

Biblio 2019

CRMV AVB-CG

Dr Alice THEBAUT – CHU Bicêtre
Hépatologie et Transplantation hépatique pédiatriques

5^e Journée Filfoie
28 novembre 2019



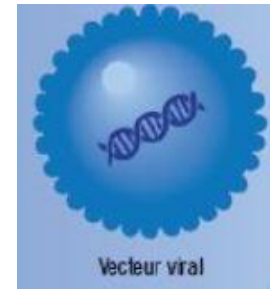
Liver-directed gene therapy results in long-term correction of progressive familial intrahepatic cholestasis type 3 in mice

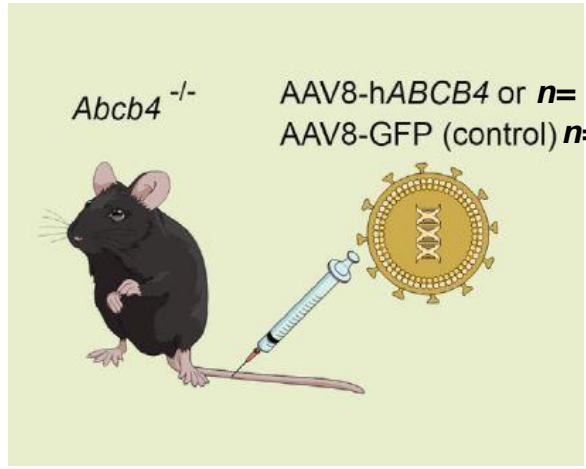
Sem J. Aronson¹, Robert S. Bakker¹, Xiaoxia Shi¹, Suzanne Duijst¹, Lysbeth ten Bloemendaal¹, Dirk R. de Waart¹, Joanne Verheij², Giuseppe Ronzitti³, Ronald P. Oude Elferink¹, Ulrich Beuers¹, Coen C. Paulusma¹, Piter J. Bosma^{1,*}

¹Amsterdam University Medical Centers, University of Amsterdam, Tytgat Institute for Liver and Intestinal Research, Amsterdam Gastroenterology and Metabolism, Meibergdreef 9, Amsterdam, The Netherlands; ²Amsterdam University Medical Centers, University of Amsterdam, Department of Pathology, Meibergdreef 9, Amsterdam, The Netherlands; ³INTEGRARE, Genethon, INSERM, University of Evry, University Paris-Saclay, 91002 Evry, France

- **PFIC 3:** cholestase chronique à début précoce, AR, par mutation du gène *ABCB4* (MDR3).
 - ↳ Défaut de sécrétion de phospholipides dans la bile
 - ↳ Phénotype variable selon % de sécrétion résiduel de PL mais le plus souvent sévère. Cirrhose biliaire secondaire précoce.
 - ↳ Thérapeutiques disponibles limitées
 - AUDC
 - Transplantation hépatique
- **Thérapie génique:** « *suppléer un gène malade* » par injection d'un gène vectorisé dans une cellule ciblée malade pour qu'il s'y exprime et permettre la synthèse de la protéine fonctionnelle.
- Médiée par **vecteur viraux « adéno-associés »**
 - *Hémophilie B (facteur IX)*
 - *Crigler Najjar*
 - *MPS de type VI*
 - *Maladie de pompe*

- In vivo: souris adultes knockout ***ABCB4 -/-***
- Vecteur viral **adéno associé** « AAV8 »
= vecteur non intégratif
- Gène vectorisé : h*ABCB4* ou *GFP* (Témoin)
 - Par transfection
 - ↳ **AAV8-h*ABCB4*** ou **AAV8-*GFP***





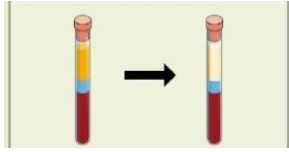
**Régime standard
 Puis enrichi en cholate 0,1%
 S-2**

S 10
n= 9

†

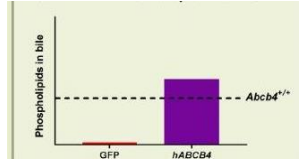
S 26
n= 8

Cholestase biologique



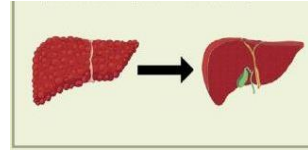
PAL
Bilirubine T
ALT, AST

Flux biliaire



Composition de la bile:
Phospholipides + CT
Mesure du débit biliaire

Analyse tissulaire

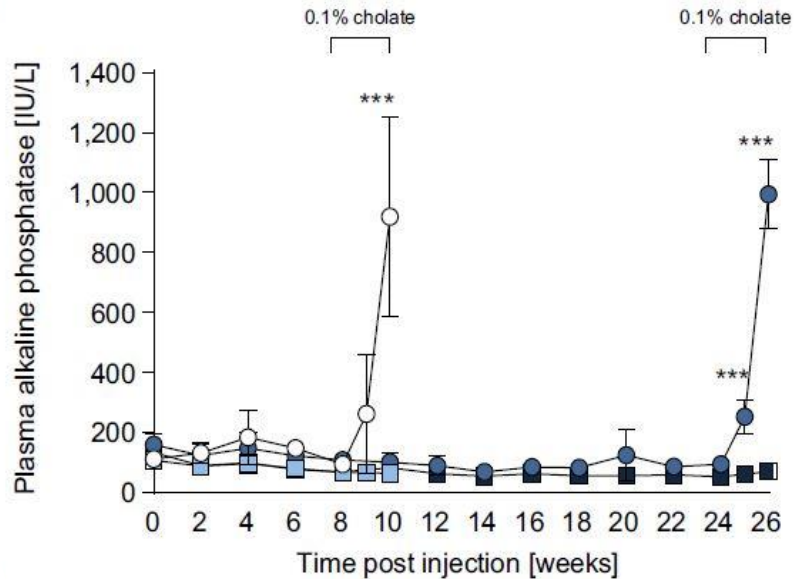


Eval. Histo de la fibrose
F0-F4
Immunohistochimie
Index de prolifération (Ki67)
Expression du transgène PCR

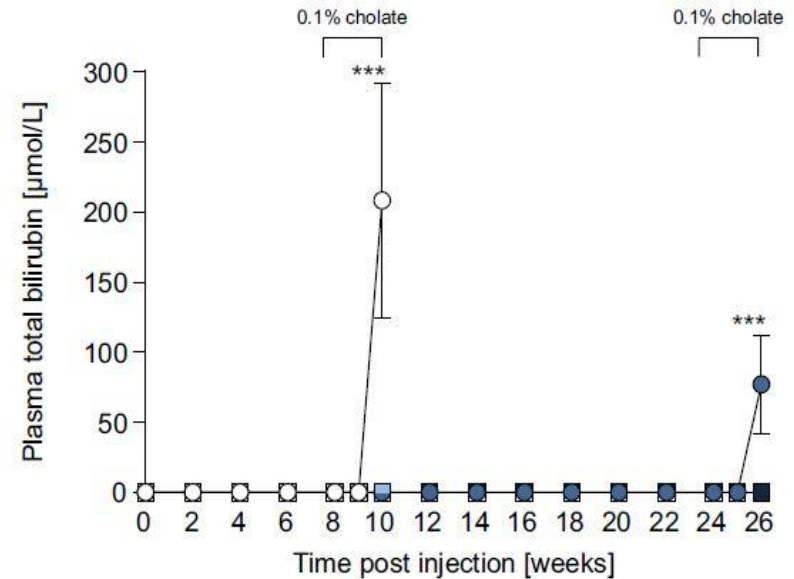
Résultats

1. AAV8-hABCB4 améliore la cholestase biologique

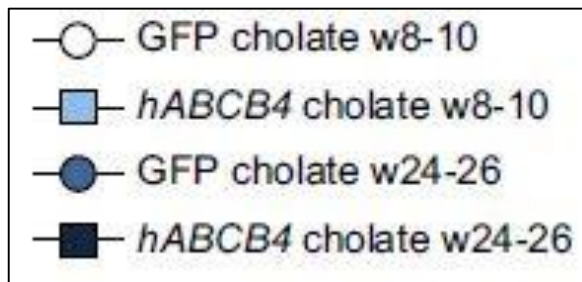
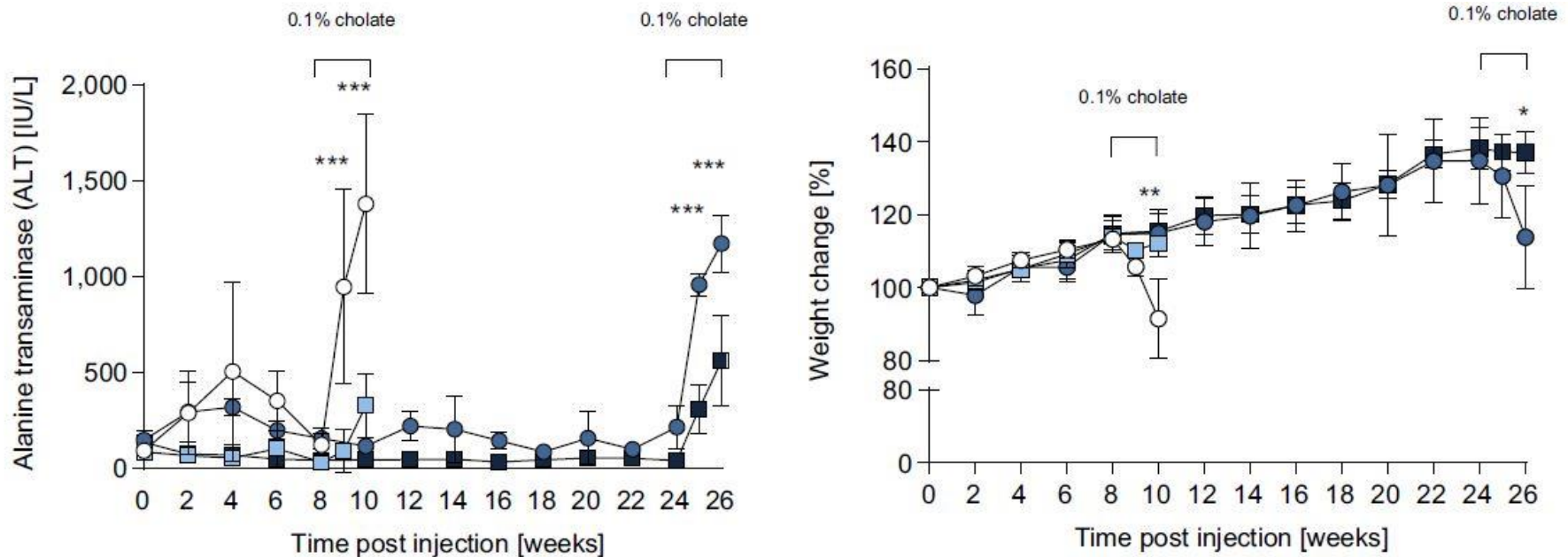
A



B

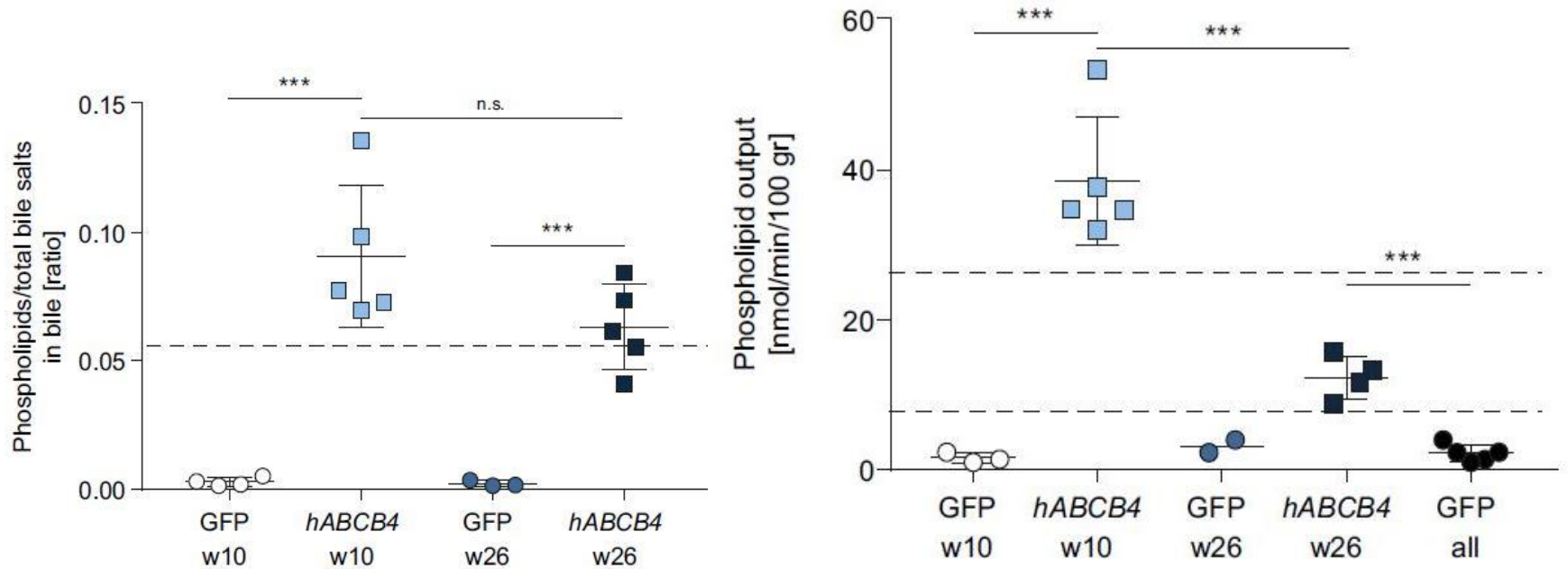


1. AAV8-hABCB4 améliore la cholestase biologique

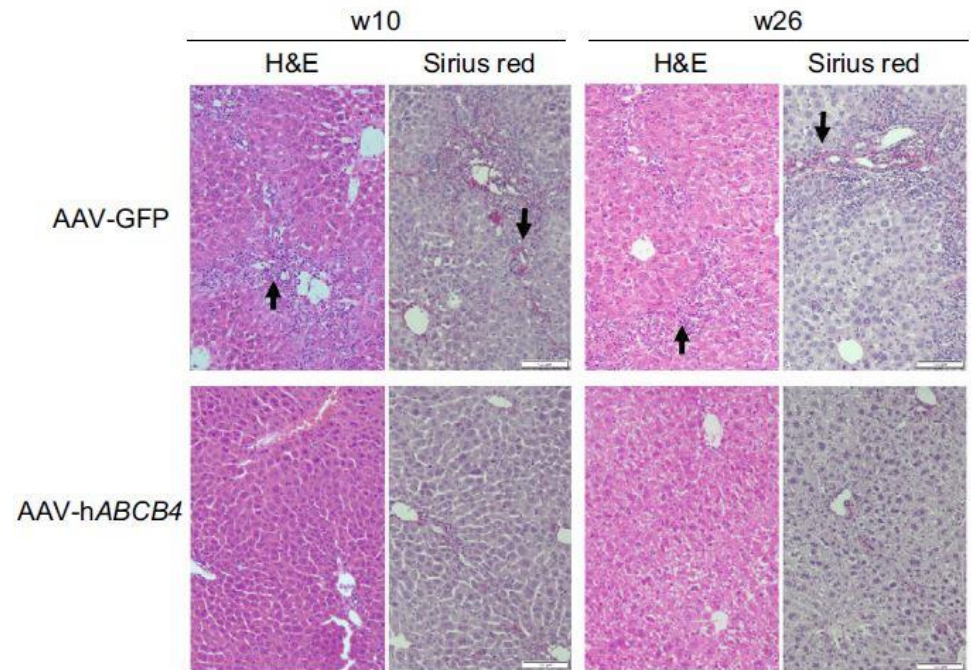
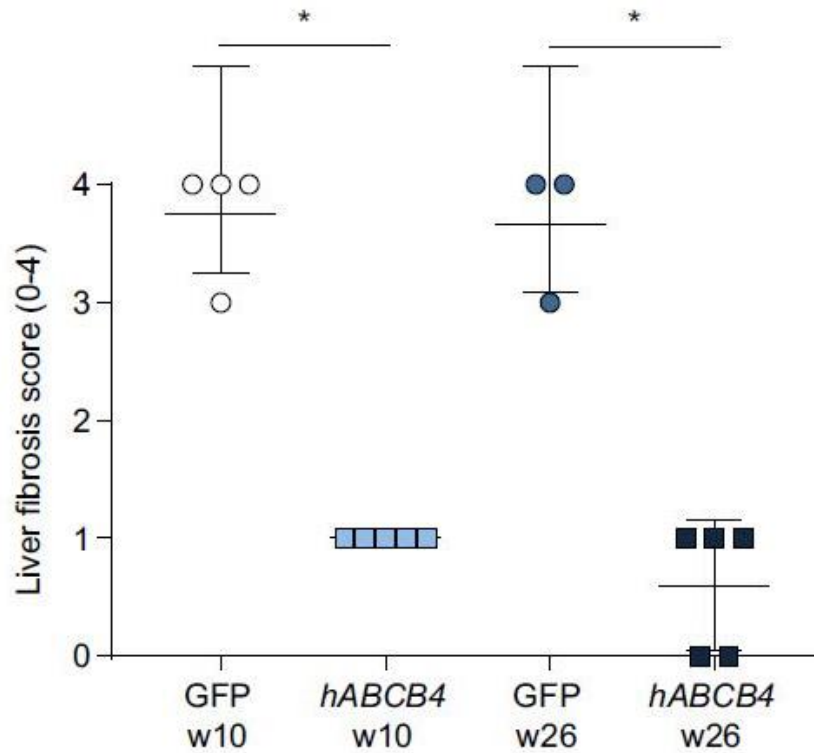


2. AAV8-hABCB4 augmente la sécrétion biliaire de phospholipides

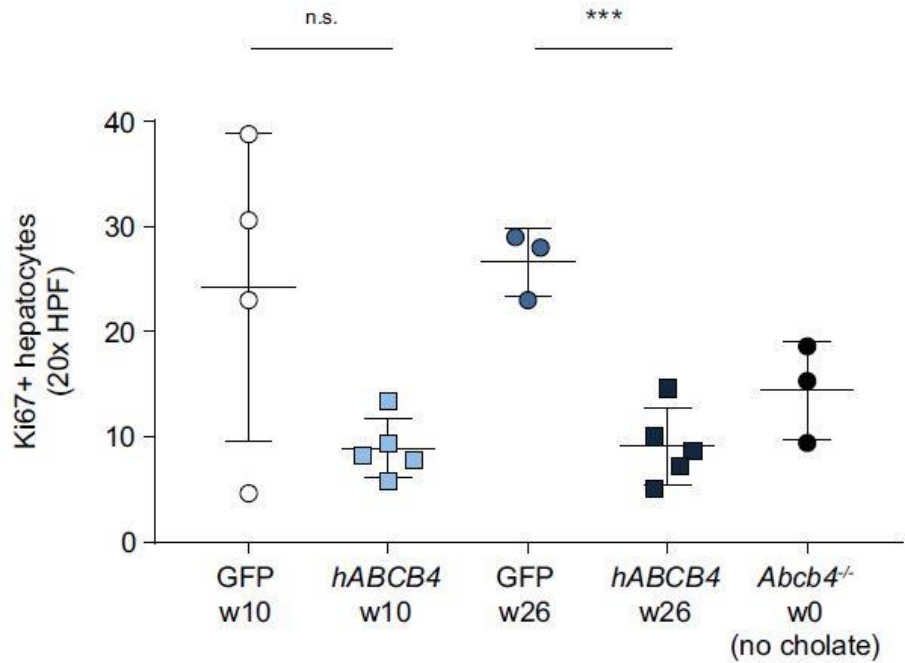
A



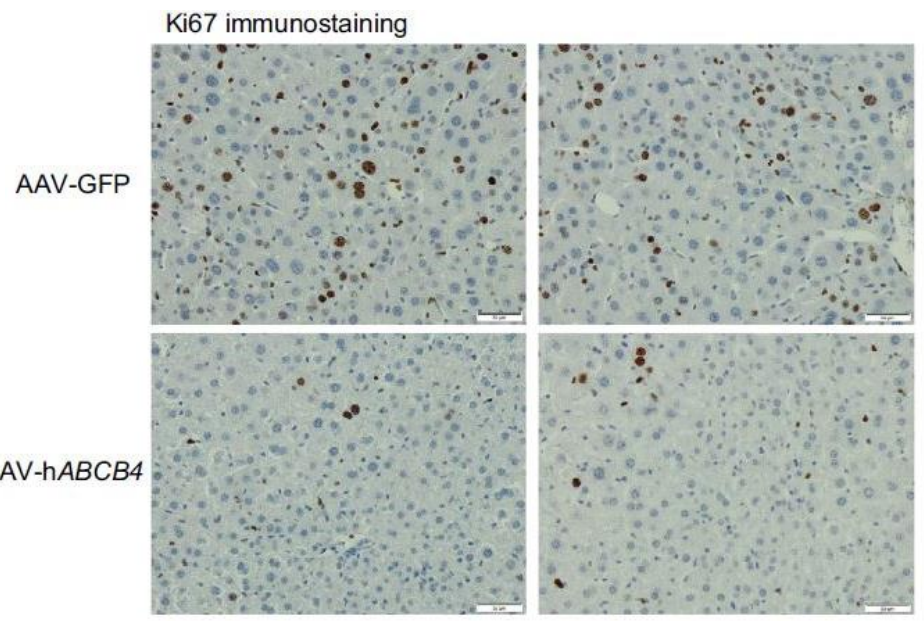
3. AAV8-hABCB4 réduit la fibrose



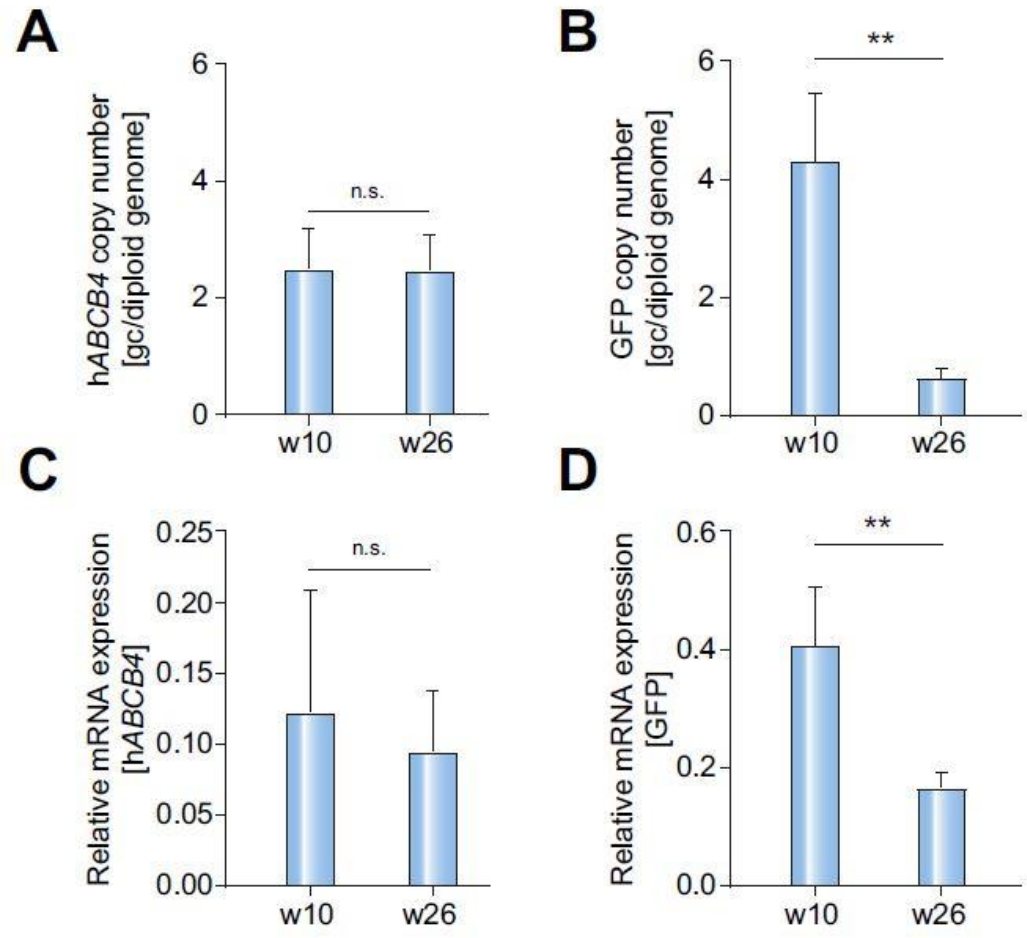
4. AAV8-hABCB4 réduit la prolifération hépatocytaire



√ cholestase
 √ lésions hépatocytaires
 √ prolifération hépatocytaire



5. L'expression du transgène d'h $ABCB4$ est stable



- **AAV**: vecteur viral non intégratif, et réinjection impossible (réponse immune, production d'Ac)
- Une stratégie possible uniquement pour les tissus non prolifératifs
- Expression maintenue du transgène h $ABCB4$ (et pas de GFP)
- Obtenue par l'effet anti prolifératif

→ Stabilité d'expression transposable à l'homme ?

- *Phénotype plus sévère chez l'homme que le modèle murin $ABCB4^{-/-}$
- *Modèle murin adulte
- *Prolifération hépatocytaire entretenue par le phénotype plus sévère et la croissance du foie chez le jeune enfant

- **Perspectives:**

- **Nouvelles études :**

- Régime riche en cholate plus précoce (avant l'injection)
- Modèle murin génétiquement modifié avec pool d'AB dans la bile « humanisé » (double knockout)
- Lignée de souris juvéniles, foie en croissance

- **Développement de stratégies thérapeutiques permettant la réinjection du vecteur viral** (modulation de la réponse immunitaire)

- Permettre un retraitement en cas de perte du transgène

- **Associations thérapeutiques**

- Envisager thérapie génique comme un traitement complémentaire des thérapeutiques disponibles, ex : AAV + UDCA

Spleen and Liver Stiffness to Detect Esophageal Varices in Children with Biliary Atresia

**[†]Palittiya Sintusek, ^{‡||}Nipaporn Siriporn, [§]Dollapas Punpanich, *Voranus Chongsrisawat, and ^{||}Yong Poovorawan*

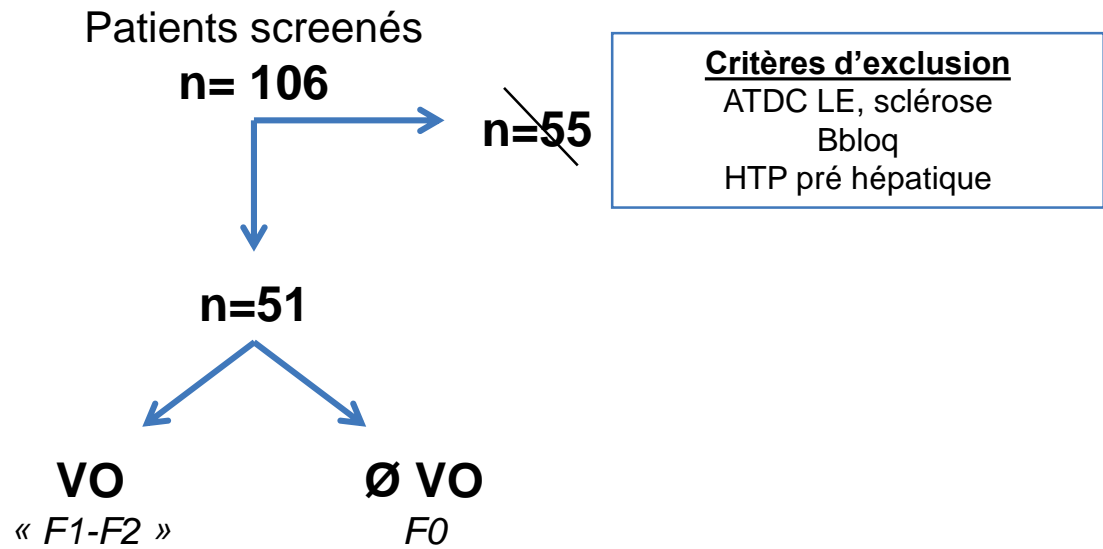
- **AVB:** cirrhose et hypertension portale en dépit du succès du Kasai
- Dépistage des VO par FOGD (prophylaxie primaire)
- **Chez l'adulte: Baveno VI consensus workshop (2015)**
Utilisation de l'Elastométrie Hépatique (LS) et Splénique (SS) au lieu de la FOGD pour le dépistage du risque de VO.
- Pas de consensus pour la prédiction du risque de VO par élastométrie en pédiatrie.

Objectif:

Déterminer la performance de l'élastométrie (FibroScan®) hépatique et splénique pour la prédiction du risque de VO chez des enfants atteints d'AVB

- Etude prospective, monocentrique
- Enfants présentant une AVB opérée par HPE entre 2000 et 2015 ont été inclus.
- Données cliniques, démographiques, biologiques ont été collectées.
- Calcul de score pronostic:
 - PELD/MELD
 - APRI: marqueur de fibrose (Aspartate transaminase-to-platelet ratio index)
 - VPR (King's Varice Prediction Rule) = $[\text{albumine} \times \text{plaq}]/1000$
- **Elastométrie (TE) = FibroScan®**
 - A jeun, 1 seul opérateur, mêmes repères anatomiques
 - Foie (LS) + Rate (SS)
- **FOGD**
 - Sous AG
 - A l'aveugle des données de l'élastométrie
 - Classification : Form (F) 0 - 3 (Japanese Research Society for Portal Hypertension)

Résultats



Résultats

TABLE 1. Demographic data, physical examination, and laboratory results between children with biliary atresia in varice and varice-free group

| Variables | Varice (n = 21) | Varice-free (n = 30) | P value |
|--------------------------------------|---------------------------|----------------------------|---------|
| Age, years | 9.71 (3.80, 16.52) | 12.44 (5.67, 15.79) | 0.692 |
| Age at Kasai's operation, days | 90 (65.5, 107.5) | 60 (58.75, 90) | 0.028* |
| Indication for EGD | | | <0.001* |
| Bleeding | 2 (9.52%) | 0 (0%) | |
| Asymptomatic | 3 (14.28%) | 21 (70%) | |
| Splénomégaly | 16 (76.19%) | 9 (30%) | |
| Palpable spleen | 19 (90.48%) | 8 (26.71%) | <0.001* |
| Laboratory data | | | |
| Hemoglobin, g/dL | 12.4 (11.14, 13.21) | 13 (12.38, 14.40) | 0.052 |
| White blood cell, 10 ⁶ /L | 5000 (3100, 7095) | 5330 (4427, 7865) | 0.243 |
| Platelet, 10 ⁶ /L | 101,000 (76,000, 179,500) | 201,500 (120,000, 246,000) | 0.003* |
| PT, seconds | 12.5 (11.9, 14.1) | 12.45 (12.1, 13.5) | 0.555 |
| PTT, seconds | 28.7 (27.7, 31.7) | 28 (25.8, 30.1) | 0.095 |
| INR | 1.1 (1.01, 1.18) | 1.05 (1.01, 1.17) | 0.517 |
| Albumin, g/dL | 4.2 (3.9, 4.6) | 4.6 (4.3, 4.8) | 0.034* |
| Total bilirubin, mg/dL | 0.93 (0.39, 2.14) | 0.28 (0.19, 0.51) | 0.276 |
| Direct bilirubin, mg/dL | 0.51 (0.23, 1.36) | 0.51 (0.19, 0.51) | 0.164 |
| AST, IU/L | 81 (40.5, 146) | 44.5 (26.8, 120.3) | 0.217 |
| ALT, IU/L | 75 (44.5, 137.5) | 34 (19.5, 131.3) | 0.109 |
| ALP, IU/L | 298 (186.5, 512) | 235 (129.8, 465) | 0.183 |
| GGT, IU/L | 162 (78.5, 380.5) | 124.5 (40.3, 303.3) | 0.271 |
| Liver stiffness, kPa | 18.12 (13.15, 19.12) | 7.85 (5.88, 16.75) | 0.004* |
| Spleen stiffness, kPa) | 46.85 (25.95, 54.55) | 16.54 (11.75, 21.75) | <0.001* |
| Failed Kasai's operation | 9 (42.86%) | 5 (16.67%) | 0.031* |
| APRI | 1.87 (0.74, 4.17) | 0.66 (0.28, 1.52) | 0.169 |
| PELD | 0 (0, 0) | 0 (0, 0) | 0.075 |
| MELD | 8 (7, 9) | 9 (7, 14) | 0.062 |
| VPR | 4.14 (3.12, 8.89) | 9.20 (5.71, 11.41) | 0.003* |

Résultats

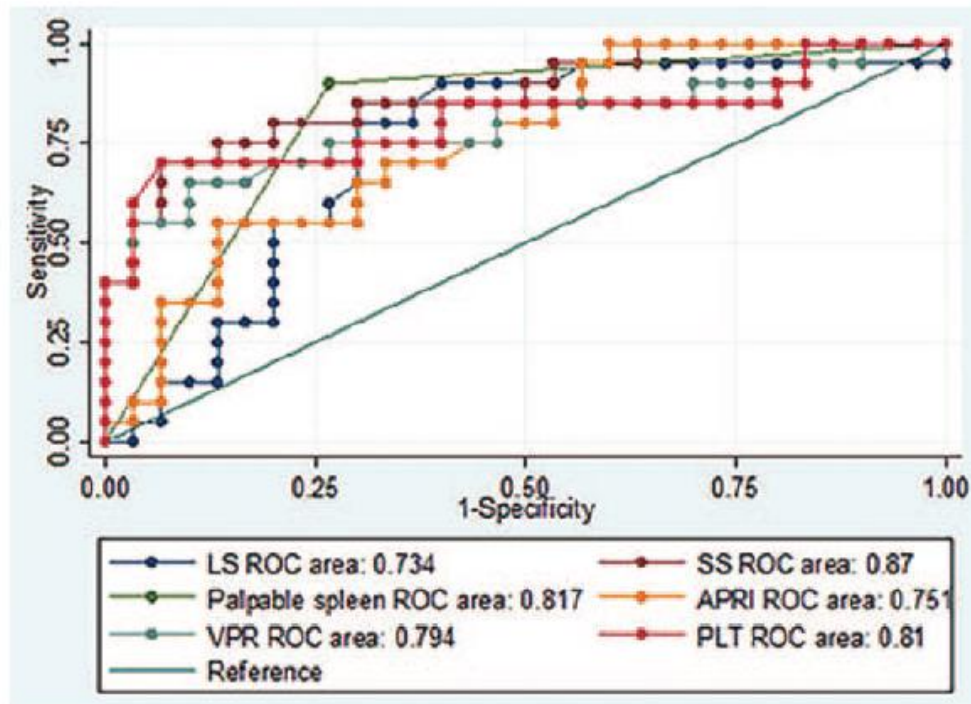


TABLE 2. Performance of liver and spleen stiffness in detecting esophageal varices in children with biliary atresia post portoenterostomy

| Variable | Cut-off | Sensitivity | Specificity | PPV | NPV | Accuracy | +LR | -LR | AUC |
|-----------|---------|-------------|-------------|------|------|----------|-------|------|-------|
| LS | 12.5 | 80.0 | 70.0 | 64.0 | 84.0 | 74.0 | 2.67 | 0.29 | 0.803 |
| SS | 28.9 | 75.0 | 86.7 | 78.9 | 83.9 | 82.0 | 5.63 | 0.29 | 0.879 |
| LS and SS | Same | 76.2 | 93.3 | 88.9 | 84.9 | 86.3 | 11.43 | 0.26 | 0.840 |

AUC = area under the curve; LR = likelihood ratio; LS = liver stiffness; NPV = negative predictive value; PPV = positive predictive value; SS = spleen stiffness.

- **Apport :**

- Association SS + LS
- Population homogène de patients atteints d'AVB
- Proposition d'une valeur seuil d'élastométrie permettant d'obtenir une Se et Sp acceptable pour un dépistage non invasif
- Utile en pratique clinique++
- Permettre d'éviter des FOGD « inutiles », retarder l'âge de la 1^e fibroscopie

- **Limites:**

- Sp (93%) > Se (76%) , risque de faux négatifs
- Insuffisant pour le considérer comme un test de dépistage?
- Si utilisé seul
- A combiner aux signes cliniques/biologiques d'alerte !!