaire sain



Profil pharmacocinétique d'atacept administré en sous cutané chez le volontaire sain

Etude de phase I dans les lymphomes malins non hodgkiniens



Profil pharmacocinétique d'atacicept administré en sous-cutané chez les patients atteints de lymphome

Etude de phase I dans le myélome multiple et la macroglobulinémie de Waldenström

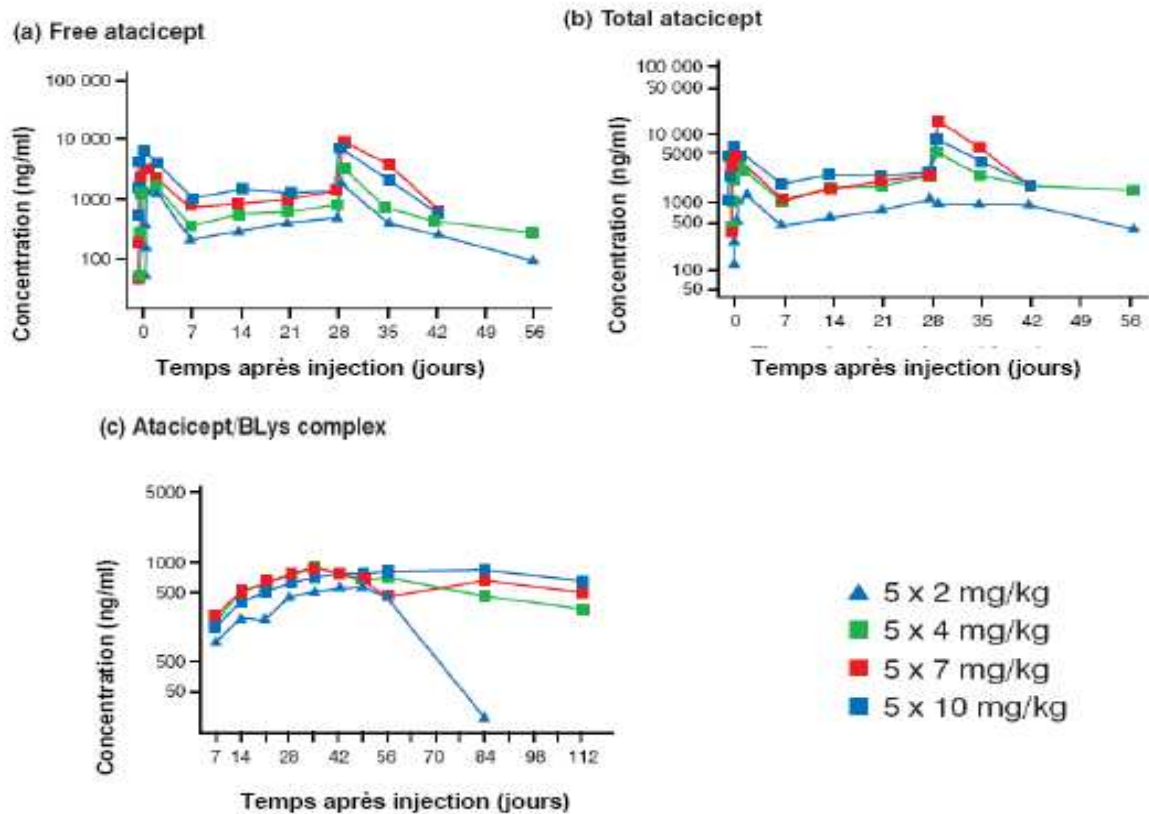


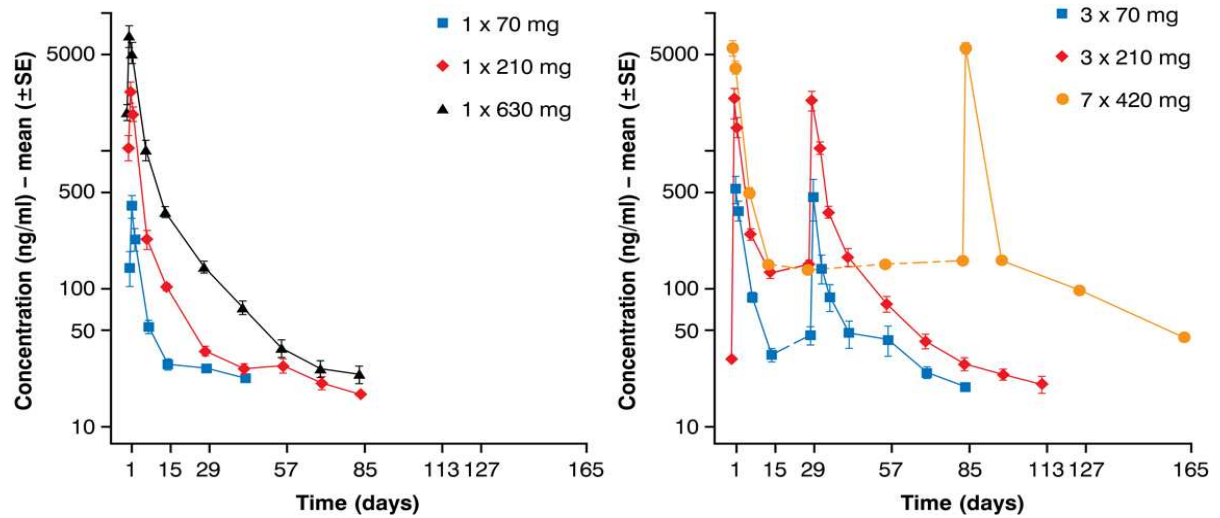
Figure 12 : Profil pharmacocinétique d'atacicept administré en sous-cutané chez les sujets atteints de myélome multiple ou de macroglobulinémie de Waldenström

(a) concentration d'atacicept libre (ng/ml) en fonction du temps après la dernière administration (jour)

(b) concentration d'atacicept total (ng/ml) en fonction du temps après la dernière administration (jour)

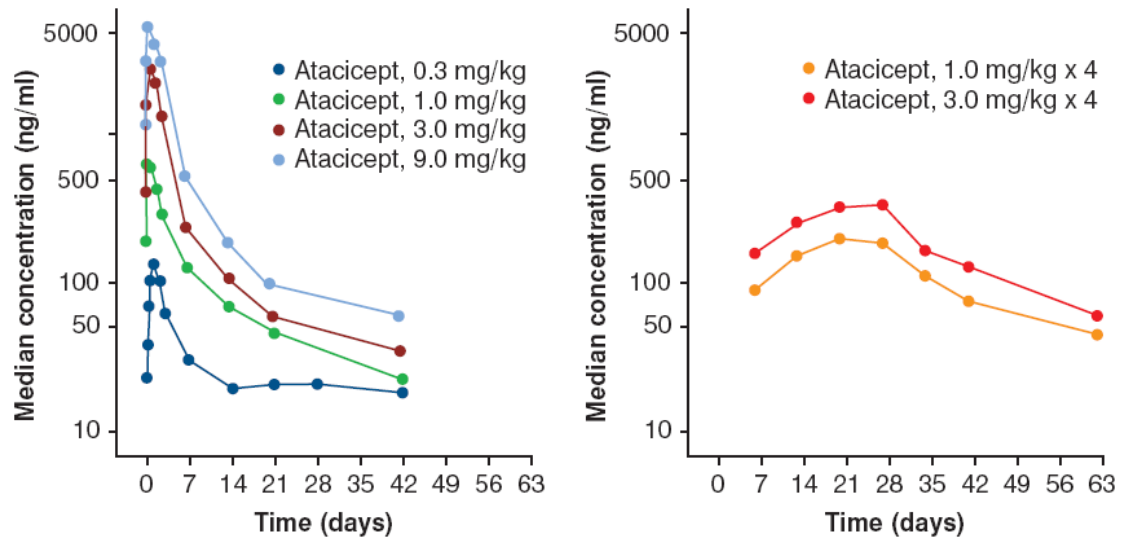
(c) concentration du complexe atacicept-BLyS (ng/ml) en fonction du temps après la dernière administration (jour)

Etude de Phase I dans la polyarthrite rhumatoïde



Pharmacocinétique d'atacipept administré en sous-cutané chez les patients atteint de P.R.

Etude de phase I dans le L.E.D. avec une administration en sous-cutanée d'atacept



Concentration d'atacept libre après administration sous-cutanée chez des patients lupiques

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Korganow and Martin. Lupus Erythémateux Systemique. 2002. [Internet Communication] URL: http://udsmc.ustrasbg.fr/emed/courses/MODULE08/document/lupus_erymateux.pdf?cidReq=MODULE08 (page consulté en janvier 2009)
2. Site sur les maladies Orpheline Orpha net. [Internet Communication] URL: <http://asso.orpha.net> (page consulté en janvier 2009)
3. A. Rahman and D. A. Isenberg. Systemic lupus erythematosus, *N Engl J Med*. 358:929-939 (2008).
4. Lupus Fundation of america Prise en charge dans le lupus. [Internet Communication] URL: <http://www.lupus.org/newsite/index.html> (page consulté en octobre 2009)
5. Meyer Olivier. Lupus systémique chez les non-Caucasiens. Revue du Rhumatisme Vol 69[8], 801-808. 2002. [Magazine Article]
6. Stoermann-Chopard. Néphropathie membraneuse de type lupique: étude morphologique de 7 cas traités par polychimiothérapie basée sur la ciclosporine A . 1999. [Thesis/Dissertation]
7. Meyer. Critères de classification: mode d'emploi pour le diagnostic de lupus systémique. 2004. [Internet Communication] URL: www.rhumatologie.asso.fr/05-bibliotheque/publications/pub-72-142-149.asp (page consulté en juillet 2008)
8. E. M. Tan, A. S. Cohen, J. F. Fries, A. T. Masi, D. J. McShane, N. F. Rothfield, J. G. Schaller, N. Talal, and R. J. Winchester. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus, *Arthritis Rheum*. 25:1271-1277 (1982).
9. Hughes. Lupus. 2000. [Internet Communication] URL: <http://www.lupus.be/Documents/Manuel.pdf> (page consulté en juillet 2008)
10. Hannedouche. Lupus Généralités. 2007. [Internet Communication] URL: www.nephrohus.org/s/spip.php?article362&var_recherche=lupus (page consulté en juillet 2008)
11. A. Rahman and D. A. Isenberg. Systemic lupus erythematosus, *N Engl J Med* 2008 Feb 28 ;358 (9):929 -39.
12. E. M. Tan and H. G. Kunkel. Characteristics of a soluble nuclear antigen precipitating with sera of patients with systemic lupus erythematosus. *J. Immunol*. 1966. 96: 464-471, *J Immunol* 2006 Feb 1;176 (3):1297 -304.
13. P. Schneider. The role of APRIL and BAFF in lymphocyte activation, *Curr Opin Immunol* 2005 Jun ;17(3):282 -9.
14. Morel J., Gottemberg JE., Sibilia J., and Combe B. Le Lymphocyte B : cible privilégiée des maladies auto-immunes. Revue du Rhumatisme 74[8], 745-750. 2007. [Magazine Article]
15. L. Weiss, F. Maillet, and M. Kazatchkine. Lupus and protein deficiencies of the classical complement pathway, *Rev Prat* 1990 Sep 21;40 (21):1937 -40.
16. Chikirate, Jabourik, Rouichi, Bentahila, Belhadj, and Aitoumar. Les Déficits en protéines du complement en pathologie. 1999. [Internet Communication] URL: <http://www.santetropicale.com/resume/7806.pdf> (page consulté en novembre 2009)
17. Lahita. *Systemic Lupus Erythematosus* , 2004.
18. J. P. Buyon, M. A. Petri, M. Y. Kim, K. C. Kalunian, J. Grossman, B. H. Hahn, J. T. Merrill, L. Sammaritano, M. Lockshin, G. S. Alarcon, S. Manzi, H. M. Belmont, A. D. Askanase, L. Sigler, M. A. Dooley, J. Von Feldt, W. J. McCune, A. Friedman, J. Wachs, M. Cronin, M. Heath-Holmes, M. Tan, and F.

Licciardi. The effect of combined estrogen and progesterone hormone replacement therapy on disease activity in systemic lupus erythematosus: a randomized trial, *Ann Intern Med.* 142:953-962 (2005).

19. J. A. James, K. M. Kaufman, A. D. Farris, E. Taylor-Albert, T. J. Lehman, and J. B. Harley. An increased prevalence of Epstein-Barr virus infection in young patients suggests a possible etiology for systemic lupus erythematosus, *J Clin Invest.* 100:3019-3026 (1997).

20. Université de Paris (Campus dermatologie) Diagnostiquer un lupus érythémateux disséminé et un syndrome des antiphospholipides. [Internet Communication] URL: <http://www.uvp5.univ-paris5.fr/campus-dermatologie/Cycle2/Poly/1800fra.asp> (page consulté en juillet 2009)

21. *Le lupus érythémateux disséminé: Généralités et symptômes*, 2008. [Magazine Article]

22. Hannedouche. Néphropathies lupiques . 2007. [Internet Communication] URL: www.nephrohus.org/s/spip.php?article105 (page consulté en novembre 2008)

23. The American College of Rheumatology response criteria for proliferative and membranous renal disease in systemic lupus erythematosus clinical trials, *Arthritis Rheum* 2006 Feb ;54 (2):421 -32.

24. J. J. Weening, V. D. D'Agati, M. M. Schwartz, S. V. Seshan, C. E. Alpers, G. B. Appel, J. E. Balow, J. A. Bruijn, T. Cook, F. Ferrario, A. B. Fogo, E. M. Ginzler, L. Hebert, G. Hill, P. Hill, J. C. Jennette, N. C. Kong, P. Lesavre, M. Lockshin, L. M. Looi, H. Makino, L. A. Moura, and M. Nagata. The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited, *Kidney Int.* 65:521-530 (2004).

25. R. S. Flanc, M. A. Roberts, G. F. Strippoli, S. J. Chadban, P. G. Kerr, and R. C. Atkins. Treatment for lupus nephritis, *Cochrane Database Syst Rev.* CD002922 (2004).

26. Hannedouche. Traitement des Néphropathies lupiques . 2007. [Internet Communication] URL: www.nephrohus.org/s/spip.php?article106 (page consulté en novembre 2008)

27. Vidal 2009, 2009.

28. L. Guillevin. Immunosuppressive and immunomodulator treatment of severe systemic lupus, *Ann Med Interne (Paris).* 147:498-505 (1996).

29. Site de Cancérologie générale Oncologie. [Internet Communication] URL: www.oncoprof.net (page consulté en janvier 2009)

30. Société Française de Dialyse. [Internet Communication] URL: www.sfdial.org (page consulté en janvier 2009)

31. F. A. Houssiau. Traitement de la néphropathie lupique. In Flammarion (ed), *Actualités néphrologiques*, 2005, pp. 133-144.

32. F. A. Houssiau, C. Vasconcelos, D. D'Cruz, G. D. Sebastiani, E. R. Garrido Ed, M. G. Danieli, D. Abramovicz, D. Blockmans, A. Mathieu, H. Direskeneli, M. Galeazzi, A. Gul, Y. Levy, P. Petera, R. Popovic, R. Petrovic, R. A. Sinico, R. Cattaneo, J. Font, G. Depresseux, J. P. Cosyns, and R. Cervera. Immunosuppressive therapy in lupus nephritis: the Euro-Lupus Nephritis Trial, a randomized trial of low-dose versus high-dose intravenous cyclophosphamide, *Arthritis Rheum.* 46:2121-2131 (2002).

33. F. A. Houssiau, C. Vasconcelos, D. D'Cruz, G. D. Sebastiani, E. de Ramon Garrido, M. G. Danieli, and et al. Early response to immunosuppressive therapy predicts good renal outcome in lupus nephritis: lessons from long-term followup of patients in the Euro-Lupus Nephritis Trial, *Arthritis Rheum.* 50:3934-3940 (2004).

34. F. A. Houssiau, C. Vasconcelos, D. D'Cruz, G. D. Sebastiani, G. E. de Ramon, M. G. Danieli, D. Abramovicz, D. Blockmans, A. Cauli, H. Direskeneli, M. Galeazzi, A. Gul, Y. Levy, P. Petera, R. Popovic, R. Petrovic, R. A. Sinico, R. Cattaneo, J. Font, G. Depresseux, J. P. Cosyns, and R. Cervera. The 10-year follow-up data of the Euro-Lupus Nephritis Trial comparing low-dose and high-dose intravenous cyclophosphamide, *Ann Rheum Dis.* 69:61-64 (2010).

35. J. Karsh, R. P. Kimberly, N. I. Stahl, P. H. Plotz, and J. L. Decker. Comparative effects of aspirin and ibuprofen in the management of systemic lupus erythematosus, *Arthritis Rheum* 1980 Dec ;23(12):1401 -4.
36. E. L. Dubois. Letter: Ibuprofen for systemic lupus erythematosus, *N Engl J Med* 1975 Oct 9 ;293 (15):779.
37. I. M. Meinao, E. I. Sato, L. E. Andrade, M. B. Ferraz, and E. Atrá. Controlled trial with chloroquine diphosphate in systemic lupus erythematosus, *Lupus* 1996 Jun ;5(3):237 -41.
38. J. A. vina-Zubieta, G. Galindo-Rodriguez, S. Newman, M. E. Suarez-Almazor, and A. S. Russell. Long-term effectiveness of antimalarial drugs in rheumatic diseases, *Ann Rheum Dis* 1998 Oct ;57 (10):582 -7.
39. E. L. Bezerra, M. J. Vilar, P. B. da Trindade Neto, and E. I. Sato. Double-blind, randomized, controlled clinical trial of clofazimine compared with chloroquine in patients with systemic lupus erythematosus, *Arthritis Rheum* 2005 Oct ;52 (10):3073 -8.
40. C. G. kworth-Young, J. David, S. H. Morgan, and G. R. Hughes. A double blind, placebo controlled trial of intravenous methylprednisolone in systemic lupus erythematosus, *Ann Rheum Dis* 1988 Jun ;47 (6):496 -502.
41. S. D. Denburg, R. M. Carbotte, and J. A. Denburg. Corticosteroids and neuropsychological functioning in patients with systemic lupus erythematosus, *Arthritis Rheum* 1994 Sep ;37 (9):1311 -20.
42. C. E. Tseng, J. P. Buyon, M. Kim, H. M. Belmont, M. Mackay, B. Diamond, G. Marder, P. Rosenthal, K. Haines, V. Ilie, and S. B. Abramson. The effect of moderate-dose corticosteroids in preventing severe flares in patients with serologically active, but clinically stable, systemic lupus erythematosus: findings of a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled trial, *Arthritis Rheum* 2006 Nov ;54 (11):3623 -32.
43. Zouali M. *Molecular autoimmunity*, 2005.
44. Sibilia and Sordet. Immunothérapies du lupus systémique: innovations et perspectives, *Revue du Rhumatisme*. 72:572-591 (2005).
45. J. Sibilia, J. E. Gottenberg, and X. Mariette. Rituximab: a new therapeutic alternative in rheumatoid arthritis, *Joint Bone Spine* %2008 Oct ;75 (5):526 -32 Epub 2008 Jun 20.Epub.
46. R. J. Looney, J. H. Anolik, D. Campbell, R. E. Felgar, F. Young, L. J. Arend, and et al. B cell depletion as a novel treatment for systemic lupus erythematosus : a phse I/II dose-escalation trial of rituximab, *Arthritis Rheum*. 50:2580-2589 (2004).
47. M. J. Leandro, J. C. Edwards, G. Cambridge, M. R. Ehrenstein, and D. A. Isenberg. An open study of B lymphocyte depletion in systemic lupus erythematosus, *Arthritis Rheum* 2002 Oct ;46 (10):2673 -7.
48. Genentech. Phase III Study of Rituxan in Lupus Nephritis Did Not Meet Primary Endpoint. 11-3-2009. [Internet Communication] URL: <http://www.gene.com/gene/news/press-releases> (page consulté en septembre 2009)
49. Fakhouri F, Guerraoui H, Knebelmann, Salomon R, Niaudet P, Grunfeld JP, and Lesavre P. *Le rituximab dans les maladies auto-immunes : un nouvel espoir ?* In Flammarion (ed), *Actualités néphrologiques Jean Hamburger: Hôpital Necker*, 2004.
50. Recommandation d'utilisation du cyclophosphamide dans les maladies auto-immunes (Commission de la Transparence). 2006. [Internet Communication] URL: <http://www.has-sante.fr> (page consulté en septembre 2009)
51. T. Dorner, J. Kaufmann, W. A. Wegener, N. Teoh, D. M. Goldenberg, and G. R. Burmester. Initial clinical trial of epratuzumab (humanized anti-CD22 antibody) for immunotherapy of systemic lupus erythematosus, *Arthritis Res Ther*. 8:R74 (2006).

52. F. Lajaunias, A. Ida, S. Kikuchi, L. Fossati-Jimack, E. Martinez-Soria, T. Moll, C. L. Law, and S. Izui. Differential control of CD22 ligand expression on B and T lymphocytes, and enhanced expression in murine systemic lupus, *Arthritis Rheum* 2003 Jun ;48 (6):1612 -21.
53. Press Release. Epratuzumab: resultats intermédiaires d'une étude clinique de phase II. 2008. [Internet Communication] URL: <http://www.medicalnewstoday.com> (page consulté en septembre 2009)
54. J. M. Harper and A. Cook. Beneficial effects of non-depleting anti-CD4 in MRL/Mp-lpr/lpr mice with active systemic lupus erythematosus and microscopic angiitis, *Autoimmunity*. 33:245-251 (2001).
55. F. J. Stafford, T. A. Fleisher, G. Lee, M. Brown, V. Strand, H. A. Austin, III, J. E. Balow, and J. H. Klippel. A pilot study of anti-CD5 ricin A chain immunoconjugate in systemic lupus erythematosus, *J Rheumatol*. 21:2068-2070 (1994).
56. K. C. Herold, W. Hagopian, J. A. Auger, E. Poumian-Ruiz, L. Taylor, D. Donaldson, S. E. Gitelman, D. M. Harlan, D. Xu, R. A. Zivin, and J. A. Bluestone. Anti-CD3 monoclonal antibody in new-onset type 1 diabetes mellitus, *N Engl J Med*. 346:1692-1698 (2002).
57. T. Higuchi, Y. Aiba, T. Nomura, J. Matsuda, K. Mochida, M. Suzuki, H. Kikutani, T. Honjo, K. Nishioka, and T. Tsubata. Cutting Edge: Ectopic expression of CD40 ligand on B cells induces lupus-like autoimmune disease, *J Immunol*. 168:9-12 (2002).
58. S. L. Kalled, A. H. Cutler, S. K. Datta, and D. W. Thomas. Anti-CD40 ligand antibody treatment of SNF1 mice with established nephritis: preservation of kidney function, *J Immunol*. 160:2158-2165 (1998).
59. J. C. Davis, Jr., M. C. Totoritis, J. Rosenberg, T. A. Sklenar, and D. Wofsy. Phase I clinical trial of a monoclonal antibody against CD40-ligand (IDEC-131) in patients with systemic lupus erythematosus, *J Rheumatol*. 28:95-101 (2001).
60. K. C. Kalunian, J. C. Davis, Jr., J. T. Merrill, M. C. Totoritis, and D. Wofsy. Treatment of systemic lupus erythematosus by inhibition of T cell costimulation with anti-CD154: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial, *Arthritis Rheum*. 46:3251-3258 (2002).
61. D. T. Boumpas, R. Furie, S. Manzi, G. G. Illei, D. J. Wallace, J. E. Balow, and A. Vaishnaw. A short course of BG9588 (anti-CD40 ligand antibody) improves serologic activity and decreases hematuria in patients with proliferative lupus glomerulonephritis, *Arthritis Rheum*. 48:719-727 (2003).
62. X. Wang, W. Huang, M. Mihara, J. Sinha, and A. Davidson. Mechanism of action of combined short-term CTLA4Ig and anti-CD40 ligand in murine systemic lupus erythematosus, *J Immunol*. 168:2046-2053 (2002).
63. E. A. Greenfield, K. A. Nguyen, and V. K. Kuchroo. CD28/B7 costimulation: a review, *Crit Rev Immunol*. 18:389-418 (1998).
64. J. M. Kremer, R. Westhovens, M. Leon, G. E. Di, R. Alten, S. Steinfeld, A. Russell, M. Dougados, P. Emery, I. F. Nuamah, G. R. Williams, J. C. Becker, D. T. Hagerty, and L. W. Moreland. Treatment of rheumatoid arthritis by selective inhibition of T-cell activation with fusion protein CTLA4Ig, *N Engl J Med*. 349:1907-1915 (2003).
65. D. I. Daikh and D. Wofsy. Cutting edge: reversal of murine lupus nephritis with CTLA4Ig and cyclophosphamide, *J Immunol*. 166:2913-2916 (2001).
66. M. Takiguchi, M. Murakami, I. Nakagawa, I. Saito, A. Hashimoto, and T. Uede. CTLA4IgG gene delivery prevents autoantibody production and lupus nephritis in MRL/lpr mice, *Life Sci*. 66:991-1001 (2000).
67. N. Najafian and M. H. Sayegh. CTLA4-Ig: a novel immunosuppressive agent, *Expert Opin Investig Drugs*. 9:2147-2157 (2000).

68. Registry of federally and privately supported clinical trials conducted in the United States and around the world. ClinicalTrials.gov. [Internet Communication] URL: <http://clinicaltrials.gov/> (page consulté en janvier 2010)
69. L. Llorente and Y. Richaud-Patin. The role of interleukin-10 in systemic lupus erythematosus, *J Autoimmun.* 20:287-289 (2003).
70. J. Tyrrell-Price, P. M. Lydyard, and D. A. Isenberg. The effect of interleukin-10 and of interleukin-12 on the in vitro production of anti-double-stranded DNA antibodies from patients with systemic lupus erythematosus, *Clin Exp Immunol.* 124:118-125 (2001).
71. A. E. Mongan, S. Ramdahn, and R. J. Warrington. Interleukin-10 response abnormalities in systemic lupus erythematosus, *Scand J Immunol.* 46:406-412 (1997).
72. Z. Yin, G. Bahtiyar, N. Zhang, L. Liu, P. Zhu, M. E. Robert, J. McNiff, M. P. Madaio, and J. Craft. IL-10 regulates murine lupus, *J Immunol.* 169:2148-2155 (2002).
73. T. Fujii, M. Okada, T. Mimori, and J. Craft. The transmembrane form of TNF-alpha drives autoantibody production in the absence of CD154: studies using MRL/Mp-Fas(lpr) mice, *Clin Exp Immunol.* 130:224-232 (2002).
74. C. Gabay, N. Cakir, F. Morat, P. Roux-Lombard, O. Meyer, J. M. Dayer, T. Vischer, H. Yazici, and P. A. Guerne. Circulating levels of tumor necrosis factor soluble receptors in systemic lupus erythematosus are significantly higher than in other rheumatic diseases and correlate with disease activity, *J Rheumatol.* 24:303-308 (1997).
75. B. Fautrel, V. Foltz, C. Frances, P. Bourgeois, and S. Rozenberg. Regression of subacute cutaneous lupus erythematosus in a patient with rheumatoid arthritis treated with a biologic tumor necrosis factor alpha-blocking agent: comment on the article by Pisetsky and the letter from Aringer et al, *Arthritis Rheum.* 46:1408-1409 (2002).
76. M. A. Gill, P. Blanco, E. Arce, V. Pascual, J. Banchereau, and A. K. Palucka. Blood dendritic cells and DC-poietins in systemic lupus erythematosus, *Hum Immunol.* 63:1172-1180 (2002).
77. H. Amital, Y. Levi, M. Blank, V. Barak, P. Langevitz, A. Afek, F. Nicoletti, J. Kopolovic, B. Gilburd, P. L. Meroni, and Y. Shoenfeld. Immunomodulation of murine experimental SLE-like disease by interferon-gamma, *Lupus.* 7:445-454 (1998).
78. C. Haas, B. Ryffel, and H. M. Le. IFN-gamma is essential for the development of autoimmune glomerulonephritis in MRL/lpr mice, *J Immunol.* 158:5484-5491 (1997).
79. P. Schneider, F. Mackay, V. Steiner, K. Hofmann, J.-L. Bodmer, N. Holler, and et al. BAFF, a novel ligand of the tumor necrosis factor family, stimulates B cell growth, *J Exp Med.* 189:1747-1756 (1999).
80. M. Hahne, T. Kataoka, M. Schröter, K. Hofmann, M. Irmeler, and J.-L. Bodmer. APRIL, a new ligand of the tumor necrosis factor family, stimulates tumor cell growth, *J Exp Med.* 188:1185-1190 (1998).
81. S. R. Dillon, J. A. Gross, S. M. Ansell, and A. J. Novak. An APRIL to remember: novel TNF ligands as therapeutic targets, *Nat Rev Drug Discov.* 5:235-246 (2006).
82. P. Schneider. The role of APRIL and BAFF in lymphocyte activation, *Curr Opin Immunol.* 17:1-8 (2005).
83. F. Mackay, S. A. Woodcock, P. Lawton, C. Ambrose, M. Baetscher, P. Schneider, J. Tschopp, and J. L. Browning. Mice transgenic for BAFF develop lymphocytic disorders along with autoimmune manifestations, *J Exp Med.* 190:1697-1710 (1999).
84. P. Schneider, F. Mackay, V. Steiner, K. Hofmann, J. L. Bodmer, N. Holler, C. Ambrose, P. Lawton, S. Bixler, H. cha-Orbea, D. Valmori, P. Romero, C. Werner-Favre, R. H. Zubler, J. L. Browning, and J.

- Tschopp. BAFF, a novel ligand of the tumor necrosis factor family, stimulates B cell growth, *J Exp Med*. 189:1747-1756 (1999).
85. M. Ramanujam, X. Wang, W. Huang, Z. Liu, L. Schiffer, H. Tao, D. Frank, J. Rice, B. Diamond, K. O. Yu, S. Porcelli, and A. Davidson. Similarities and differences between selective and nonselective BAFF blockade in murine SLE, *J Clin Invest*. 116:724-734 (2006).
 86. D. Seshasayee, P. Valdez, M. Yan, V. M. Dixit, D. Tumas, and I. S. Grewal. Loss of TACI causes fatal lymphoproliferation and autoimmunity, establishing TACI as an inhibitory BLyS receptor, *Immunity*. 18:279-288 (2003).
 87. J. Zhang, V. Roschke, K. P. Baker, Z. Wang, G. S. Alarcon, B. J. Fessler, H. Bastian, R. P. Kimberly, and T. Zhou. Cutting edge: a role for B lymphocyte stimulator in systemic lupus erythematosus, *J Immunol*. 166:6-10 (2001).
 88. T. Koyama, H. Tsukamoto, Y. Miyagi, D. Himeji, J. Otsuka, H. Miyagawa, M. Harada, and T. Horiuchi. Raised serum APRIL levels in patients with systemic lupus erythematosus, *Ann Rheum Dis*. 64:1065-1067 (2005).
 89. W. Stohl, S. Metyas, S. M. Tan, G. S. Cheema, B. Oamar, V. Roschke, Y. Wu, K. P. Baker, and D. M. Hilbert. Inverse association between circulating APRIL levels and serological and clinical disease activity in patients with systemic lupus erythematosus, *Ann Rheum Dis*. 63:1096-1103 (2004).
 90. J. A. Gross, J. Johnston, S. Mudri, R. Enselman, S. R. Dillon, K. Madden, W. Xu, J. Parrish-Novak, D. Foster, C. Lofton-Day, M. Moore, A. Littau, A. Grossman, H. Haugen, K. Foley, H. Blumberg, K. Harrison, W. Kindsvogel, and C. H. Clegg. TACI and BCMA are receptors for a TNF homologue implicated in B-cell autoimmune disease, *Nature*. 404:995-999 (2000).
 91. J. A. Gross, J. Johnston, S. Mudri, R. Enselman, S. R. Dillon, K. Madden, W. Xu, J. Parrish-Novak, D. Foster, C. Lofton-Day, M. Moore, A. Littau, A. Grossman, H. Haugen, K. Foley, H. Blumberg, K. Harrison, W. Kindsvogel, and C. H. Clegg. TACI and BCMA are receptors for a TNF homologue implicated in B-cell autoimmune disease, *Nature*. 404:995-999 (2000).
 92. M. Carbonatto, P. Yu, M. Bertolino, E. Vigna, S. Steidler, L. Fava, C. Daghero, B. Roattino, M. Onidi, M. Ardizzone, S. Peano, J. Visich, D. Janszen, S. Dillon, and R. Ponce. Nonclinical safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of atacicept, *Toxicol Sci*. 105:200-210 (2008).
 93. M. Ramanujam, X. Wang, W. Huang, L. Schiffer, C. Grimaldi, A. Akkerman, B. Diamond, M. P. Madaio, and A. Davidson. Mechanism of action of transmembrane activator and calcium modulator ligand interactor-Ig in murine systemic lupus erythematosus, *J Immunol*. 173:3524-3534 (2004).
 94. A. Munafo, A. Priestley, I. Nestorov, J. Visich, and M. Rogge. Safety, pharmacokinetics and pharmacodynamics of atacicept in healthy volunteers, *Eur J Clin Pharmacol*. 63:647-656 (2007).
 95. A. J. Novak, R. J. Bram, N. E. Kay, and D. F. Jelinek. Aberrant expression of B-lymphocyte stimulator by B chronic lymphocytic leukemia cells: a mechanism for survival, *Blood*. 100:2973-2979 (2002).
 96. A. J. Novak, D. M. Grote, M. Stenson, S. C. Ziesmer, T. E. Witzig, T. M. Habermann, B. Harder, K. M. Ristow, R. J. Bram, D. F. Jelinek, J. A. Gross, and S. M. Ansell. Expression of BLyS and its receptors in B-cell non-Hodgkin lymphoma: correlation with disease activity and patient outcome, *Blood*. 104:2247-2253 (2004).
 97. Institut National du cancer. Lymphome Malin Non Hodgkinien. [Internet Communication] URL: www.e-cancer.fr (page consulté en septembre 2009)
 98. S. M. Ansell, T. E. Witzig, D. J. Inwards, L. F. Porrata, A. Ythier, L. Ferrande, I. Nestorov, T. Devries, S. R. Dillon, D. Hausman, and A. J. Novak. Phase I clinical study of atacicept in patients with relapsed and refractory B-cell non-Hodgkin's lymphoma, *Clin Cancer Res*. 14:1105-1110 (2008).

99. Press Release: Atacicept in Leukemia. 2009. [Internet Communication] URL: www.prenewswire.co.uk (page consulté en septembre 2009)
100. Myélome multiple. [Internet Communication] URL: www.med.univ-rennes1.fr (page consulté en septembre 2009)
101. D. T. Felson, J. J. Anderson, M. Boers, C. Bombardier, M. Chernoff, B. Fried, D. Furst, C. Goldsmith, S. Kieszak, R. Lightfoot, and . The American College of Rheumatology preliminary core set of disease activity measures for rheumatoid arthritis clinical trials. The Committee on Outcome Measures in Rheumatoid Arthritis Clinical Trials, *Arthritis Rheum.* 36:729-740 (1993).
102. Silman a and Hochberg M. *Epidemiology of the rheumatic diseases*, 2001.
103. G. S. Cheema, V. Roschke, D. M. Hilbert, and W. Stohl. Elevated serum B lymphocyte stimulator levels in patients with systemic immune-based rheumatic diseases, *Arthritis Rheum.* 44:1313-1319 (2001).
104. S. M. Tan, D. Xu, V. Roschke, J. W. Perry, D. G. Arkfeld, G. R. Ehresmann, T. S. Migone, D. M. Hilbert, and W. Stohl. Local production of B lymphocyte stimulator protein and APRIL in arthritic joints of patients with inflammatory arthritis, *Arthritis Rheum.* 48:982-992 (2003).
105. P. P. Tak, R. M. Thurlings, C. Rossier, I. Nestorov, A. Dimic, V. Mircetic, M. Rischmueller, E. Nasonov, E. Shmidt, P. Emery, and A. Munafo. Atacicept in patients with rheumatoid arthritis: results of a multicenter, phase Ib, double-blind, placebo-controlled, dose-escalating, single- and repeated-dose study, *Arthritis Rheum.* 58:61-72 (2008).
106. I. Nestorov, A. Munafo, O. Papasouliotis, and J. Visich. Pharmacokinetics and biological activity of atacicept in patients with rheumatoid arthritis, *J Clin Pharmacol.* 48:406-417 (2008).
107. V. Roschke, S. Sosnovtseva, C. D. Ward, J. S. Hong, R. Smith, V. Albert, W. Stohl, K. P. Baker, S. Ullrich, B. Nardelli, D. M. Hilbert, and T. S. Migone. BLyS and APRIL form biologically active heterotrimers that are expressed in patients with systemic immune-based rheumatic diseases, *J Immunol.* 169:4314-4321 (2002).
108. M. Dall'Era, E. Chakravarty, D. Wallace, M. Genovese, M. Weisman, A. Kavanaugh, K. Kalunian, P. Dhar, E. Vincent, C. Pena-Rossi, and D. Wofsy. Reduced B lymphocyte and immunoglobulin levels after atacicept treatment in patients with systemic lupus erythematosus: results of a multicenter, phase Ib, double-blind, placebo-controlled, dose-escalating trial, *Arthritis Rheum.* 56:4142-4150 (2007).
109. J. Antel and A. Bar-Or. Roles of immunoglobulins and B cells in multiple sclerosis: from pathogenesis to treatment, *J Neuroimmunol.* 180:3-8 (2006).
110. C. Lucchinetti, W. Bruck, J. Parisi, B. Scheithauer, M. Rodriguez, and H. Lassmann. Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: implications for the pathogenesis of demyelination, *Ann Neurol.* 47:707-717 (2000).
111. Cucherat M. Petit Manuel de lecture critique des essais cliniques. [Internet Communication] URL: <http://www.spc.univ-lyon1.fr/lecture-critique> (page consulté en janvier 2010)
112. Cucherat M, Lièvre M, Leizerovicz A, and Boissel JP. *Lecture critique et interprétation des résultats des essais cliniques pour la pratique médicale*, 2004.
113. N. Methy, L. Bedenne, and F. Bonnetain. [Validation of surrogate endpoints in digestive oncology], *Bull Cancer.* 96:591-595 (2009).
114. Affsaps. Essais cliniques de première administration à l'Homme, en dose unique d'un médicament expérimental (nouvelle substance active) : Choix de la première dose, de la progression de dose et protocole d'administration aux volontaires. 2006. [Report]

115. EMEA. ICH E10 Choice of control group and related issues in clinicals trials. 20-7-2000. [Report]
116. Patients et essais cliniques: colloques. John Libbey Eurotext. John Libbey Eurotext[12]. 1998. [Conference Proceeding]
117. Declaration of Helsinki Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects - Adopted by the 18th WMA General Assembly, Helsinki, Finland, June 1964, and amended by the 29th WMA General Assembly, Tokyo, Japan, October 1975. 1964. [Generic]
118. Jolly D. *Lecture critique d'articles médicaux*, 2005.
119. Cucherat M. Lecture critique des essais thérapeutiques. [Internet Communication] URL: www.spc.univ-lyon1.fr (page consulté en janvier 2010)
120. EMEA. ICH M3 Guidance on Non-Clinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals. 2006. [Report]
121. R. Ponce. Preclinical support for combination therapy in the treatment of autoimmunity with atacicept, *Toxicol Pathol* 2009 ;37 (1):89 -99 Epub 2009 Jan 26.Epub.
122. G. Bertsias, C. Gordon, and D. T. Boumpas. Clinical trials in systemic lupus erythematosus (SLE): lessons from the past as we proceed to the future--the EULAR recommendations for the management of SLE and the use of end-points in clinical trials, *Lupus*. 17:437-442 (2008).
123. V. Strand. Lessons learned from clinical trials in SLE, *Autoimmun Rev*. 6:209-214 (2007).
124. J. Schiffenbauer and L. S. Simon. Randomized controlled trials in systemic lupus erythematosus: what has been done and what do we need to do?, *Lupus*. 13:398-405 (2004).
125. D. arcon-Segovia, J. A. Tumlin, R. A. Furie, J. D. McKay, M. H. Cardiel, V. Strand, R. G. Bagin, M. D. Linnik, and B. Hepburn. LJP 394 for the prevention of renal flare in patients with systemic lupus erythematosus: results from a randomized, double-blind, placebo-controlled study, *Arthritis Rheum*. 48:442-454 (2003).
126. T. M. Chan, F. K. Li, C. S. Tang, R. W. Wong, G. X. Fang, Y. L. Ji, C. S. Lau, A. K. Wong, M. K. Tong, K. W. Chan, and K. N. Lai. Efficacy of mycophenolate mofetil in patients with diffuse proliferative lupus nephritis. Hong Kong-Guangzhou Nephrology Study Group, *N Engl J Med*. 19;343:1156-1162 (2000).
127. H. Bootsma, P. Spronk, R. Derksen, B. G. de, H. Wolters-Dicke, J. Hermans, P. Limburg, F. Gmelig-Meyling, L. Kater, and C. Kallenberg. Prevention of relapses in systemic lupus erythematosus, *Lancet*. 345:1595-1599 (1995).
128. M. Corzillius and S. C. Bae. Methodological issues of corticosteroid use in SLE clinical trials, *Lupus*. 8:692-697 (1999).
129. Prévalence du lupus en France. [Internet Communication] URL: www.maladiesraresinfo.org (page consulté en Décembre 2009)
130. Fakhouri F and Lesavre P. Quel traitement pour les néphropathies lupiques en 2008? In Flammarion (ed), *Actualités néphrologiques*, 2008, pp. 217-227.
131. Traitement disponible dans le lupus. [Internet Communication] URL: www.pharmafocus.com (page consulté en Décembre 2009)
132. GSK. Press Release: Belumimab in Lupus. 2009. [Internet Communication] URL: <http://www.gsk.com/media/archive.htm> (page consulté en Janvier 2010)
133. ACR criteria. [Internet Communication] URL: <http://www.rheumatology.org> (page consulté en Décembre 2009)

134. Renal Pathology Society. International Society of Nephrology/Renal Pathology Society (ISN/RPS) 2003 Classification of Lupus Nephritis. [Internet Communication] URL: <http://www.renalpathsoc.org> (page consulté en Décembre 2009)

135. D. A. Isenberg, A. Rahman, E. Allen, V. Farewell, M. Akil, I. N. Bruce, D. D'Cruz, B. Griffiths, M. Khamashta, P. Maddison, N. McHugh, M. Snaith, L. S. Teh, C. S. Yee, A. Zoma, and C. Gordon. BILAG 2004. Development and initial validation of an updated version of the British Isles Lupus Assessment Group's disease activity index for patients with systemic lupus erythematosus, *Rheumatology (Oxford)*. 44:902-906 (2005).

136. D. Gladman, M. Urowitz, P. Fortin, D. Isenberg, C. Goldsmith, C. Gordon, and M. Petri. Systemic Lupus International Collaborating Clinics conference on assessment of lupus flare and quality of life measures in SLE. Systemic Lupus International Collaborating Clinics Group, *J Rheumatol*. 23:1953-1955 (1996).

DEMANDE D'IMPRIMATUR

Date de soutenance : 26 février 2010

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE présenté par Clémence HERBIN <u>Sujet</u> : Problèmes méthodologiques dans le développement clinique d'un immunomodulateur dans le Lupus – A propos d'une nouvelle molécule, atacicept, dans la néphropathie lupique. <u>Jury</u> : Président : Mme Chantal FINANCE, Professeur Juges : Dr. Guy BRAUNSTEIN, Chef de développement clinique M. Luc FRIMAT, Professeur Melle Bénédicte DUPONT, Pharmacien	Vu, Nancy, le 29 JAN. 2010 Le Président du Jury Le Directeur de Thèse Mme FINANCE M. BRAUNSTEIN  
Vu et approuvé, Nancy, le 29 JAN. 2010 Doyen de la Faculté de Pharmacie de l'Université Henri Poincaré - Nancy 1,   Francine PAULUS	Vu, Nancy, le 2.02.2010 Le Président de l'Université Henri Poincaré - Nancy 1,   Jean-Pierre FINANCE N° d'enregistrement : 3202

N° d'identification :

TITRE

**PROBLEMES METHODOLOGIQUES DANS LE DEVELOPPEMENT CLINIQUE D'UN
IMMUNOMODULATEUR DANS LE LUPUS**

A propos d'une nouvelle molécule Atacicept dans la néphropathie lupique

**Thèse soutenue le 26 février 2010
Par Clémence Herbin**

RESUME :

Le lupus érythémateux disséminé (L.E.D.) est une maladie inflammatoire chronique rattachée au groupe des maladies auto-immunes. Les manifestations cliniques de cette maladie sont extrêmement variées et peuvent se présenter sous forme d'atteintes de la peau, des reins, des articulations, des poumons voire du système nerveux. Parmi toutes les complications du L.E.D., l'atteinte rénale reste la plus fréquente et est malheureusement aussi l'une des plus sévères. Les traitements actuellement disponibles contre la néphropathie lupique se limitent aux glucocorticoïdes et aux immunosuppresseurs et cela fait plus de 50 ans qu'aucun médicament innovant n'a été approuvé spécifiquement pour cette pathologie.

Il est donc important de développer de nouvelles molécules dans cette pathologie, c'est tout l'objet du développement d'atacicept. Atacicept est une protéine de fusion recombinante qui se lie à BLYS et APRIL, deux cytokines se fixant normalement à leurs récepteurs des lymphocytes B pour activer leur développement. Atacicept joue le rôle d'antagoniste de BLYS et de APRIL, empêchant ainsi la différenciation des lymphocytes B. Son mécanisme d'action lui permet donc d'être développée dans plusieurs indications dont le L.E.D. et la néphropathie lupique.

D'une manière générale, le rapport bénéfice/risque des nouveaux traitements est déterminé par des essais cliniques qui doivent, pour obtenir des données fiables, respecter une méthodologie rigoureuse et reproductible.

Ce mémoire s'appuie sur l'exemple du développement clinique de phase III d'Atacicept dans la néphropathie lupique afin d'expliquer les choix méthodologiques et les difficultés rencontrées lors de la mise en place de telles études. Le but final de ce travail est de proposer des recommandations pratiques pour le développement d'essais cliniques évaluant des immunomodulateurs dans les atteintes lupiques.

MOTS CLES : **Lupus, Lupus Erythémateux Disséminé, Néphropathie Lupique
Immunomodulateur
Essai Clinique, Méthodologie**

Directeur de thèse	Intitulé du laboratoire	Nature
Guy BRAUNSTEIN		Expérimentale ☐
		Bibliographique ☐
		Thème ☐

Thèmes

**1 – Sciences fondamentales
3 – Médicament
5 - Biologie**

**2 – Hygiène/Environnement
4 – Alimentation – Nutrition
6 – Pratique professionnelle**