

Fabrication des produits de thérapie génique : garantir la sécurité et la qualité des produits

DIAPOSITIVE 1

Cette présentation a trait à la fabrication des produits de thérapie génique, en termes de sécurité et de qualité des produits.

DIAPOSITIVE 2

Cette diapositive présente la définition des produits de thérapie génique qui a été publiée par la FDA. Les produits de thérapie génique se définissent comme des produits qui produisent leurs effets par la transcription et/ou la traduction d'un matériel génétique introduit et/ou s'intégrant dans le génome de l'hôte et qui sont administrés sous forme d'acides nucléiques, de plasmides, de virus, tels que les vecteurs adénoviraux, ou de microorganismes transgéniques, tels que les bactéries. Ces produits de thérapie génique peuvent être utilisés pour modifier les cellules in vivo par l'administration directe à un patient ou par transfert dans des cellules ex vivo avant l'administration au patient. La définition illustrée ici est tirée du document d'orientation 2006 de la FDA sur le suivi à long terme.

DIAPOSITIVE 3

Ce tableau vous donne une idée du nombre et des types de demandes s'appliquant aux drogues nouvelles de recherche (Investigational New Drug – IND) en thérapie génique active jusqu'en juillet 2009.

Il illustre principalement les produits de thérapie génique non réplicatifs, dont les plus courants sont les vecteurs synthétiques. Les plasmides peuvent être administrés sous forme d'ADN nu ; ils peuvent aussi être encapsulés dans un liposome pour que l'administration soit plus efficace.

En termes de vecteurs viraux, les produits adénoviraux constituent le vecteur le plus courant. Ils sont principalement utilisés dans le traitement du cancer.

Les rétrovirus ont la propriété intrinsèque de s'intégrer dans le génome de l'hôte ; ils permettent l'intégration stable et à long terme des gènes thérapeutiques.

AAV signifie virus associé aux adénovirus. Les vecteurs AAV ne s'intègrent pas dans les génomes des hôtes, mais ils permettent l'expression génique à long terme dans les cellules qui ne se divisent pas. Les produits AAV dans le cadre d'une IND sont principalement utilisés pour traiter les troubles neurologiques ; ils font intervenir l'administration directe du vecteur viral dans le cerveau.

Les poxvirus comprennent notamment la vaccine, la variole aviaire et la variole du canari. Ils sont principalement utilisés comme vaccins contre le cancer, car le produit lui-même est relativement immunogène et peut agir comme adjuvant dans la vaccination thérapeutique.

DIAPOSITIVE 4

La branche thérapie génique examine un certain nombre d'autres produits, difficiles à catégoriser. Certains sont des produits de thérapie génique, d'autres ne sont pas considérés comme tels. Mais la plupart de ceux qui figurent sur ce tableau sont des produits réplicatifs.

À l'époque où cette présentation a été rédigée, le CBER avait environ 32 IND qui utilisaient des virus oncolytiques. Il s'agit de virus vivants qui se répliquent de préférence dans les tissus tumoraux et par le processus de réplication. Ils sont capables de détruire les tissus tumoraux. En théorie, ils ne se répliquent pas dans les tissus normaux avoisinants et donc ils ne les détruisent pas.

Certains virus oncolytiques sont des virus naturels de type sauvage. Ils ont la capacité intrinsèque de se répliquer dans les cellules qui se divisent, telles que les cellules tumorales. D'autres sont porteurs de modifications qui servent à atténuer les virus de type sauvage et à les rendre moins pathogènes. D'autres aussi sont porteurs d'un gène thérapeutique pour mieux tuer les cellules tumorales ciblées.

La FDA constate qu'un nombre croissant de produits microbiens vivants est formé de bactéries vivantes ou de levures. Nombre d'entre elles sont des bactéries anaérobies qui se répliquent de préférence dans l'environnement de tumeurs nécrotiques chez les patients cancéreux. La plupart d'entre elles ont un gène thérapeutique tel que la cytokine pour mieux tuer les cellules tumorales.

Le CBER a également huit IND environ utilisant des vecteurs dérivés du virus Herpes simplex. Certains d'entre eux sont des vecteurs non réplicatifs porteurs d'un gène thérapeutique. Plusieurs d'entre eux sont en fait des virus atténués de l'herpès, du type sauvage, qui sont utilisés comme virus oncolytiques. Leur classement est un peu confus, mais au final ils sont tous réglementés à peu près de la même manière.

DIAPOSITIVE 5

Examinons comment la FDA réglemente la fabrication des produits de thérapie génique. Comme illustré sur cette diapositive, le processus de fabrication peut être complexe. Cette diapositive illustre un exemple de produit formé de cellules d'un patient transduites ex vivo grâce à un vecteur rétroviral. Il convient de passer en revue un certain nombre de composants utilisés au cours du processus de fabrication. Vous avez les cellules allogéniques comme matériel de départ, qui font intervenir les tests obligatoires du donneur. Ces cellules peuvent être sélectionnées pour un certain sous-type ; la FDA supervise donc le processus pour veiller à ce que l'anticorps monoclonal utilisé dans la sélection des cellules soit de qualité adéquate. Ensuite, le dispositif de sélection est examiné. Il y a bien entendu la supervision du processus de fabrication d'un vecteur de thérapie génique, puis celle du processus de mise en culture susceptible d'utiliser des matériels qui sont des réactifs de qualité recherche, et, bien entendu, la supervision du produit final.

DIAPOSITIVE 6

Il s'agit ici d'un aperçu de la façon dont la FDA supervise le processus de fabrication des produits de thérapie génique pour garantir la sécurité et la qualité des produits. L'évaluation de ces produits fait intervenir l'évaluation des composants utilisés dans leur fabrication, les tests et la caractérisation du produit final, ainsi que l'évaluation du contrôle du processus de fabrication.

DIAPOSITIVE 7

Les composants utilisés dans la fabrication des produits de thérapie génique comprennent le vecteur, les cellules allogéniques ou autologues pour la transduction ex vivo, les réseaux de banques de cellules utilisées dans la production des produits de thérapie génique, ainsi que les réactifs secondaires permettant de produire le vecteur ou de mettre en culture les cellules du patient.

DIAPOSITIVE 8

En matière d'évaluation du vecteur, les fabricants sont invités à adresser une description de l'historique du vecteur et les détails de la dérivation de la construction du vecteur. Le sponsor doit adresser un diagramme du vecteur exposant les grandes lignes de ses éléments essentiels. La FDA exige à l'heure actuelle une analyse de séquences complète des vecteurs de thérapie génique dont la taille est inférieure à 40 kilobases avant de démarrer un essai clinique.

Pour certains vecteurs plus grands, la FDA encourage l'exécution d'un séquençage complet avant la phase 3 ; mais avant la phase 1, toutefois, elle souhaite avoir un séquençage des régions majeures, telles que les inserts, les régions flanquantes et les régions modifiées. Cette procédure garantit l'absence de séquences inattendues dans le produit de thérapie génique.

La FDA a eu quelques surprises avec plusieurs produits de thérapie génique une fois que le séquençage complet avait été effectué. Par exemple, un gros fragment d'ADN de saumon a été découvert dans un vecteur adénoviral couramment utilisé. Le vecteur provenait des années 1950, quand l'ADN de saumon était utilisé pour précipiter la construction du vecteur initial. Cette séquence d'ADN n'aurait pas été découverte sans séquençage complet du vecteur.

DIAPOSITIVE 9

En ce qui concerne les cellules et les substrats cellulaires utilisés dans la production des produits de thérapie génique, les exigences sont similaires à celles qui s'appliquent à n'importe quel système de production de produits biologiques, par exemple, les exigences de fabrication d'un vaccin, d'une protéine recombinante ou d'un anticorps monoclonal, lorsque la FDA souhaite que les informations sur le substrat comprennent l'historique, la source et les caractéristiques générales du substrat cellulaire.

En matière de cellules autologues ou allogéniques utilisées dans la fabrication des produits à base de cellules génétiquement modifiées ex vivo, la FDA demande des informations sur la source des cellules, la procédure de collecte et le respect des critères d'admissibilité des donneurs.

DIAPOSITIVE 10

Les tests des banques de cellules et des banques de virus sont en accord avec la réglementation générale de la FDA sur les produits biologiques. Les tests de sécurité comprennent les contrôles de stérilité, la recherche de mycoplasme, ainsi que les différents dépistages des virus fortuits, entre autres les deux dépistages généraux des virus, les dépistages in vitro et in vivo des agents fortuits. D'autres tests sont obligatoires pour les virus bovin et porcin si le sérum de veau fœtal et le tripsin utilisés dans la fabrication n'ont pas été testés. La FDA peut demander des tests viraux spécifiques aux espèces pour le type de lignée cellulaire utilisée.

En ce qui concerne les produits de thérapie génique qui sont conçus pour être non répliatifs, on observe parfois des événements de recombinaison durant la fabrication qui généreront un virus apte à la réplication. Ils peuvent être un sujet d'inquiétude. Par conséquent, à chaque phase de fabrication, le sponsor est tenu de tester les virus aptes à la réplication. La FDA a un document d'orientation sur les tests et limites spécifiques.

DIAPOSITIVE 11

La caractérisation des banques de cellules primaires fait intervenir des épreuves relativement basiques d'identité, des analyses d'isoenzymes, des analyses de pureté, des analyses de cellules contaminantes, d'action tumorigène et autres tests, tels que des tests de viabilité.

DIAPOSITIVE 12

En ce qui concerne les tests des banques de virus primaires, la FDA demande une séquence du vecteur et une carte de restriction. Elle examine l'expression des protéines spécifiques du transgène, le titre et les données de stabilité de la banque virale.

DIAPOSITIVE 13

En ce qui concerne les banques de cellules de travail et les banques virales, les tests de sécurité comprennent les contrôles de stérilité, la recherche de mycoplasme, les dépistages des agents fortuits in vitro et les tests des virus aptes à la réplication. Pour la caractérisation, la FDA demande également des épreuves d'identité, des tests de stabilité et autres essais appropriés.

DIAPOSITIVE 14

En ce qui concerne les réactifs utilisés dans la fabrication, la FDA demande une liste des réactifs utilisés, y compris leur source. Si le réactif est d'origine humaine ou animale, des tests supplémentaires peuvent être exigés. La FDA a également besoin de savoir si le réactif est destiné à la recherche ou s'il est à usage humain. En ce qui concerne la fabrication des produits de thérapie génique, des produits de catégorie recherche sont souvent utilisés ; la FDA demande par conséquent un certificat d'analyse pour le réactif. Si un dossier maître réglementaire est disponible, elle demande au fabricant de fournir une lettre du titulaire du dossier maître pour permettre le renvoi à ce dossier. Un programme de qualification doit être en place pour évaluer la qualité des réactifs utilisés dans le processus de fabrication, en particulier si des réactifs de catégorie recherche sont utilisés.

DIAPOSITIVE 15

En matière de fabrication des produits, d'une manière générale, le système de production et de purification des vecteurs est évalué. Si le processus fait intervenir des cellules transduites ex vivo, la FDA évalue la méthode de collecte, de traitement, de culture, les procédures de transduction et toutes autres modifications, telles que l'irradiation et, bien entendu, les conditions de la récolte finale des cellules.

DIAPOSITIVE 16

En ce qui concerne la formulation du produit final, FDA évalue la formulation du tampon et des excipients, la concentration finale du produit à administrer et les conditions de stockage après la formulation finale.

DIAPOSITIVE 17

Les tests du produit final pour les produits biologiques complexes, tels que les produits de thérapies cellulaires et géniques, constituent un défi. L'ingrédient actif n'est pas toujours bien défini et le processus de fabrication comporte un haut degré de variabilité. Par conséquent, les tests du produit final sont axés sur la caractérisation du produit et sur l'uniformité d'un lot à un autre. La FDA demande au fabricant de lui fournir la liste des méthodes de tests de libération et des critères d'acceptation du produit final dans son IND.

DIAPOSITIVE 18

Les tests de sécurité sont courants pour tous les produits biologiques ; les réglementations en donnent un aperçu. Ils comprennent les contrôles de stérilité, la recherche de mycoplasme et d'endotoxines. Pour les produits de thérapie génique, la FDA demande des tests supplémentaires sur les agents fortuits, en raison de la nature de ces produits.

DIAPOSITIVE 19

Ainsi que déjà mentionné, la caractérisation du produit final est un défi pour la réglementation des produits biologiques complexes. Les exigences générales sur les tests de pureté, les épreuves d'identité et les tests d'efficacité du produit final figurent dans les réglementations. Bien entendu, la FDA souhaite également évaluer la stabilité du produit final et la viabilité des cellules si le produit est à base de cellules. Notre approche de la caractérisation du produit pour les produits biologiques complexes est la suivante : à mesure que l'essai clinique progresse, le sponsor doit continuer d'élaborer des méthodes de test afin de mieux caractériser le produit et de mieux définir les critères d'acceptation.

DIAPOSITIVE 20

Cette diapositive illustre de façon plus détaillée la caractérisation du produit final. L'épreuve d'identité peut être relativement simple pour un produit de thérapie génique ; une carte de restriction ou une caractérisation structurelle doit être élaborée. En ce qui concerne la pureté, les principaux soucis ont trait aux impuretés liées aux procédés ; elles comprennent l'ADN résiduel, la protéine ou les réactifs de culture. Pour les vecteurs viraux, un essai doit être en place afin de mesurer le taux de particules infectieuses par rapport au taux de particules non infectieuses.

La stabilité doit être testée au cours de toutes les phases cliniques du développement et au-delà.

DIAPOSITIVE 21

Un test d'efficacité doit indiquer l'activité biologique du produit et doit être quantitatif. La FDA l'exige avant le début de la phase 3. Mais au cours des premières étapes du développement clinique, elle demande aux fabricants d'évaluer le titre viral du produit et d'avoir un test en place pour évaluer l'expression du gène thérapeutique. Cette procédure est effectuée habituellement par la méthode ELISA, s'il s'agit d'un produit thérapeutique à base de protéines.

DIAPOSITIVE 22

Il semble y avoir beaucoup de confusion sur les Bonnes pratiques de fabrication (BPF) et sur le rapport entre la caractérisation du produit et les BPF.

Les Bonnes pratiques de fabrication actuelles (BPFA) sont définies comme un ensemble de méthodes, pratiques ou principes rigoureusement scientifiques, qui sont mis en œuvre et documentés au cours du développement et de la production du produit, pour garantir la fabrication constante de produits qui sont sûrs, purs et actifs.

Bon nombre de fabricants pensent que les BPF consistent simplement à avoir un certain nombre de procédures standard (SOP) en place, à tout consigner et à demander à un second groupe de signer un certificat d'analyse. Mais les BPF ont trait au contrôle du processus de fabrication. Si vous n'identifiez pas de façon précise la pureté et l'activité de votre produit, il sera difficile de garantir que le processus de fabrication permet de fabriquer un produit uniforme. Les produits de thérapie génique, de même que beaucoup d'autres produits biologiques, sont en général très complexes et difficiles à caractériser. C'est pourquoi la FDA a autorisé l'introduction progressive des BPF et des critères de caractérisation durant le développement clinique, en espérant que le fabricant améliorera son contrôle du processus de fabrication à mesure de la progression des essais cliniques.

DIAPOSITIVE 23

L'optimisation des procédures de fabrication évolue en général à mesure de la progression des essais cliniques.

Aux États-Unis, les essais cliniques de phase 1 sont en général exemptés des critères BPF. Ils sont décrits dans le document d'orientation sur les essais cliniques de phase 1. La FDA a recours à une approche progressive de mise en œuvre des BPFA et des critères de caractérisation du produit, qui est illustrée sur cette diapositive.

Des tests de sécurité sont obligatoires avant le début de la phase 1. Ils comprennent les contrôles de stérilité, la recherche de mycoplasme et d'endotoxines, ainsi que les tests viraux. La caractérisation de base devrait être effectuée avant la phase 1, mais la FDA autorise l'introduction progressive des tests d'autorisation de mise en circulation de lots, que ce soit pour les tests effectués en cours de fabrication ou pour les tests finaux. Initialement, les tests d'autorisation de mise en circulation de lots sont principalement

basés sur les données précliniques. Les critères d'acceptation peuvent être quelque peu larges. La caractérisation peut être quelque peu limitée, mais la FDA s'attend à une élaboration, un affinement et un resserrement des critères d'acceptation basés sur les données pendant tout le développement clinique.

Toutes les procédures de tests analytiques doivent être basées sur ce que stipulent les réglementations ou les tests équivalents et doivent être validées par l'homologation. La FDA n'exige pas la validation complète des procédures de test avant l'homologation. Une validation de base est certainement anticipée. Cela s'appelle la qualification des tests durant le développement clinique pour montrer que tous les tests et processus sont spécifiques, sensibles et reproductibles.

DIAPOSITIVE 24

Pour récapituler, la FDA a recours à une approche progressive pour faire appliquer les exigences réglementaires. Les tests de sécurité sont une priorité, de la phase 1 au développement. La caractérisation des produits biologiques complexes est un défi qui, selon la FDA, augmentera pendant le développement clinique. Le sponsor doit également démontrer qu'il contrôle le processus de fabrication en appliquant les pratiques BPF pour garantir un produit sûr et de qualité.

DIAPOSITIVE 25

Ceci conclut la présentation « Fabrication des produits de thérapie génique : garantir la sécurité et la qualité des produits ».

Nous souhaitons remercier les personnes qui ont contribué à son élaboration. Merci.