

①9 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
—
**INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE**
—
COURBEVOIE
—

①1 N° de publication : **3 100 715**
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

②1 N° d'enregistrement national : **19 10075**

⑤1 Int Cl⁸ : **A 61 K 38/17 (2019.01), A 61 P 35/00**

⑫

BREVET D'INVENTION

B1

⑤4 Utilisation de HDL dans la prophylaxie de la maladie du greffon contre l'hôte.

②2 Date de dépôt : 12.09.19.

③0 Priorité :

④3 Date de mise à la disposition du public
de la demande : 19.03.21 Bulletin 21/11.

④5 Date de la mise à disposition du public du
brevet d'invention : 29.09.23 Bulletin 23/39.

⑤6 Liste des documents cités dans le rapport de
recherche :

Se reporter à la fin du présent fascicule

⑥0 Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

○ Demande(s) d'extension :

⑦1 Demandeur(s) : *Etablissement Français du Sang
Etablissement Public Industriel et Commercial —FR,
INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE ET DE LA
RECHERCHE MEDICALE (INSERM) ETABLISSEMENT
PUBLIC NATIONAL A CARACTERE SCIENTIFIQUE ET
TECHNOLOGIQUE FR, CENTRE HOSPITALIER REGIONAL
UNIVERSITAIRE DE BESANCON ETABLISSEMENT
PUBLIC ETABLISSEMENT HOSPITALIER FR et UNIVERSITE
DE FRANCHE COMTE ETABLISSEMENT PUBLIC
NATIONAL A CARACTERE SCIENTIFIQUE, CULTUREL ET
PROFESSIONNEL — FR.*

⑦2 Inventeur(s) : CHAGUÉ Cécile, DAGUINDAU
Etienne et SAAS Philippe.

⑦3 Titulaire(s) : *Etablissement Français du Sang (EPIC),
INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE ET DE LA
RECHERCHE MEDICALE (EPST), CENTRE HOSPITALIER
REGIONAL UNIVERSITAIRE DE BESANCON
ETABLISSEMENT PUBLIC ETABLISSEMENT
HOSPITALIER, UNIVERSITE DE FRANCHE COMTE
(EPSCP).*

⑦4 Mandataire(s) : Lavoix.

FR 3 100 715 - B1



Description

Titre de l'invention : Utilisation de HDL dans la prophylaxie de la maladie du greffon contre l'hôte

- [0001] La présente invention concerne la prévention et/ou le traitement de la maladie du greffon contre l'hôte.
- [0002] L'efficacité curative de la transplantation de cellules hématopoïétiques allogéniques (BMT) est considérablement diminuée par la maladie du greffe contre l'hôte (GvHD) qui entraîne une mortalité et une morbidité significative.
- [0003] La GvHD représente une pathologie pour laquelle la corticothérapie reste à ce jour la première ligne de traitement. Toutefois, d'une part la corticothérapie est associée à de nombreuses complications iatrogènes (diabète, perturbations du métabolisme osseux avec risque de nécroses osseuses aseptiques, hypertension artérielle, dyslipidémie, etc..), et d'autre part, le pronostic est sombre en cas de résistance à ce traitement. Il n'existe pas de consensus de traitement dans ces situations graves et les outils disponibles restent des approches d'immunosuppression interférant avec le cycle cellulaire des lymphocytes T.
- [0004] Il existe donc un besoin important de traitements alternatifs de la GvHD évitant de tels effets secondaires.
- [0005] La présente invention vise à répondre à ce besoin.
- [0006] Les sous-groupes de lymphocytes T du donneur sont reconnus comme étant les médiateurs et effecteurs cellulaires principaux de la GvHD aiguë. Des interactions des lymphocytes T avec les cellules présentatrices d'antigènes (APC) originaires de l'hôte et du donneur sont nécessaires pour atteindre le statut de « lymphocyte T activé alloreactif » générant l'attaque cytotoxique contre les organes cibles. Cependant, le réveil préliminaire des APC par des signaux d'alarme exogènes ou endogènes provenant de cellules blessées ou « en détresse » est critique pour recruter et mener une activation des lymphocytes T efficace. Les signaux exogènes sont un groupe de profils microbiens naturels très répandus appelés « profils moléculaires associés au pathogène » (PAMP) et il est supposé qu'ils sont transloqués à partir du microbiote en cas de faiblesse des barrières naturelles du corps, en particulier la muqueuse intestinale. Parmi ces PAMP, le lipopolysaccharide (LPS) est le plus fortement étudié dans la pathophysiologie de la GvHD.
- [0007] La présente invention résulte de la découverte inattendue par les inventeurs que l'administration répétée de lipoprotéines HDL neutralise les LPS dans le contexte de la GvHD, réduisant la maturation des cellules présentatrices d'antigènes et diminuant l'activation de cellules effectrices de la GvHD, les lymphocytes T Tc1, et diminuant la

survenue et la gravité de la GvHD aiguë.

- [0008] Ainsi, pour la première fois, le traitement proposé ici par les inventeurs, l'administration de HDL, permet de prévenir et traiter la GvHD, sans reposer sur un traitement immunosuppresseur toxique, mais sur une modulation du métabolisme lipidique sans impact sur la qualité de la reconstitution immunitaire post-greffe et avec une toxicité minimale attendue sur les autres organes.
- [0009] Cooke *et al.* (2001) *J. Clin. Invest.* **107** :1581 ont étudié l'utilisation d'un inhibiteur compétitif du LPS, le composé B975, dans un modèle murin de transplantation de moelle osseuse. Contrairement au composé B975, HDL n'est pas un inhibiteur compétitif du LPS mais le neutralise et l'élimine.
- [0010] De plus, les HDL présentent en outre un effet anti-inflammatoire, indépendant du LPS, renforçant encore leur intérêt pour prévenir et/ou traiter la GvHD, une pathologie avec une forte composante inflammatoire.
- [0011] La présente invention concerne ainsi une lipoprotéine de haute densité (HDL), un mimétique de HDL ou un activateur de la formation et/ou de la maturation de HDL pour son utilisation dans la prévention et/ou le traitement de la maladie du greffon contre l'hôte (GvHD) ou du syndrome de relargage des cytokines, chez un sujet.

Description détaillée de l'invention

- [0012] *HDL et activateur de la formation et/ou de la maturation de HDL*
- [0013] Par « lipoprotéine de haute densité » ou « HDL », on entend ici le groupe de particules de lipoprotéines le plus petit et le plus dense.
- [0014] Les HDL sont bien connues de l'homme du métier et sont typiquement des lipoprotéines riches en cholestérol, phospholipides et comprenant les apolipoprotéines A1, A-II, A-IV, C-I, C-II, C-III, et E, de densité comprise entre 1,063 et 1,210 et de diamètre variant entre 5 et 12 nm.
- [0015] Typiquement, les HDL utilisées dans le cadre de l'invention sont isolées de sang de donneur sain, en particulier à partir de plasma de donneur sain, par exemple par des techniques de séparation par ultracentrifugation.
- [0016] Alternativement, les HDL utilisées dans le cadre de l'invention sont reconstituées à partir d'apolipoprotéine A1 purifiée ou recombinante, telle que définie ci-dessous, et de lipides sélectionnés, en particulier de phospholipides de soja.
- [0017] Ainsi, des exemples de HDL pouvant être utilisés dans le cadre de l'invention incluent le CSL111 tel que décrit dans Tardif *et al.* (2007) *JAMA***297** :1675-1682, le CSL112 tel que décrit dans Diditechenko *et al.* (2013) *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **33** :2202-211, le CER-001 tel que décrit dans Tardif *et al.* (2014) *Eur. Heart J.* **35** :3277-3286, l'ETC-216 (aussi appelé MDCO-216, une HDL reconstituée à partir de l'ApoA1_{Milano}).

- [0018] Par « activateur de la formation et/ou de la maturation de HDL », on entend ici un composé induisant, directement ou indirectement, ou potentialisant la formation et/ou la maturation de HDL. Les activateurs de la formation et/ou de la maturation de HDL au sens de l'invention incluent également les inhibiteurs du transfert des esters de cholestérol.
- [0019] Des exemples d'activateur de la formation et/ou de la maturation de HDL incluent la lécithine-cholestérol acyltransférase (LCAT), l'apolipoprotéine A1, les mimétiques de l'apolipoprotéine A1, les inducteurs de l'apolipoprotéine A1 et les inhibiteurs de CETP.
- [0020] Dans un mode de réalisation particulier, l'activateur de la formation et/ou de la maturation de HDL utilisé dans le cadre de l'invention est l'apolipoprotéine A1.
- [0021] Par « apolipoprotéine A1 », on entend ici l'apolipoprotéine codée par le gène *APOA1*. L'apolipoprotéine A1 utilisée dans le cadre de l'invention peut être une apolipoprotéine A1 sauvage ou l'apolipoprotéine A1 mutante ApoA1_{Milano}.
- [0022] Des exemples de mimétique de l'apolipoprotéine A1 incluent les peptides 18A et 2F tels que décrits dans Mendez *et al.* (1994) *J. Clin. Invest.* **94** :1698-1705, le peptide 4F tel que décrit dans Datta *et al.* (2001) *J. Lipid. Res.* **42** :1096-1104, le peptide APL180 (aussi appelé L-4F) tel que décrit dans Navab *et al.* (2010) *Artheroscler. Thromb. Vasc. Biol.* **30** :164-168, le peptide ETC-642 tel que décrit dans Di Bartolo *et al.* (2011) *Atherosclerosis* **217** :395-400, le peptide 37pA tel que décrit dans Mishra *et al.* (1995) *J. Biol. Chem.* **270** :1602-1611, le peptide 5A tel que décrit dans Sethi *et al.* (2008) *J. Biol. Chem.* **283** :32273-32282, le peptide D-4F tel que décrit dans Naval *et al.* (2009) *J. Lipid. Res.* **50** :1538-1547, le peptide 5A-CH tel que décrit dans D'Souza *et al.* (2010) *Circ. Res.* **107** :217-227, le peptide FAMP5 tel que décrit dans Uehara *et al.* (2013) *J. Am. Heart Assoc.* **2** :e000048, les peptides S1A10 et S2A10 tels que décrits dans Sviridov *et al.* (2011) *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **410** :446-421, le peptide 6F tel que décrit dans Chattopadhyay *et al.* (2013) *J. Lipid. Res.* **54** :995-1010, le peptide ATI-5261 tel que décrit dans Bielicki *et al.* (2010) *J. Lipid. Res.* **51** :1496-1503 et la molécule TripA-I telle que décrite dans Graversen *et al.* (2008) *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **51** :170-177.
- [0023] Les inducteurs de l'apolipoprotéine A1 pouvant être utilisés dans le cadre de l'invention sont bien connus de l'homme du métier et incluent les fibrates, tels que le bézafibrate, le ciprofibrate, le fénofibrate et le gemfibrozil ; et l'apabetalone (aussi appelée RVX-208).
- [0024] Les inhibiteurs de CETP pouvant être utilisés dans le cadre de l'invention sont bien connus de l'homme du métier et incluent le torcetrapib, l'anacetrapib, le dalcetrapib et l'evacetrapib.
- [0025] Dans un mode de réalisation particulier, l'activateur de la formation et/ou de la ma-

turation de HDL utilisé dans le cadre de l'invention n'est pas un inhibiteur compétitif des lipopolysaccharides bactériens (LPS).

[0026] Par « mimétique de HDL », on entend ici des molécules mimant la fonction du HDL.

[0027] Des exemples de mimétique de HDL incluent des nanoparticules d'or recouvertes de phospholipides et d'ApoA1 ou de mimétiques d'ApoA1, et des HDL reconstituées à partir de mimétiques d'ApoA1 telles que la molécule ETC-642 décrite dans Di Bartolo *et al.* (2011) *Lipids Health***10** :224.

[0028] *Applications médicales*

[0029] La présente invention concerne une lipoprotéine de haute densité (HDL) telle que définie dans la section « *HDL et activateur de la formation et/ou de la maturation de HDL* » ci-dessus, un mimétique de HDL tel que défini dans la section « *HDL et activateur de la formation et/ou de la maturation de HDL* » ci-dessus, ou un activateur de la formation et/ou de la maturation de HDL tel que défini dans la section « *HDL et activateur de la formation et/ou de la maturation de HDL* » ci-dessus, pour son utilisation dans la prévention et/ou le traitement de la maladie du greffon contre l'hôte (GvHD) ou du syndrome de relargage des cytokines, chez un sujet.

[0030] La présente invention a également pour objet l'utilisation d'une lipoprotéine de haute densité (HDL) telle que définie dans la section « *HDL et activateur de la formation et/ou de la maturation de HDL* » ci-dessus, d'un mimétique de HDL tel que défini dans la section « *HDL et activateur de la formation et/ou de la maturation de HDL* » ci-dessus, ou d'un activateur de la formation et/ou de la maturation de HDL tel que défini dans la section « *HDL et activateur de la formation et/ou de la maturation de HDL* » ci-dessus, pour la fabrication d'un médicament destiné à la prévention et/ou au traitement de la maladie du greffon contre l'hôte (GvHD) ou du syndrome de relargage des cytokines, chez un sujet.

[0031] Un autre objet de l'invention concerne une méthode de prévention et/ou de traitement de la maladie du greffon contre l'hôte (GvHD) ou du syndrome de relargage des cytokines, comprenant l'administration d'une quantité thérapeutiquement efficace d'une lipoprotéine de haute densité (HDL) telle que définie dans la section « *HDL et activateur de la formation et/ou de la maturation de HDL* » ci-dessus, d'un mimétique de HDL tel que défini dans la section « *HDL et activateur de la formation et/ou de la maturation de HDL* » ci-dessus, ou d'un activateur de la formation et/ou de la maturation de HDL tel que défini dans la section « *HDL et activateur de la formation et/ou de la maturation de HDL* » ci-dessus, chez un sujet qui en a besoin.

[0032] Par « traitement » ou « traiter », on entend ici atteindre, partiellement ou substantiellement, un ou plusieurs des résultats suivants : réduire partiellement ou totalement l'étendue de la maladie, améliorer un symptôme clinique ou un indicateur associé à la maladie, retarder, inhiber ou prévenir la progression de la maladie, ou partiellement ou

totale­ment retarder, inhiber ou pré­venir la sur­venue d'une rechute de la ma­ladie.

[0033] Dans le cadre de l'invention, le terme « pré­vention » ou « pré­venir » se réfère à n'im­porte quel indice de suc­cès pour proté­ger un sujet ou d'un pa­tient (par exemple un sujet ou un pa­tient à risque de dé­velop­per une ma­ladie) du dé­velop­pe­ment, du fait de con­tracter ou d'avoir une ma­ladie, y compris la pré­vention d'un ou plu­sieurs symp­tômes de la ma­ladie.

[0034] Par « sujet », on entend ici un mam­mifère, de pré­férence un hu­main. De pré­férence, le sujet traité dans le cadre de l'invention souffre d'un cancer, en par­ticu­lier une hé­mo­pa­thie ma­ligne (telle qu'une leucémie, un lym­phome ou un myé­lome), ou d'un trouble hé­ma­to­logique non-malin tel qu'un dé­ficit im­muni­taire pri­mitif, une aplasie mé­dul­laire ou une myé­lo­dys­plasie.

[0035] Par « ma­ladie du greffon contre l'hôte » ou « GvHD » ou « GvH » ou « ré­ac­tion du greffon contre l'hôte », on entend ici toute ré­ponse im­muni­taire à mé­dia­tion par les lym­phocytes T dans laquelle les lym­phocytes du donneur ré­agissent vis-à-vis des an­ti­gènes de l'hôte, typiquement après une greffe de moelle osseuse ou allogreffe de cellules hé­ma­to­poïétiques.

[0036] La GvHD est définie par son caractère « aigu » ou « chronique » selon son délai de sur­venue et surtout le type de manifestations cliniques qui regroupent respectivement une sémiologie inflammatoire ou fibrosante. Une forme appelée « *overlap syndrom* » caractérise une GvHD qui regroupe des caractéristiques de GvHD aiguë et chronique. La sévérité de la GvHD aiguë peut varier de légère à très grave. De façon usuelle, la sévérité de la GvHD chronique se définit quant à elle par son caractère « limité ou extensif ».

[0037] La GvHD aiguë apparaît le plus souvent au cours des 100 premiers jours qui suivent l'allogreffe. Elle affecte souvent la peau, le foie et l'intestin, mais elle peut aussi toucher d'autres organes. La GvHD aiguë peut être classée selon la gravité des symptômes :

- [0038]
- grade 1 : symptômes légers,
 - grade 2 : symptômes modérés,
 - grade 3 : symptômes graves,
 - grade 4 : symptômes très graves.

[0039] Les symptômes de la GvHD aiguë incluent typiquement les symptômes suivants : sensation de brûlure et rougeur de la peau de la paume des mains ou de la plante des pieds, éruptions cutanées qui peuvent se propager au corps entier, ampoules et desquamation, anorexie, nausées, vomissements, douleurs abdominales, diarrhée associée à une malabsorption, cytolys­e hé­pa­tique associée à un ic­tère, les anomalies hé­pa­tiques pouvant aller jusqu'à une insuffisance hé­pa­to­cellulaire.

[0040] La GvHD chronique apparaît classiquement à partir du 3^{ème} mois après l'allogreffe.

Elle peut durer quelques mois ou toute la vie. La GvHD chronique peut se produire juste après une GvHD aiguë ou une période sans symptômes. Les symptômes de la GvHD chronique incluent typiquement les symptômes suivants : troubles de la peau comme la sécheresse, les éruptions cutanées, les démangeaisons, la desquamation, poikilodermie, perte des propriétés élastiques de la peau aboutissant à un tableau de sclérodermie plus ou moins étendu. Un syndrome sec muqueux et/ou ophtalmique est souvent présent traduit par une sensation de brûlure/corps étranger dans les yeux, xérostomie (sécheresse buccale) accompagnée ou non de lichen ou ulcères buccaux. Sur le plan digestif, la GvHD chronique se manifeste par une anorexie, douleurs abdominales, diarrhée, nausées/vomissements. De nombreux autres organes peuvent être atteints comme les poumons (fibrose pulmonaire) ou le système musculo-squelettique (polyarthrites, crampes). Il est à noter que la GvHD chronique extensive est fréquemment associée à un défaut de reconstitution immunitaire exposant le patient à des complications infectieuses opportunistes.

- [0041] Dans un mode de réalisation particulier, la GvHD prévenue ou traitée dans le cadre de l'invention est la GvHD aiguë.
- [0042] Comme indiqué ci-dessus, une GvHD se produit typiquement après une greffe de cellules hématopoïétiques.
- [0043] Ainsi, dans un mode de réalisation particulier, pour prévenir ou traiter la GvHD, en particulier la GvHD aiguë, le sujet à traiter a subi ou va subir une greffe, en particulier une allogreffe, de cellules hématopoïétiques.
- [0044] Plus particulièrement, dans un mode de réalisation particulier visant à prévenir la GvHD, le sujet à traiter va subir une greffe, en particulier une allogreffe, de cellules hématopoïétiques.
- [0045] Dans un mode de réalisation alternatif visant à traiter la GvHD, le sujet à traiter a subi une greffe, en particulier une allogreffe, de cellules hématopoïétiques.
- [0046] Par « syndrome de relargage des cytokines » ou « CRS », on entend ici une réponse inflammatoire systématique qui peut être déclenchée par différents facteurs tels que des infections et certains médicaments. Le CRS est ainsi typiquement observé comme effet secondaire après l'administration de thérapies à base d'anticorps, d'anticancéreux non-protéiques, après l'administration de lymphocytes T à récepteur antigénique chimérique (CAR-T), mais aussi après une greffe de moelle osseuse ou une GvHD. Ce syndrome se caractérise typiquement par une dyspnée sévère, avec bronchospasme et hypoxie, associée à de la fièvre, des frissons, des tremblements, de l'urticaire et des angio-oedèmes, et peut conduire à une insuffisance respiratoire aiguë et au décès.
- [0047] Ainsi, dans un mode de réalisation particulier visant la prévention et/ou le traitement du CRS, le sujet à traiter a été traité ou est traité avec des agents anticancéreux, en particulier des anticorps anticancéreux, ou avec des cellules CAR-T, ou a subi ou va subir

une greffe de cellules hématopoïétiques.

[0048] Dans un mode de réalisation préféré visant à prévenir et/ou traiter le syndrome de relargage des cytokines, le sujet à traiter est traité ou a été traité avec des lymphocytes T à récepteur antigénique chimérique (CAR-T).

[0049] La lipoprotéine de haute densité (HDL) telle que définie dans la section « *HDL et activateur de la formation et/ou de la maturation de HDL* » ci-dessus, le mimétique de HDL tel que défini dans la section « *HDL et activateur de la formation et/ou de la maturation de HDL* » ci-dessus, ou l'activateur de la formation et/ou de la maturation de HDL tel que défini dans la section « *HDL et activateur de la formation et/ou de la maturation de HDL* » ci-dessus est typiquement administré au sujet qui en a besoin dans une quantité thérapeutiquement efficace.

[0050] Par « quantité thérapeutiquement efficace », on entend ici une quantité de principe actif suffisante pour détruire, modifier, contrôler ou éliminer la maladie. Une « quantité thérapeutiquement efficace » désigne aussi une quantité de principe actif permettant de retarder ou minimiser l'étendue de la maladie. Elle se réfère également à la quantité de principe actif fournissant un bénéfice thérapeutique dans le traitement ou la prise en charge de la maladie. Enfin, l'expression « quantité thérapeutiquement efficace » signifie une quantité de principe actif, seul, ou en combinaison avec d'autres thérapies, qui fournit un bénéfice thérapeutique dans le traitement ou la prise en charge de la maladie, incluant une amélioration des symptômes associés à la maladie.

[0051] La quantité thérapeutiquement efficace dépend naturellement de l'actif considéré, du mode d'administration, de l'indication thérapeutique, de l'âge du patient et de son état.

[0052] Avantagement, le composé actif utilisé dans le cadre de l'invention se trouve sous la forme d'une composition pharmaceutique éventuellement comprenant en outre un excipient pharmaceutiquement acceptable.

[0053] Par "pharmaceutiquement acceptable", on entend ici des compositions et entités moléculaires qui ne produisent pas de réactions secondaires, allergiques ou autrement non-désirées quand elles sont administrées à un sujet. Un excipient ou véhicule pharmaceutiquement acceptable est ainsi une matière encapsulante, un diluant, un support, ou tout autre auxiliaire de formulation liquide, semi-solide ou solide non-toxique.

[0054] Les compositions pharmaceutiques utilisées dans le cadre de l'invention sont typiquement préparées afin de s'adapter au mode d'administration. Les excipients pharmaceutiques acceptables sont typiquement déterminés en partie par la composition administrée, ainsi que par la technique particulière utilisée pour administrer la composition.

[0055] Le dosage des composés à administrer dépend du cas individuel et, comme il est bien connu de l'homme du métier, doit être adapté aux circonstances individuelles pour obtenir une quantité thérapeutique efficace et un effet optimum. Le niveau de dose thé-

rapeutiquement efficace est spécifique pour tout patient, et dépendra en particulier d'une variété de facteurs, y compris le trouble qui est traité et la sévérité du trouble, l'activité du composé spécifique utilisé; la composition spécifique employée, l'âge, le poids corporel, la santé générale, le sexe et le régime alimentaire du patient, le temps d'administration, la voie d'administration, et le taux d'excrétion du composé spécifique utilisé, la durée du traitement, les médicaments utilisés en combinaison avec le composé spécifique employé, et des facteurs analogues bien connus du domaine médical. Par exemple, il est bien connu pour l'homme de l'art de commencer à des doses du composé à des niveaux inférieurs à ceux requis pour atteindre l'effet thérapeutique souhaité et d'augmenter progressivement la posologie jusqu'à ce que l'effet souhaité soit obtenu.

- [0056] La dose quotidienne peut être administrée en une seule dose ou, en particulier lorsque de plus grandes quantités sont administrées, être divisée en plusieurs doses individuelles.
- [0057] Le dosage de la substance active dépend particulièrement du mode d'administration, et est aisément déterminé par l'homme de métier. Une quantité thérapeutiquement (dose unitaire) efficace de composé peut varier de 0,01 mg/kg à 500 mg/kg, préféralement de 0,1 mg/kg à 500 mg/kg, préféralement de 0,1 mg/kg à 250 mg/kg, préféralement de 0,1 mg/kg à 100 mg/kg, préféralement de 0,1 mg/kg à 50 mg/kg, et plus préféralement de 1 mg/kg à 20 mg/kg, en une ou plusieurs administrations hebdomadaire, pendant plusieurs semaines ou mois. La dose unitaire efficace peut donc aisément être déduite d'une dose calculée pour un patient « moyen » dont le poids est de 70 kg.
- [0058] Typiquement, la lipoprotéine de haute densité (HDL) telle que définie dans la section « *HDL et activateur de la formation et/ou de la maturation de HDL* » ci-dessus, le mimétique de HDL tel que défini dans la section « *HDL et activateur de la formation et/ou de la maturation de HDL* » ci-dessus, ou l'activateur de la formation et/ou de la maturation de HDL tel que défini dans la section « *HDL et activateur de la formation et/ou de la maturation de HDL* » ci-dessus est administré à une dose de 20 mg/kg.
- [0059] Dans un mode de réalisation particulier, la HDL telle que définie dans la section « *HDL et activateur de la formation et/ou de la maturation de HDL* » ci-dessus, le mimétique de HDL tel que défini dans la section « *HDL et activateur de la formation et/ou de la maturation de HDL* » ci-dessus, ou l'activateur de la synthèse de HDL tel que défini dans la section « *HDL et activateur de la formation et/ou de la maturation de HDL* » ci-dessus est administré de manière répétée, de préférence tous les deux jours.
- [0060] Dans un mode de réalisation particulier, lorsque le sujet à traiter va subir une greffe de cellules hématopoïétiques, la HDL telle que définie dans la section « *HDL et ac-*

tivateur de la formation et/ou de la maturation de HDL » ci-dessus, le mimétique de HDL tel que défini dans la section « *HDL et activateur de la formation et/ou de la maturation de HDL* » ci-dessus, ou l'activateur de la formation et/ou de la maturation de HDL tel que défini dans la section « *HDL et activateur de la formation et/ou de la maturation de HDL* » ci-dessus est administré avant la greffe de cellules hématopoïétiques, de préférence pendant la phase de conditionnement, typiquement 7 jours avant la greffe de cellules hématopoïétiques.

- [0061] De préférence, la HDL telle que définie dans la section « *HDL et activateur de la formation et/ou de la maturation de HDL* » ci-dessus, le mimétique de HDL tel que défini dans la section « *HDL et activateur de la formation et/ou de la maturation de HDL* » ci-dessus, ou l'activateur de la formation et/ou de la maturation de HDL tel que défini dans la section « *HDL et activateur de la formation et/ou de la maturation de HDL* » ci-dessus est administré avant la greffe de cellules hématopoïétiques, comme défini ci-dessus, et est de nouveau administré après la greffe de cellules hématopoïétiques, typiquement 1 à 3 jours après la greffe de cellules hématopoïétiques, en particulier 1 jour après la greffe de cellules hématopoïétiques, plus particulièrement de manière répétée entre 1 et 24 jours après la greffe de cellules hématopoïétiques.
- [0062] Alternativement, la HDL telle que définie dans la section « *HDL et activateur de la formation et/ou de la maturation de HDL* » ci-dessus, le mimétique de HDL tel que défini dans la section « *HDL et activateur de la formation et/ou de la maturation de HDL* » ci-dessus, ou l'activateur de la formation et/ou de la maturation de HDL tel que défini dans la section « *HDL et activateur de la formation et/ou de la maturation de HDL* » ci-dessus commence à être administré après la greffe de cellules hématopoïétiques, typiquement 1 à 7 jours après la greffe de cellules hématopoïétiques, typiquement 1 jour après la greffe de cellules hématopoïétiques, plus particulièrement de manière répétée entre 1 et 24 jours après la greffe de cellules hématopoïétiques.
- [0063] Les compositions utilisées dans le cadre de l'invention peuvent être sous forme solide, liquide ou semi-solide, adaptée aux diverses voies d'administration (orale, rectale, nasale, intra oculaire, locale (par exemple, topique, transdermique, buccale, vaginale ou sublinguale) ou parentérale (par exemple sous-cutanée, intramusculaire, intraveineuse ou intradermique)).
- [0064] De préférence, la HDL, le mimétique de HDL ou l'activateur de la formation et/ou de la maturation de HDL est administré par voie intraveineuse.
- [0065] Les formulations intraveineuses contiennent la substance active dissoute, en suspension ou émulsionnée dans un véhicule stérile, éventuellement en présence d'agents émulsifiants, des stabilisants, des agents tampons et d'autres additifs classiques ; elles sont normalement réparties dans des fioles ou des flacons pour perfusion, et peuvent être stockées sous forme de produits secs à reconstituer avec de

l'eau ou avec un véhicule approprié avant utilisation.

[0066] Les compositions pharmaceutiques solides peuvent être des comprimés, des gélules, des poudres, des granules, des pilules, des poudres à reconstituer etc... ; elles peuvent contenir des excipients classiques tels que des liants, des charges, des diluants, des agents de compression, des lubrifiants, des détergents, des colorants, des agents aromatisants et des agents mouillants. Les comprimés peuvent être enrobés conformément à des procédés bien connus dans le domaine technique. Des charges appropriées incluent la cellulose, le mannitol, le lactose et d'autres agents similaires.

[0067] Les compositions liquides pour administration orale peuvent être sous forme de suspensions aqueuses ou huileuses, de solutions, d'émulsions, de sirops ou d'élixirs ou peuvent être présentées sous forme de produits secs pour reconstitution avec de l'eau ou un véhicule approprié avant utilisation; Elles peuvent contenir des additifs classiques, par exemple des agents de suspension tels que le sorbitol, le sirop, la méthylcellulose, la gélatine, l'hydroxyéthylcellulose, la carboxyméthylcellulose, un gel de stéarate d'aluminium ou des matières grasses comestibles hydrogénées, des émulsifiants tels que la lécithine, le monooléate de sorbitane ou la gomme arabique; des transporteurs non aqueux (qui peuvent comprendre des huiles comestibles) tels que l'huile d'amande, l'huile de noix de coco fractionnée, des esters huileux comme des esters de glycérine, de propylène glycol ou d'alcool éthylique; des conservateurs tels que méthyle ou de propyle p-hydroxybenzoate ou l'acide sorbique et, si cela est désiré, des agents aromatisants ou colorants classiques.

[0068] Dans le cadre de la présente demande, le terme « comprenant » doit être interprété comme couvrant toutes les caractéristiques spécifiquement mentionnées, ainsi qu'éventuellement certaines non-spécifiées additionnelles. Par ailleurs, l'utilisation du terme « comprenant » décrit également le monde de réalisation dans lequel aucune caractéristique autre que celles spécifiques mentionnées n'est présente (*i.e.* « consistant en »).

[0069] La présente invention sera décrite plus en détail par les figures et exemples ci-dessous.

Exemples

Exemple 1

[0070] Dans cet exemple, les inventeurs montrent que la perfusion de lymphocytes T allogéniques induit une translocation précoce du LPS ainsi qu'une neutralisation plus faible des propriétés inflammatoires du LPS.

[0071] Dans un modèle murin établi de GvHD, qui consiste en des receveuses BALB/c irradiées de manière létale (8,5 Gy) et greffées avec 5×10^6 moelle osseuse déplétées en lymphocytes T et 1×10^6 lymphocytes T spléniques de donneuses BALB/c

(syngéniques, syng) ou C57Bl/6 (allogéniques, allo), l'acide 3-hydroxymyristique (3HM) – l'acide gras hydroxylé le plus commun trouvé dans le lipide A LPS – a été quantifié dans le plasma et la bile des souris receveuses 3 et 6 jours après la transplantation de moelle osseuse (BMT) en utilisant la chromatographie Endoquant® couplée avec la technologie de spectrométrie de masse (Plasma : n=26-32 souris/groupe de 6 expériences indépendantes, post-test de Kruskal-Wallis et de Dunn, * : p = 0.0234, ** : p = 0.003, **** : p < 0.0001 : Bile : n=10-21 souris/groupe de 3 expériences indépendantes, post-test d'ANOVA unidirectionnelle et de Bonferroni, * : p=0.0135, ** : p=0.0029, **** : p<0.0001) ([fig.1]).

[0072] Les inventeurs ont observé que la forme soluble de CD14 (sCD14) était augmentée dans le plasma de souris allo-receveuses à j+15 après la transplantation (n=6-15 souris/groupe d'une expérience, post-test de Kruskal-Wallis et de Dunn, p=0.003 versus naïve et p=0.0054 versus syng) ([fig.2]).

[0073] Les propriétés pro-inflammatoires restantes du LPS ont été estimées dans le plasma des souris receveuses. Brièvement, des cellules reportrices HEK-Blue TLR/CD14/MD-2 ont été cultivées en présence de 0.5% de plasma et 0.01 EU/ml de LPS standard. Les inventeurs ont montré qu'à j+3 après la transplantation, le plasma des souris allo-receveuses présentait une activité neutralisante de LPS commercial additionné à une concentration connue (0,01 EU/mL, Invivogen) diminuée de 21,56% par rapport aux souris naïves. A j+6, la diminution était égale à 14% (n=11-16 souris/groupe de 2 expériences indépendantes, post-test d'ANOVA unidirectionnelle et de Bonferroni, ** : p=0.0041) ([fig.3]).

Exemple 2

[0074] Dans cet exemple, les inventeurs montrent que la capacité de neutralisation diminuée semble être due à un transport inverse de LPS altéré chez les souris allo-receveuses.

[0075] La transport inverse de LPS (RLT) est une voie métabolique analogue à celle du transport inverse de cholestérol dans laquelle les substances lipophiles sont transportées au foie par des lipoprotéines (principalement HDL) afin d'être recyclées ou éliminées dans la bile.

[0076] La protéine de transfert de phospholipide (PLTP) est un acteur important du RLT capable de charger le LPS sur la HDL. Les inventeurs ont montré que son activité, mesurée par un kit disponible commercialement, était légèrement diminuée par l'irradiation totale du corps (j+3 après la transplantation) et par l'administration de lymphocytes T allogéniques (j+6) (n=18-21 souris/groupe de 3 expériences indépendantes, post-test d'ANOVA unidirectionnelle et de Bonferroni, **** : p<0.0001) ([fig.4]).

[0077] Néanmoins, les inventeurs ont mis en évidence que l'activité PLTP n'était pas l'effecteur majeur dans le contexte de la GvHD dans la mesure où son absence totale

n'empirait pas la survie des souris allo-greffées. Dans ce modèle, des souris C57Bl/6 irradiées de manière létale (10 Gy) Pltp+/+ ou Pltp-/- ont été greffées avec 20×10^6 moelle osseuse et 5×10^6 lymphocytes T spléniques de donneurs C57Bl/6 (syngéniques, syng) ou C3H (allogéniques, allo) (n=12-17 souris/groupe de 2 expériences indépendantes, test de log-rank, p=0.5338) ([fig.5]).

[0078] Les inventeurs ont montré que le facteur limitant principal semblait être la disponibilité des transporteurs de LPS dans la mesure où une chute précoce (j+6) de la concentration plasmatique en HDL a été observée dans deux modèles de souris GvHD. La [fig.6] figure 6 montre les résultats obtenus avec le modèle C57Bl/6→BALB/c (n=3-11 souris/groupe de 2 expériences indépendantes, post-test de Kruskal-Wallis et de Dunn, p=0.0021 versus naïve et p=0.0018 versus syng).

Exemple 3

[0079] Dans cet exemple, les inventeurs montrent que la perte de la synthèse d'apolipoprotéine et d'HDL circulante augmente la gravité de la GvHD.

[0080] Afin d'étudier l'effet prépondérant du HDL dans le RLT dans le contexte d'une GvHD, des souris C57Bl/6 irradiées de manière létale (10 Gy) exprimant (WT) ou non (*ApoA1^{tm1Unc}*) le gène de l'apolipoprotéine A1 (ApoA1) ont été greffées avec 20×10^6 moelle osseuse et 5×10^6 lymphocytes T spléniques de donneurs C57Bl/6 (syngéniques, syng) ou C3H (allogéniques, allo).

[0081] ApoA1 est l'apolipoprotéine majeure pour la mise en forme du HDL et les inventeurs ont montré que son absence aggravait la chute du HDL dans les souris allo-receveuses ApoA1tm1Unc (j+6), menant à presque aucun HDL circulant dans le plasma (0.067 g/l) (n=6 souris/groupe de 2 expériences indépendantes, test de Mann-Whitney, ** : p=0.0022) ([fig.7]).

[0082] Les inventeurs ont montré que l'absence de HDL chez les souris allo-receveuses exacerbat la mortalité et la gravité de la GvHD après transplantation (n=9-19 souris/groupe de 3 expériences indépendantes, test du log-rank pour la survie, *** P = 0,0003 et post-tests de Kruskal-Wallis et de Dunn sur l'ASC pour le score clinique, ** P = 0,0029) ([fig.8]).

[0083] Les inventeurs ont enfin montré que l'absence de HDL semblait être associée à une capacité altérée de neutralisation des LPS, évaluée par la méthode des cellules rapporteurs HEK-Blue TLR4 / CD14 / MD-2 (données préliminaires, n=3 souris/groupe de 1 expérience) ([fig.9]).

Exemple 4

[0084] Dans cet exemple, les inventeurs montrent que la perte de la synthèse d'apolipoprotéine ApoA1 et d'HDL circulant accélère la maturation des cellules dendritiques et favorise la production d'IFN- γ par les lymphocytes T dans la rate.

- [0085] La maturation des cellules dendritiques conventionnelles (DC) ([fig.10]) et la polarisation des lymphocytes T ([Figure 11]) ont été évaluées, par cytométrie en flux 6 jours après la transplantation, au niveau de la rate de souris C57Bl/6 irradiées de manière létale (10 Gy) exprimant (WT) ou non (*Apo1tm1Unc*) le gène de ApoA1 et greffées avec 20×10^6 moelle osseuse et 5×10^6 lymphocytes T spléniques provenant de donneurs C57Bl/6 (syngéniques, syng) ou C3H (allogéniques, allo).
- [0086] Les inventeurs ont montré que le nombre absolu de DC CD3⁺CD19⁺CD11c⁺IA-IE⁺ vivantes était significativement augmenté dans la rate des souris receveuses *Apo1tm1Unc*. Ces DC présentent une expression accrue des marqueurs de maturation (CD80 et CD86) par rapport aux DC de souris allo-greffées WT en ce qui concerne le pourcentage de cellules exprimantes et le nombre absolu de cellules, ainsi que le niveau d'expression de CD86 et des molécules du CMH de classe II apprécié par l'intensité moyenne de fluorescence (Figure 10).
- [0087] Les inventeurs ont également montré que le nombre absolu de lymphocytes T CD3⁺ spléniques vivantes était augmenté chez les receveuses *Apo1tm1Unc*. Les proportions de cellules exprimant l'IFN- γ parmi les cellules CD3⁺CD4⁺ (lymphocytes Th1) et les cellules CD3⁺CD8⁺ (lymphocytes Tc1) étaient plus élevées chez les receveurs *Apo1tm1Unc* et représentaient un nombre de cellules absolu supérieur après 4 heures de stimulation au phorbol-myristate-acétate/ionomycine (Figure 11) (n = 11-12 souris/groupe de 3 expériences indépendantes, test t non apparié ou test de Mann-Whitney, * P <0,05, ** P <0,01, *** P <0,001).

Exemple 5

- [0088] Dans cet exemple, les inventeurs montrent que la perfusion d'HDL réduit l'intensité de la GvHD et neutralise le LPS disponible.
- [0089] Pour tester l'intérêt de l'utilisation prophylactique de la perfusion de HDL pour modérer la gravité de la GvHD, des receveuses BALB/c irradiées de manière létale (8,5 Gy) greffés avec 5×10^6 moelle osseuse déplétée en cellules T et 1×10^6 lymphocytes T spléniques de donneurs BALB/c (syngéniques, syng) ou C57Bl/6 (allogéniques, allo) ont été traitées par perfusion intraveineuse de HDL isolé à partir de plasma humain (20 mg/kg de poids corporel) trois fois par semaine entre j-1 et j+24 après la transplantation.
- [0090] Les inventeurs ont montré que la perfusion de HDL réduisait la mortalité et la gravité de la GvHD chez les souris allo-greffées (n=19-39 souris/groupe de 4 expériences indépendantes, test de log-rank pour la survie et post-test ANOVA unidirectionnelle et de Bonferroni sur l'ASC pour le score clinique, **** p <0,0001) ([fig.12]).
- [0091] Les inventeurs ont également montré que la perfusion de HDL isolé rétablissait le niveau de HDL en circulation à j+6 (n=10-11 souris/groupe de 3 expériences indépendantes, test de Mann-Whitney, * P = 0,0232) ([fig.13]).

[0092] Les inventeurs ont enfin montré que la perfusion de HDL semblait diminuer la concentration de 3HM dans le plasma et la bile des souris allo-greffées (n=9-13 souris/groupe de 4 expériences indépendantes, test de Mann-Whitney). Les niveaux plasmatique et biliaire de 3HM étaient fortement corrélés à la concentration de HDL circulant (n = 26 et 19 paires respectivement, test de corrélation de Spearman non paramétrique, **** p <0,0001) ([fig.14]). Les concentrations de 3HM détectées par la technique Endoquant® représentent la quantité totale de LPS présente dans les liquides biologiques.

Exemple 6

[0093] Dans cet exemple, les inventeurs présentent des données préliminaires montrant que la perfusion d'HDL pourrait limiter l'inflammation systémique associée à la GvHD aiguë.

[0094] Les données préliminaires obtenues par les inventeurs suggèrent qu'une perfusion intraveineuse de HDL isolé à partir de plasma humain (20 mg/kg de poids corporel) trois fois par semaine pourrait diminuer l'inflammation systémique provoquée par la GvHD aiguë chez des receveuses BALB/c irradiées de manière létale (8,5 Gy) greffées avec 5×10^6 moelle osseuse déplétée en lymphocytes T et 1×10^6 lymphocytes T spléniques provenant de donneurs C57Bl/6 (allo).

[0095] Les inventeurs ont montré que la perfusion de HDL semblait limiter le niveau plasmatique du biomarqueur intestinal de la GvHD aiguë REG-3 γ à j+15 après la transplantation (n=8 souris/groupe de 1 expérience) ([fig.15]).

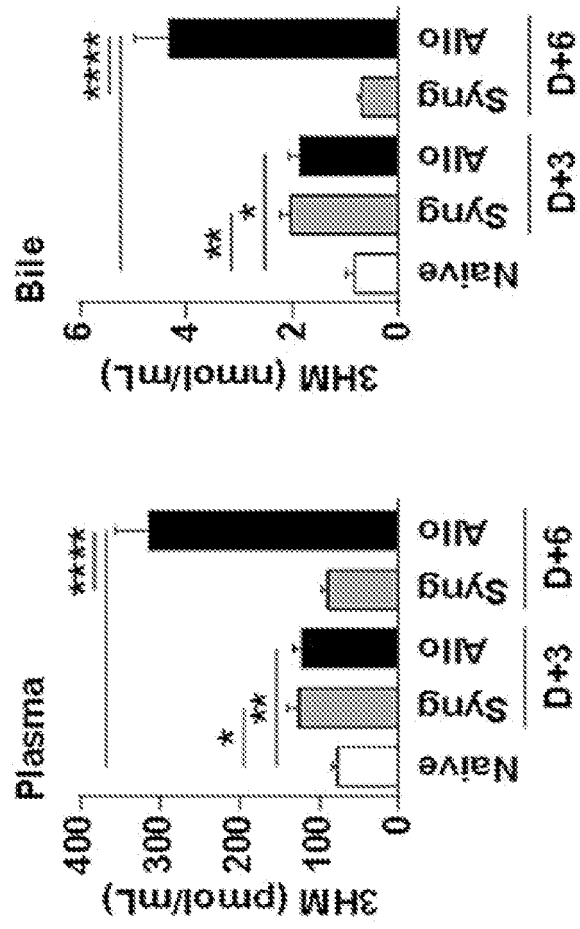
[0096] Les inventeurs ont également montré que les taux de cytokines inflammatoires circulantes avaient tendance à être diminués par la perfusion de HDL : l'interleukine-6 (IL-6) était deux fois plus faible à j+6 (n=4 souris/groupe de 1 expérience) et le facteur de nécrose tumorale- α (TNF- α) est diminué de 30% à j+15 (n=3 souris/groupe de 1 expérience) ([fig.16]).

[0097] Les inventeurs ont enfin montré que les niveaux de CD14 soluble (sCD14) étaient légèrement diminués dans le plasma des souris recevant une perfusion de HDL (-20% à j+6 et -60% à j+15) (n=3 souris/groupe de 1 expérience) (). Le CD14 soluble est un biomarqueur inflammatoire, car il est régulé positivement par la stimulation du LPS et reflète l'activation de TLR4/MD2/CD14 (récepteur du LPS). Le CD14 soluble peut également faciliter le transfert de LPS au HDL.

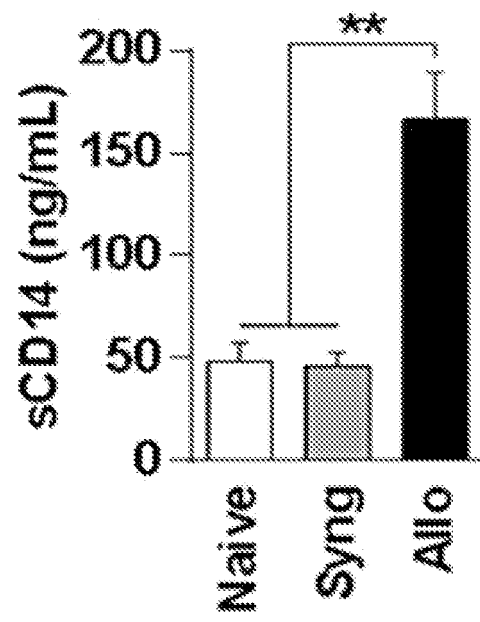
Revendications

- [Revendication 1] Lipoprotéine de haute densité (HDL) ou mimétique de HDL, pour son utilisation dans la prévention et/ou le traitement de la maladie du greffon contre l'hôte (GvHD) ou du syndrome de relargage des cytokines, chez un sujet.
- [Revendication 2] HDL ou mimétique de HDL, pour son utilisation selon la revendication 1, dans lequel la HDL est isolée de sang de donneur sain.
- [Revendication 3] HDL ou mimétique de HDL, pour son utilisation selon l'une des revendications 1 à 2, dans lequel la GvHD est la GvHD aiguë.
- [Revendication 4] HDL ou mimétique de HDL, pour son utilisation selon l'une des revendications 1 à 3, pour traiter la GvHD, dans lequel le sujet a subi une greffe de cellules hématopoïétiques.

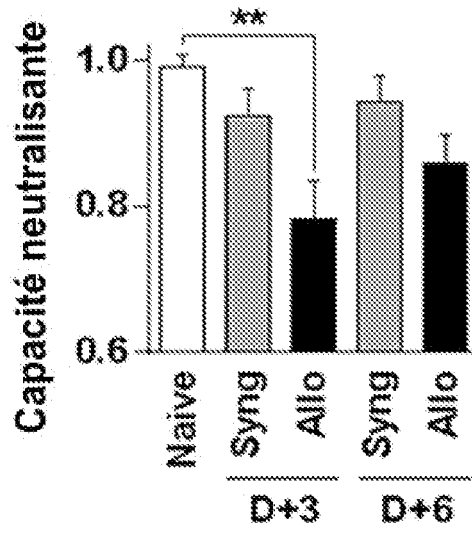
[Fig. 1]



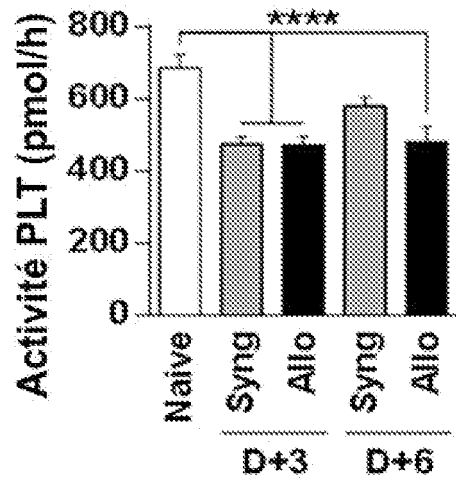
[Fig. 2]



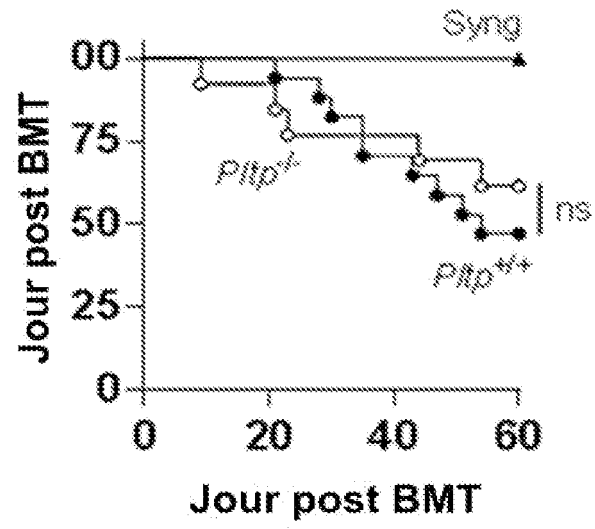
[Fig. 3]



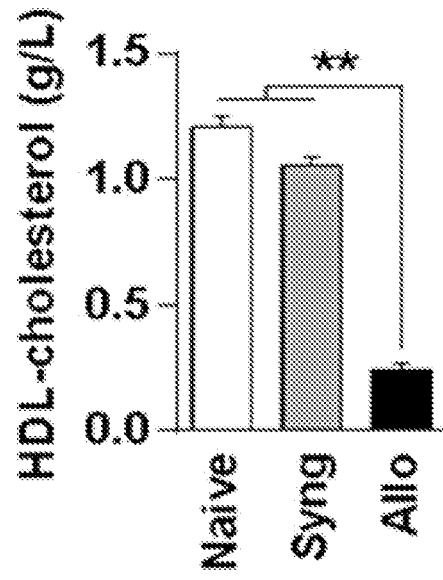
[Fig. 4]



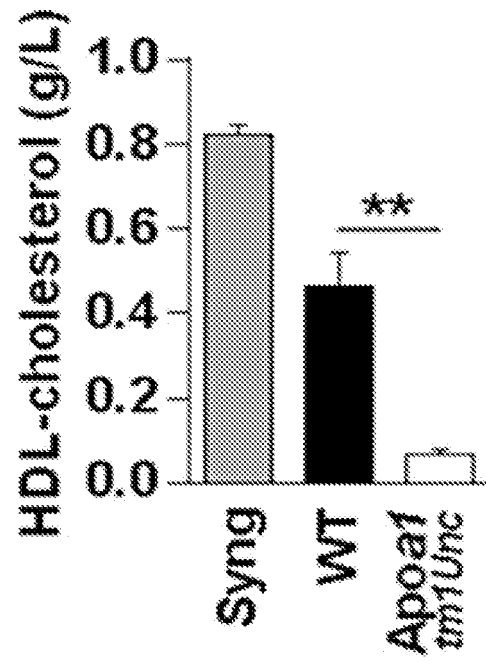
[Fig. 5]



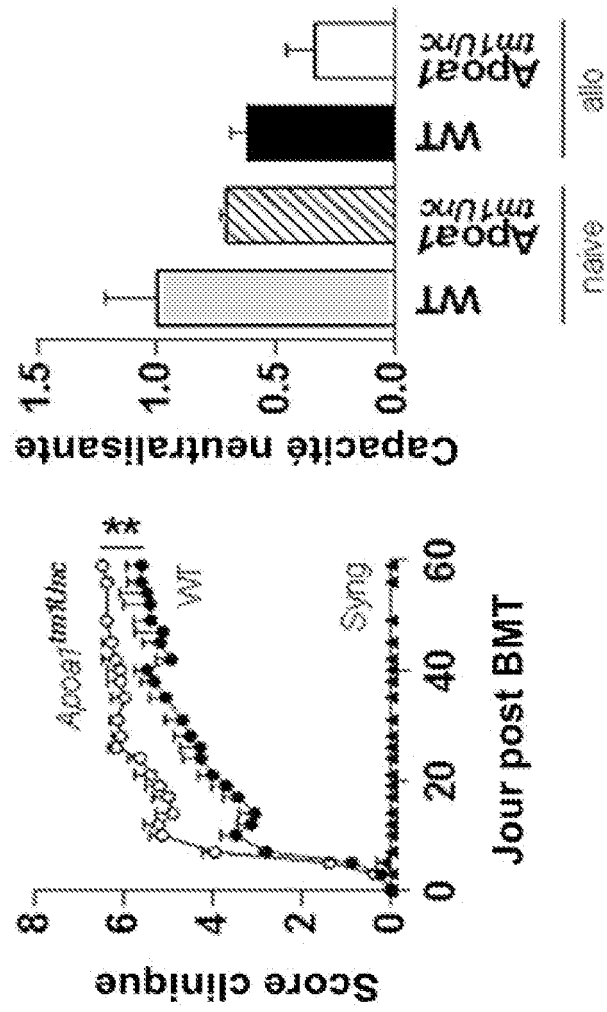
[Fig. 6]



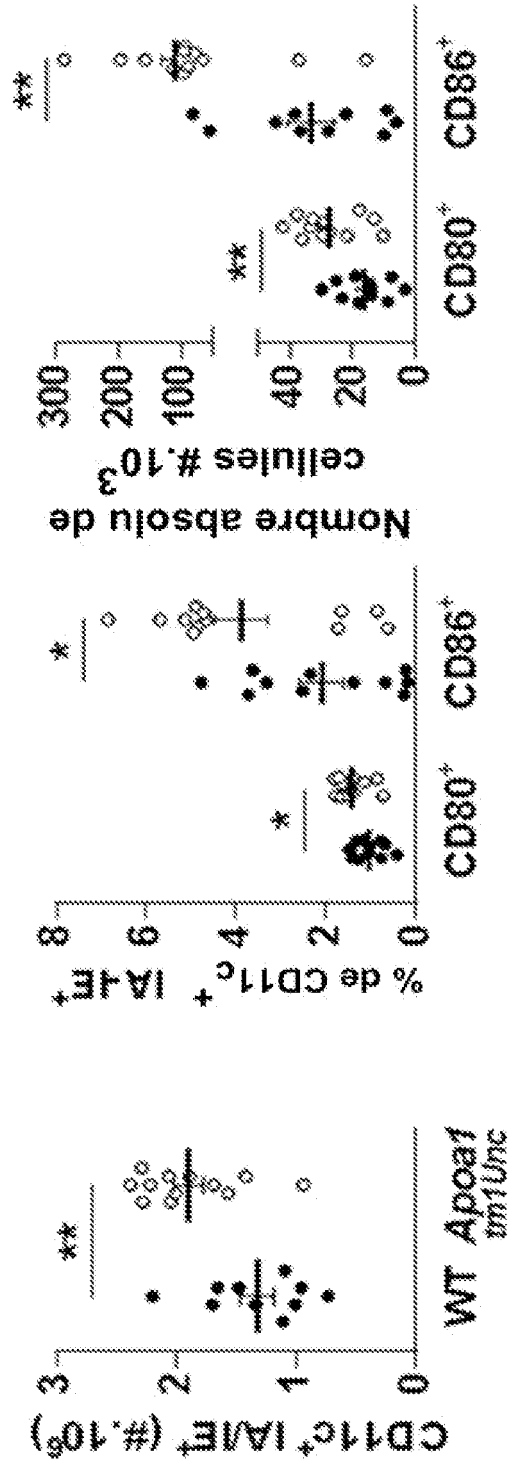
[Fig. 7]



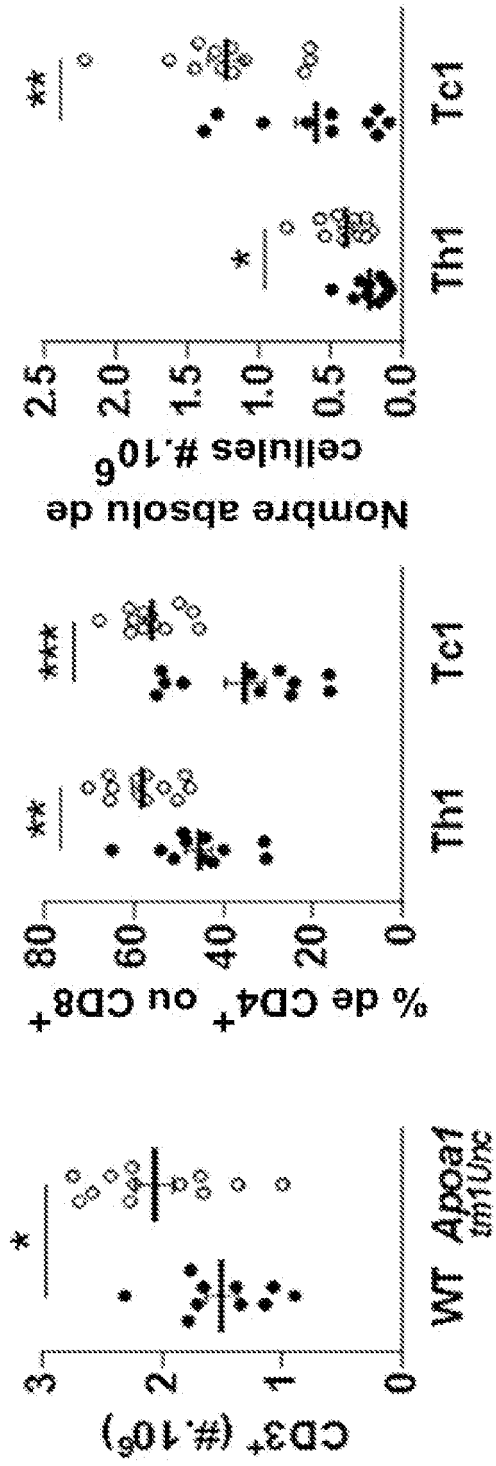
[Fig. 9]



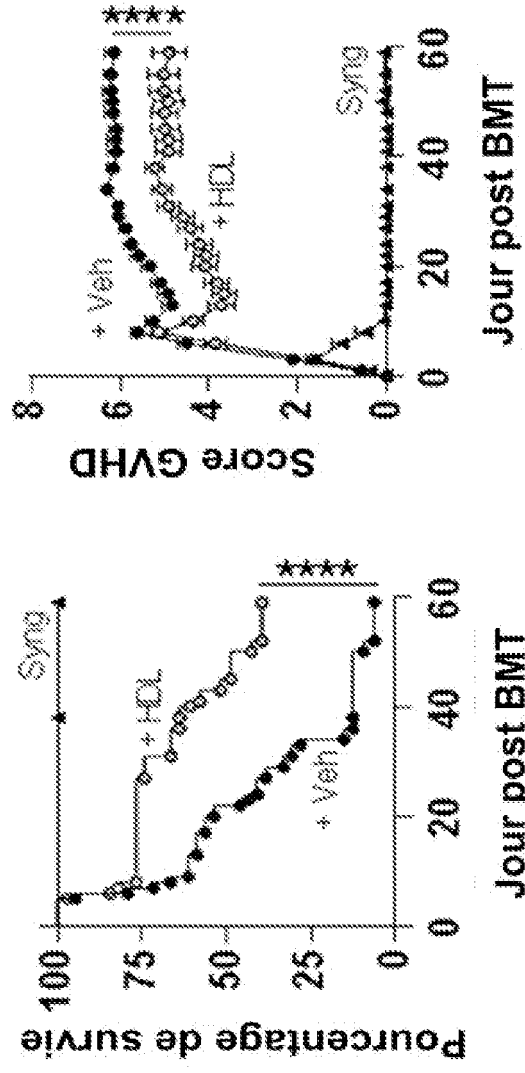
[Fig. 10]



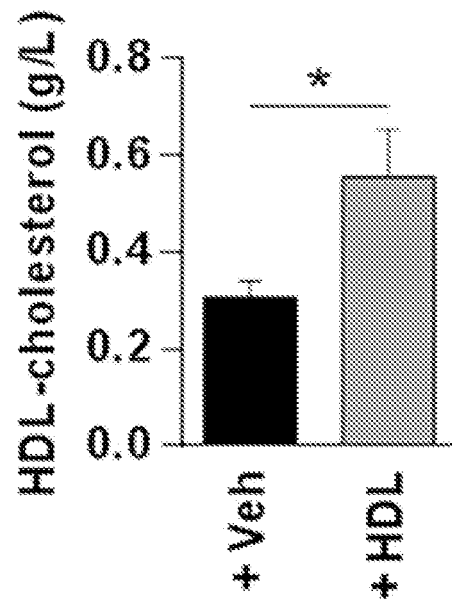
[Fig. 11]



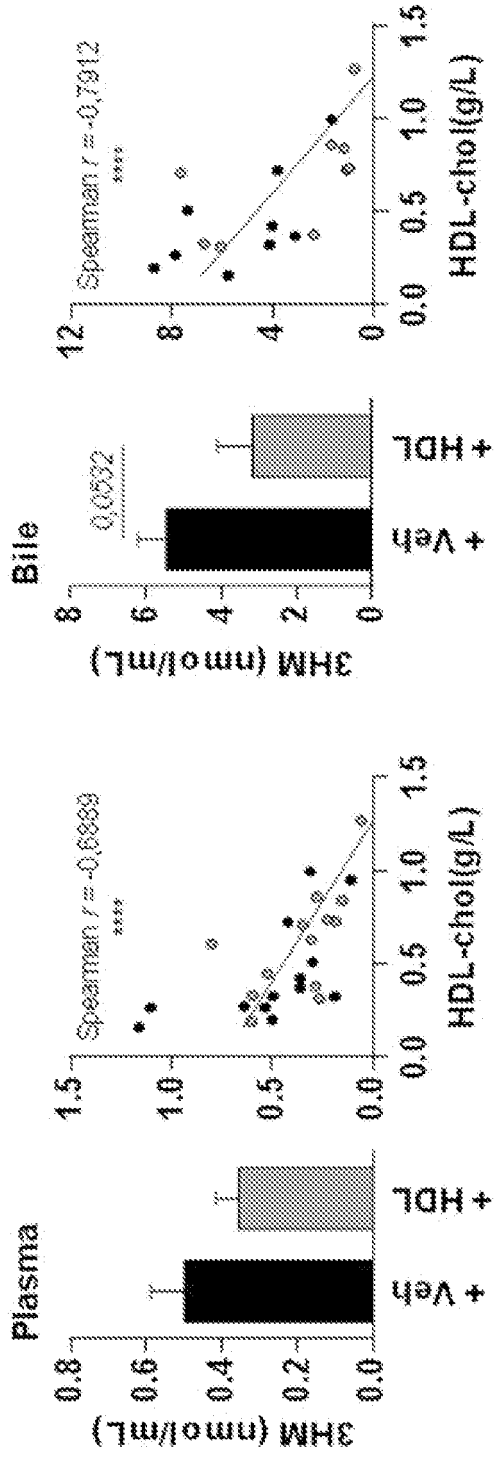
[Fig. 12]



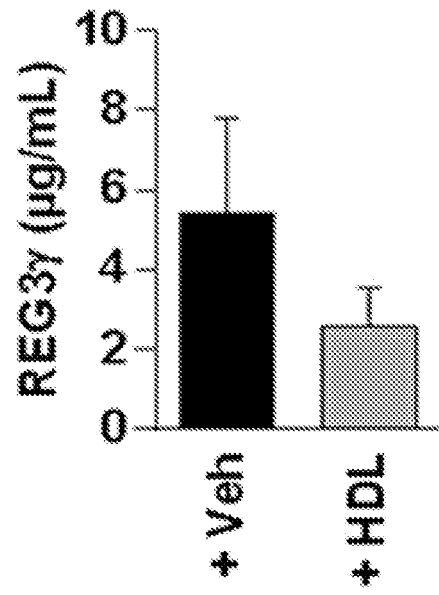
[Fig. 13]



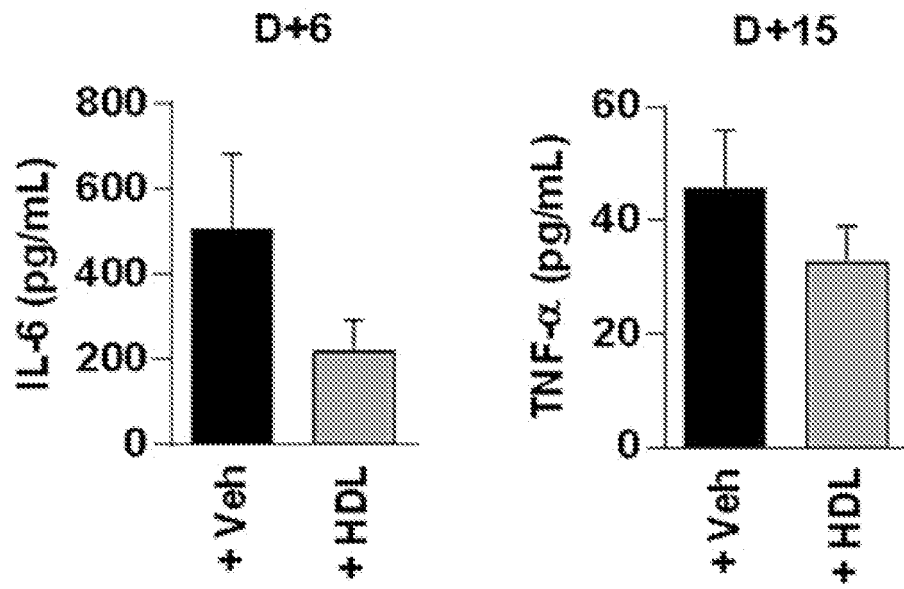
[Fig. 14]



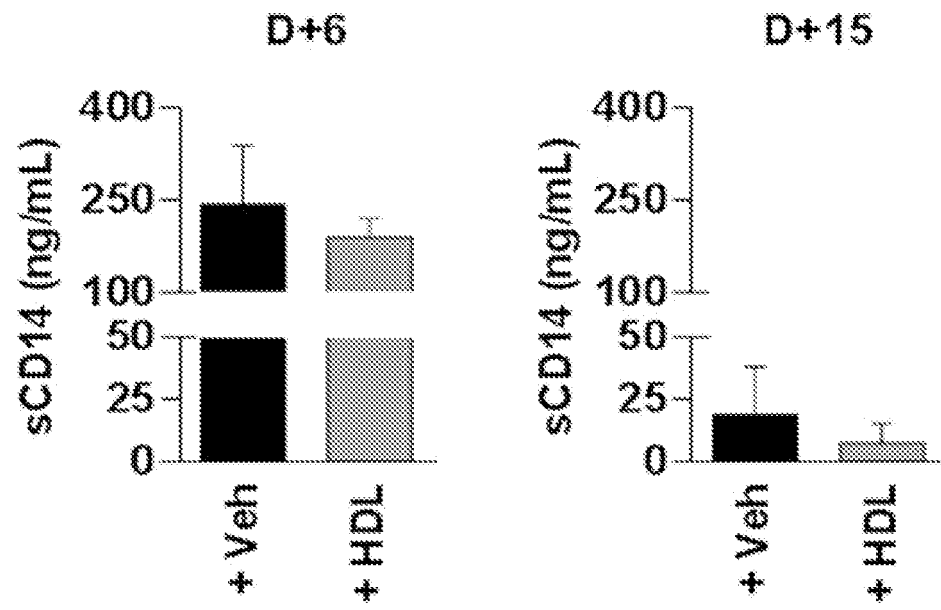
[Fig. 15]



[Fig. 16]



[Fig. 17]



RAPPORT DE RECHERCHE

articles L.612-14, L.612-53 à 69 du code de la propriété intellectuelle

OBJET DU RAPPORT DE RECHERCHE

L'I.N.P.I. annexe à chaque brevet un "RAPPORT DE RECHERCHE" citant les éléments de l'état de la technique qui peuvent être pris en considération pour apprécier la brevetabilité de l'invention, au sens des articles L. 611-11 (nouveau) et L. 611-14 (activité inventive) du code de la propriété intellectuelle. Ce rapport porte sur les revendications du brevet qui définissent l'objet de l'invention et délimitent l'étendue de la protection.

Après délivrance, l'I.N.P.I. peut, à la requête de toute personne intéressée, formuler un "AVIS DOCUMENTAIRE" sur la base des documents cités dans ce rapport de recherche et de tout autre document que le requérant souhaite voir prendre en considération.

CONDITIONS D'ETABLISSEMENT DU PRESENT RAPPORT DE RECHERCHE

Le demandeur a présenté des observations en réponse au rapport de recherche préliminaire.

Le demandeur a maintenu les revendications.

Le demandeur a modifié les revendications.

Le demandeur a modifié la description pour en éliminer les éléments qui n'étaient plus en concordance avec les nouvelles revendications.

Les tiers ont présenté des observations après publication du rapport de recherche préliminaire.

Un rapport de recherche préliminaire complémentaire a été établi.

DOCUMENTS CITES DANS LE PRESENT RAPPORT DE RECHERCHE

La répartition des documents entre les rubriques 1, 2 et 3 tient compte, le cas échéant, des revendications déposées en dernier lieu et/ou des observations présentées.

Les documents énumérés à la rubrique 1 ci-après sont susceptibles d'être pris en considération pour apprécier la brevetabilité de l'invention.

Les documents énumérés à la rubrique 2 ci-après illustrent l'arrière-plan technologique général.

Les documents énumérés à la rubrique 3 ci-après ont été cités en cours de procédure, mais leur pertinence dépend de la validité des priorités revendiquées.

Aucun document n'a été cité en cours de procédure.

1. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE SUSCEPTIBLES D'ETRE PRIS EN CONSIDERATION POUR APPRECIER LA BREVETABILITE DE L'INVENTION

EP 1 593 680 A1 (TAKEDA PHARMACEUTICAL [JP]) 9 novembre 2005 (2005-11-09)

WO 2017/035405 A1 (ACHILLION PHARMACEUTICALS INC [US]) 2 mars 2017 (2017-03-02)

US 2011/256130 A1 (SCHULTZ JOSHUA ROBERT [US] ET AL) 20 octobre 2011 (2011-10-20)

M HIDAKA ET AL: "Efficacy of bezafibrate for chronic GVHD of the liver after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation", BONE MARROW TRANSPLANTATION, vol. 45, no. 5, 5 mai 2010 (2010-05-05), pages 912-918, XP055696329, GB
ISSN: 0268-3369, DOI: 10.1038/bmt.2009.251

2. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE ILLUSTRANT L'ARRIERE-PLAN TECHNOLOGIQUE GENERAL

NEANT

3. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE DONT LA PERTINENCE DEPEND DE LA VALIDITE DES PRIORITES

NEANT