

Vers la guérison de l'hépatite B ? les pistes

1^{er} Colloque
Francophone-Méditerranée
VIH / Hépatites

du Vendredi 27
au Dimanche 29 Mars 2015

Pr Tarik Asselah

MD, PhD
Service d'Hépatologie
INSERM U773, CRB3
University Paris Diderot
Hôpital Beaujon, Clichy
tarik.asselah@bjn.aphp.fr



Guérir l'hépatite B : les pistes

✓ Pourquoi ?

- ✓ Vaccin, Amélioration de la survie (réduction du CHC)
- ✓ Perte de l'AgHBs

✓ Comment ? Avec les molécules disponibles

- ✓ Combinaisons thérapeutiques (interféron et analogues)
- ✓ TAF

✓ Comment ? Nouvelles cibles

- ✓ Identifier de nouvelles cibles thérapeutiques
- ✓ Perspectives

Recommandations Européennes (EASL)

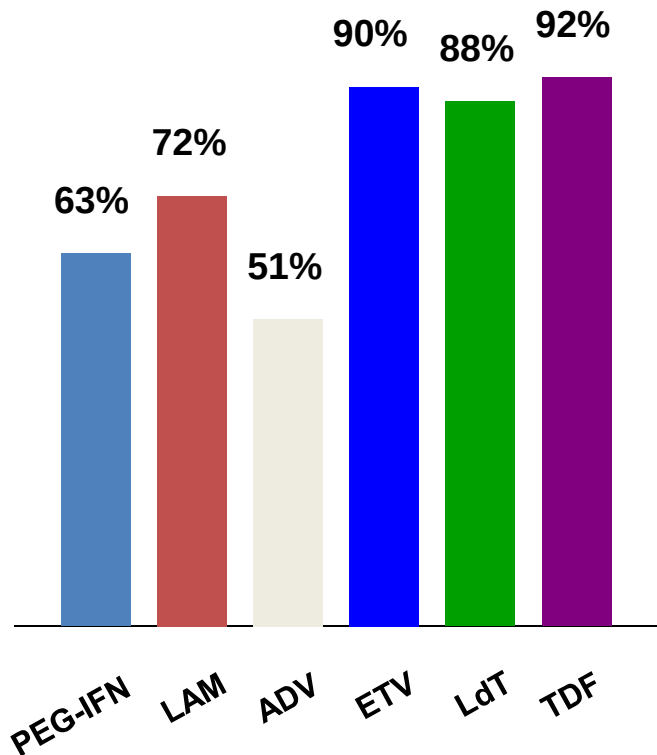
	PEG-IFN	NUCs
Avantages	• Durée déterminée • Absence de résistance • Taux élevés de patients anti-HBe et séroconversion anti-HBs	• Puissant effet antiviral • Bonne tolérance • Voie orale
Inconvénients	• Effet antiviral modéré • Tolérance • Risques d'effets secondaires • Voie parentérale	• Durée • Risques de résistances • Sécurité au long terme inconnue

L'Entécavir et le Ténofovir:

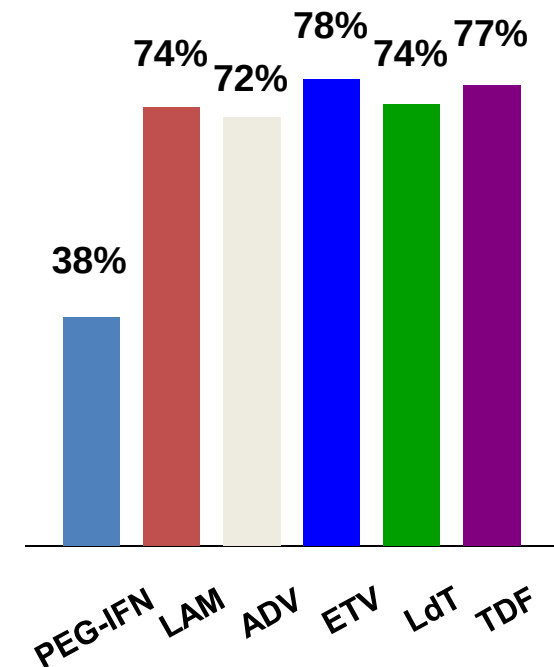
- Puissants inhibiteurs du VHB
- Forte barrière de résistance

Les traitements sont très efficaces

**ADN VHB
indetectable**

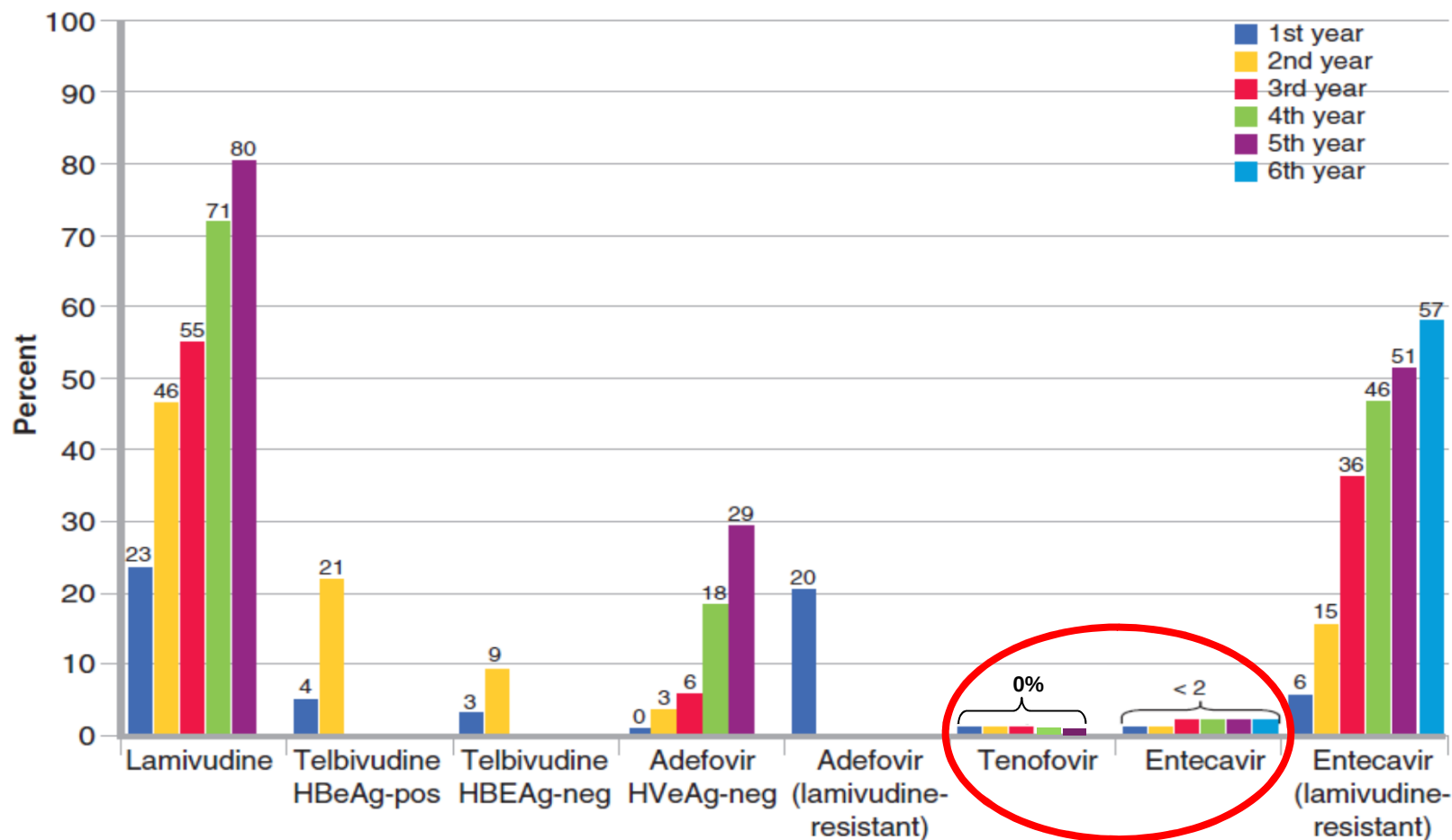


**ALT
Normales**

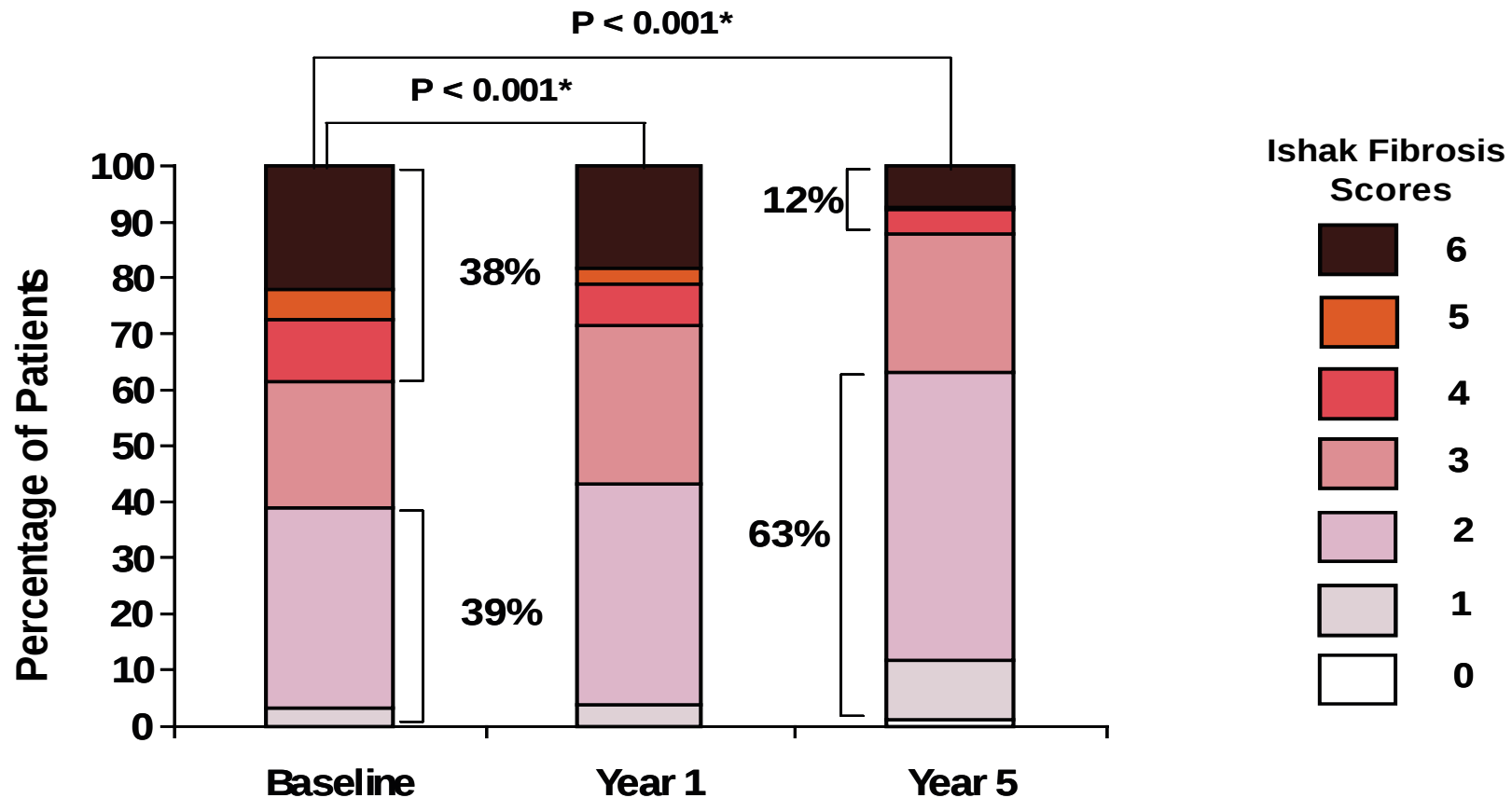


European Association for the Study of the Liver . EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 2012.

Incidence de la résistance



Amélioration progressive de la fibrose après 5 ans de traitement par TDF



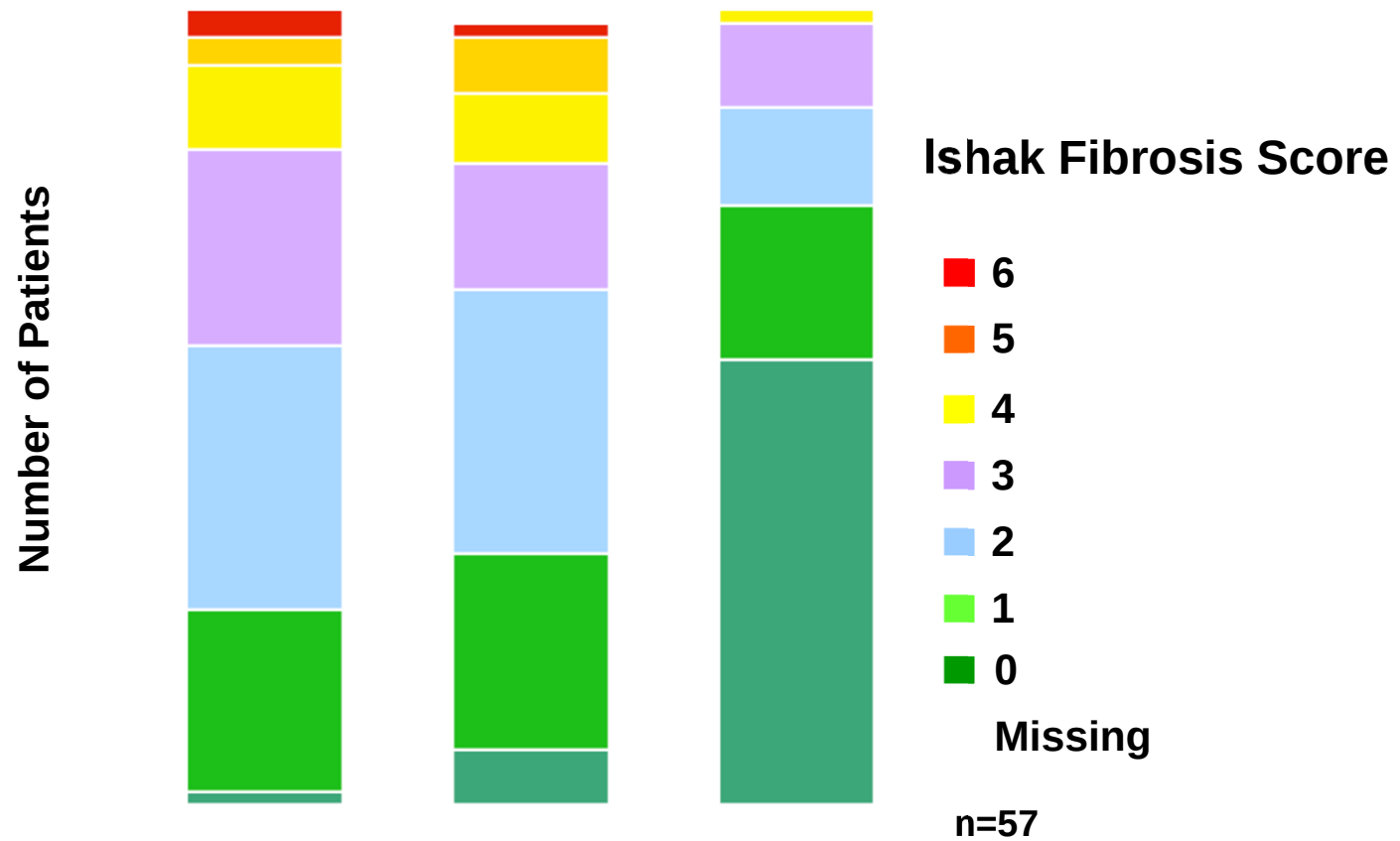
*Sign test

- 96% (335/348) des patients avaient une amélioration ou stabilisation de la fibrose à 5 ans
- 74% (71/96) des patients cirrhotiques avaient une régression de fibrose (Ishak score ≤ 4).

Marcellin P. et al. Lancet 2012

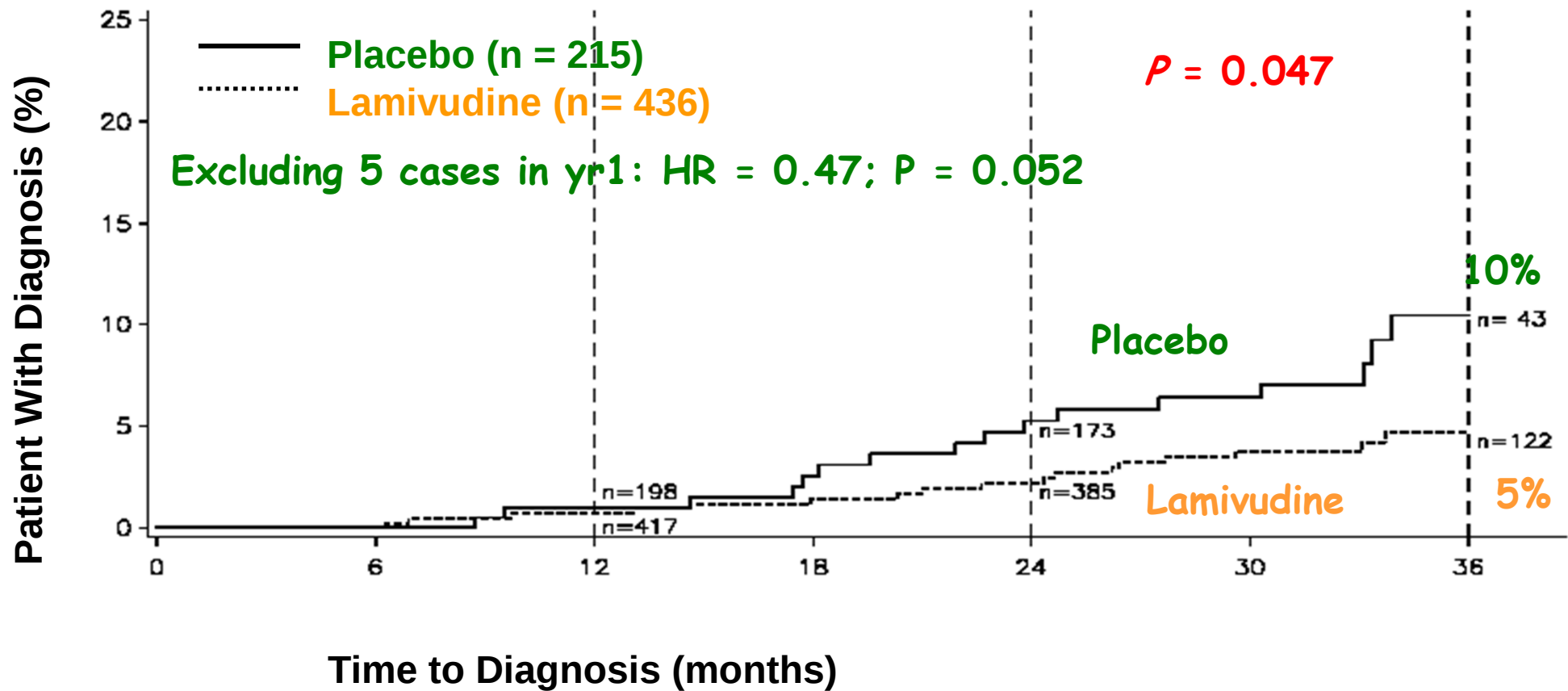
Entecavir: (Ishak)

Scores à J0, 1 an, et 3–7 ans



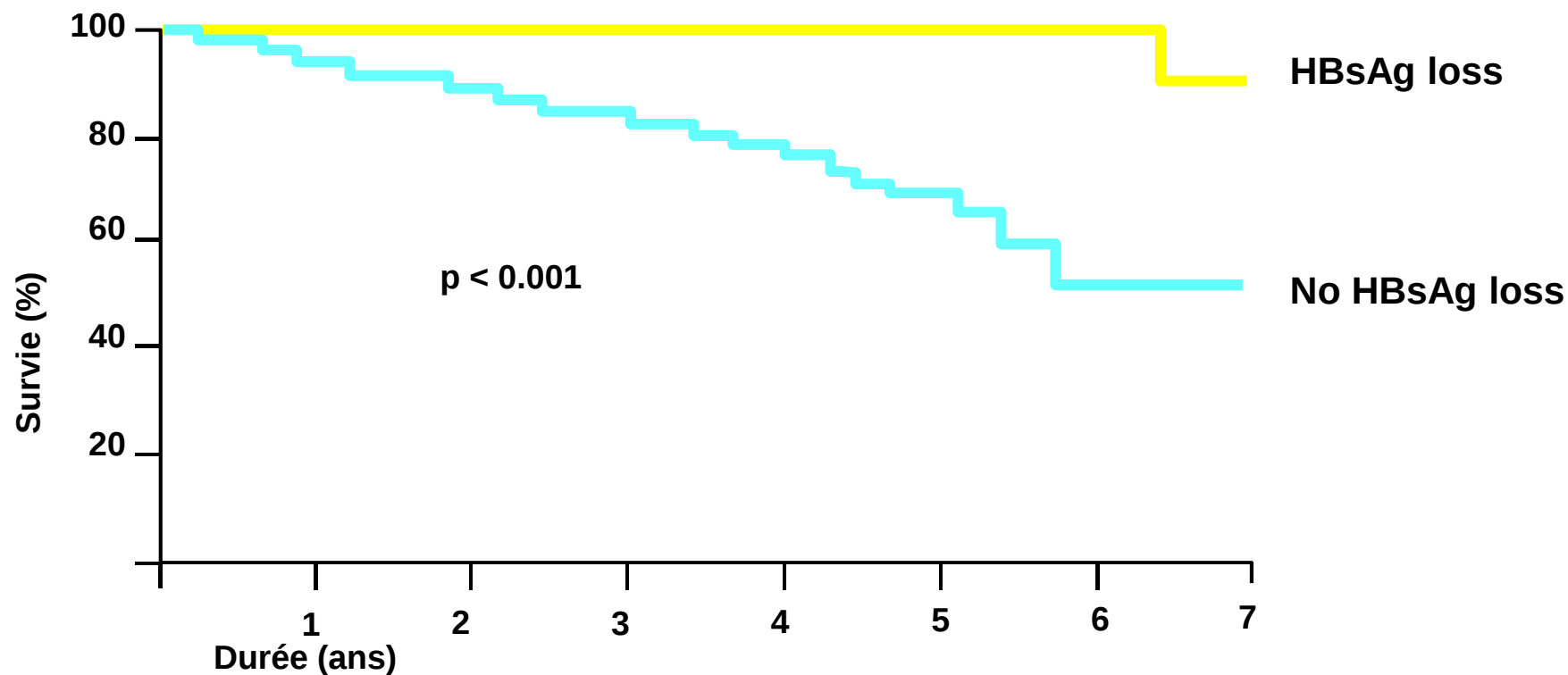
Chang et al Hepatology, 2010

Délai pour la survenue de CHC

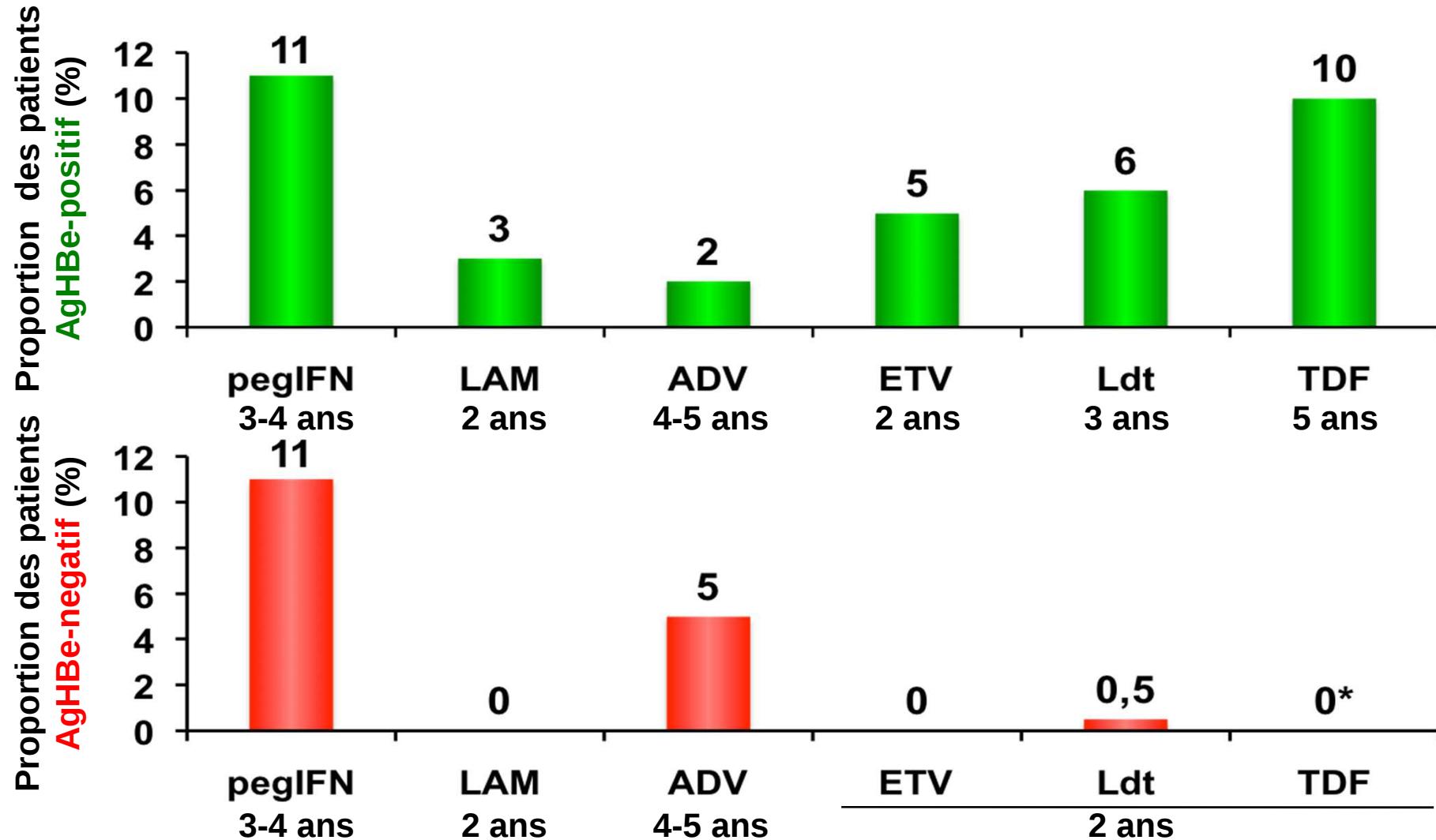


Perte de l'AgHBs et survie

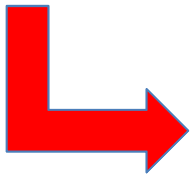
309 patients with cirrhosis (mean FU: 6 years).



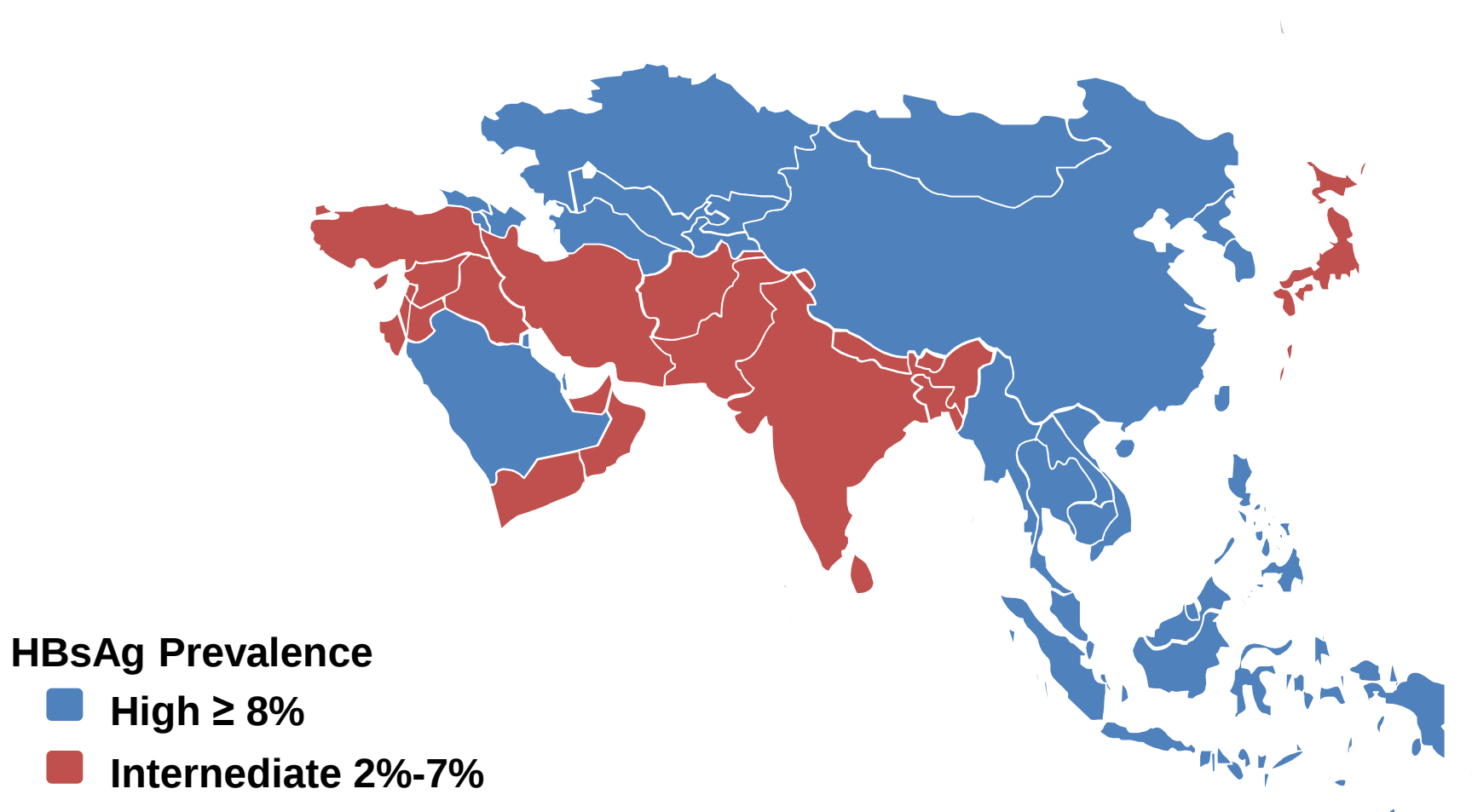
Perte de l'AgHBs pendant le traitement



Pourquoi guérir l'hépatite B ?

- ✓ Puissance antivirale
 - ✓ Résistance faible
 - ✓ Amélioration de la survie
 - ✓ Réduction du carcinome hépato-cellulaire
-
- 
- ✓ Disparition de l'AgHBs rare
 - ✓ Toxicité à long-terme
 - ✓ Observance
 - ✓ Coût

Epidémiologie du VHB en Asie-Pacifique



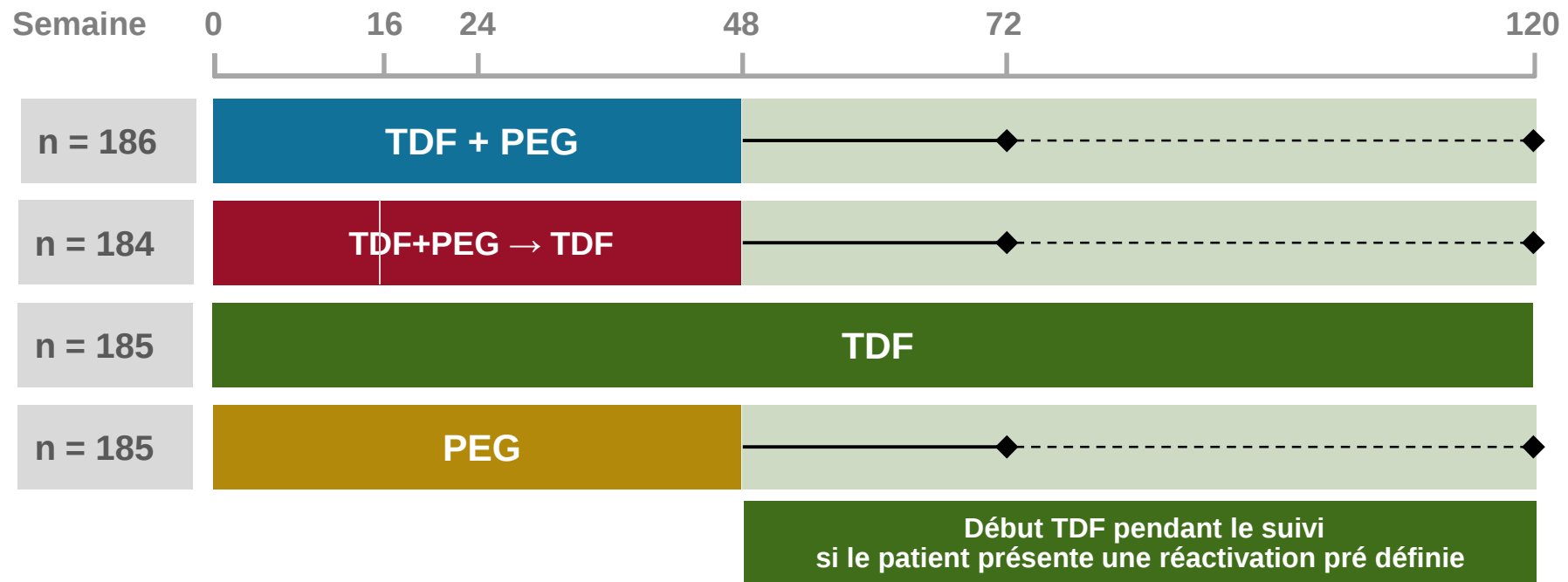
Guérir l'hépatite B : les pistes

- ✓ Pourquoi ?
 - ✓ Vaccin, Amélioration de la survie (réduction du CHC)
 - ✓ Perte de l'AgHBs
- ✓ Comment ? Avec les molécules disponibles
 - ✓ Combinaisons thérapeutiques (interféron et analogues)
 - ✓ TAF
- ✓ Comment ? Nouvelles cibles
 - ✓ Identifier de nouvelles cibles thérapeutiques
 - ✓ Perspectives

TDF + PEG-IFN α -2a chez les patients VHB

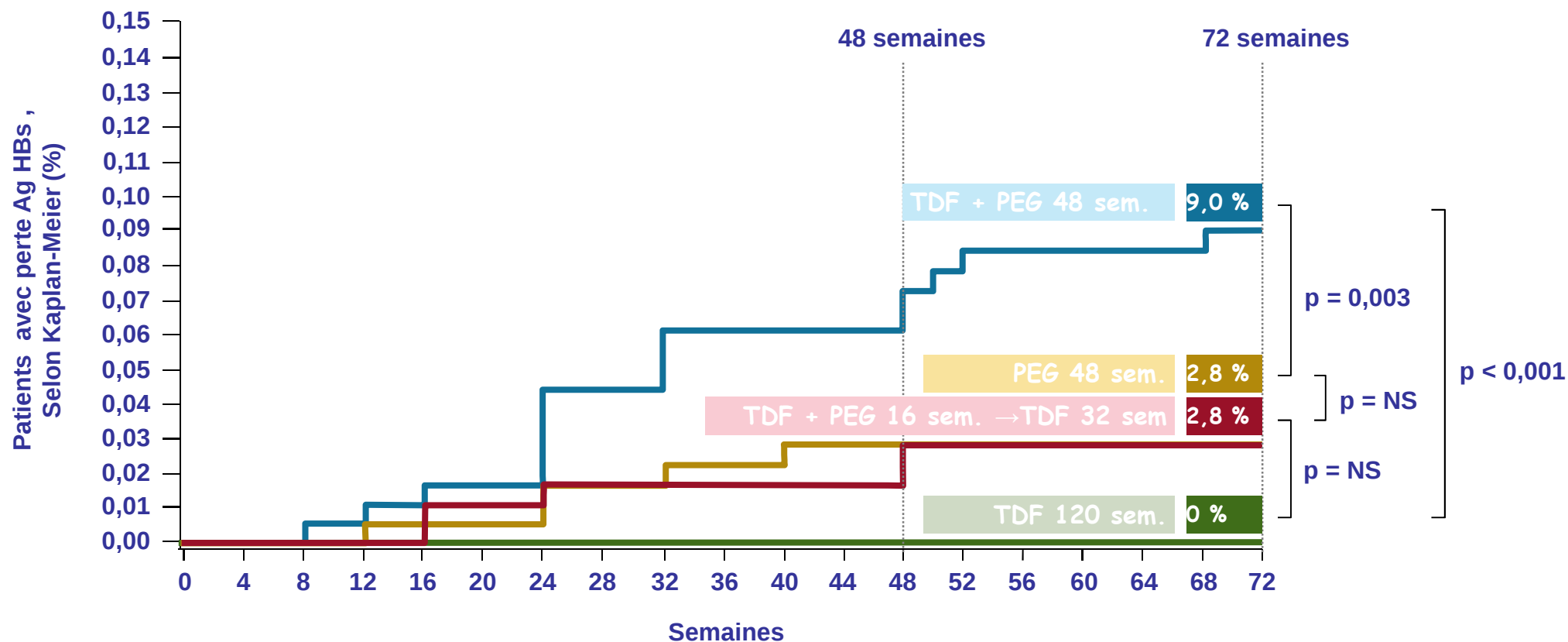
- Etude contrôlée 740 patients non cirrhotiques
- VHB AgHBe+ ou – ADN VHB > 2 000 UI/ml, ALAT > N
- Stratification selon AgHBe , génotype VHB

Schéma de l'étude



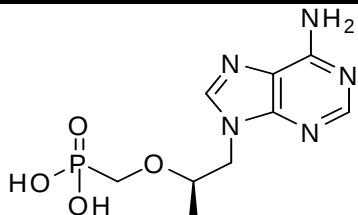
TDF + PEG-IFN α -2a chez les patients VHB

Perte Ag HBs

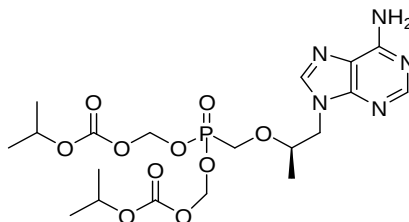


- ♦ 7 patients ont eu une séroréversion à ou après la semaine 48 (4 [TDF + PEG 48 sem], 3 [TDF + PEG 16 sem → TDF 32 sem])
 - 5/7 ont eu ≤ 1 semaine sans traitement après la perte de l'AgHBs

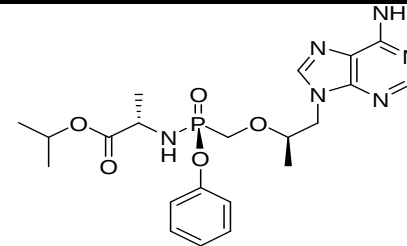
Un Ténofovir (TFV) nouvelle génération Tenofovir Alafenamide (TAF)



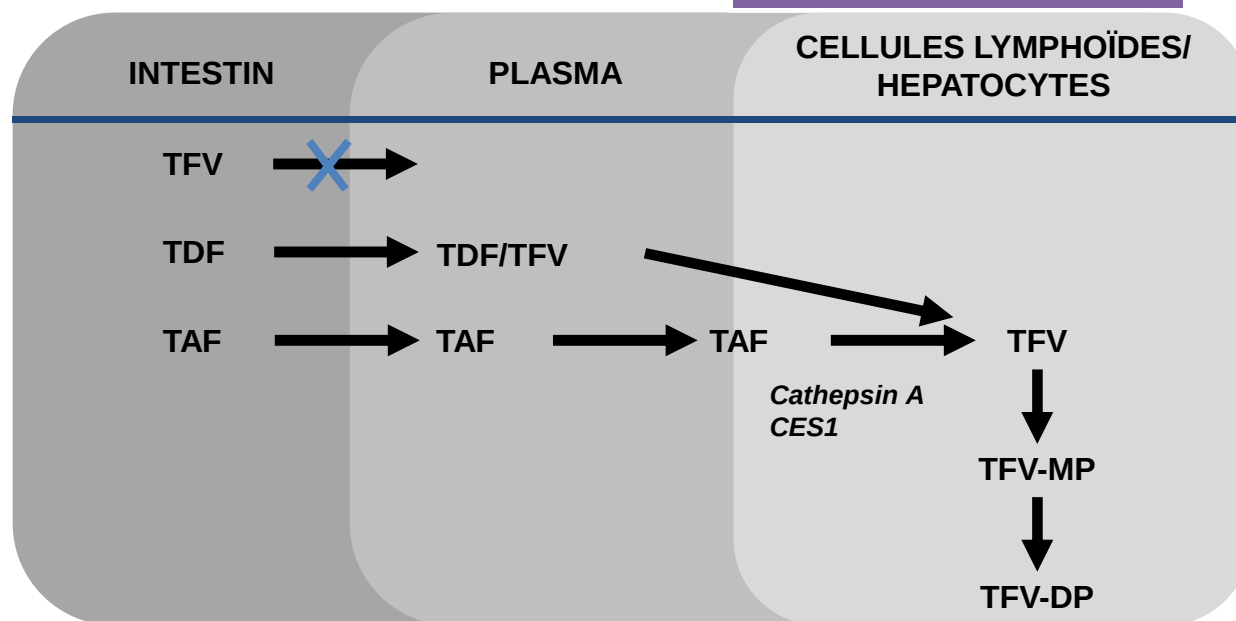
TFV



TDF



TAF



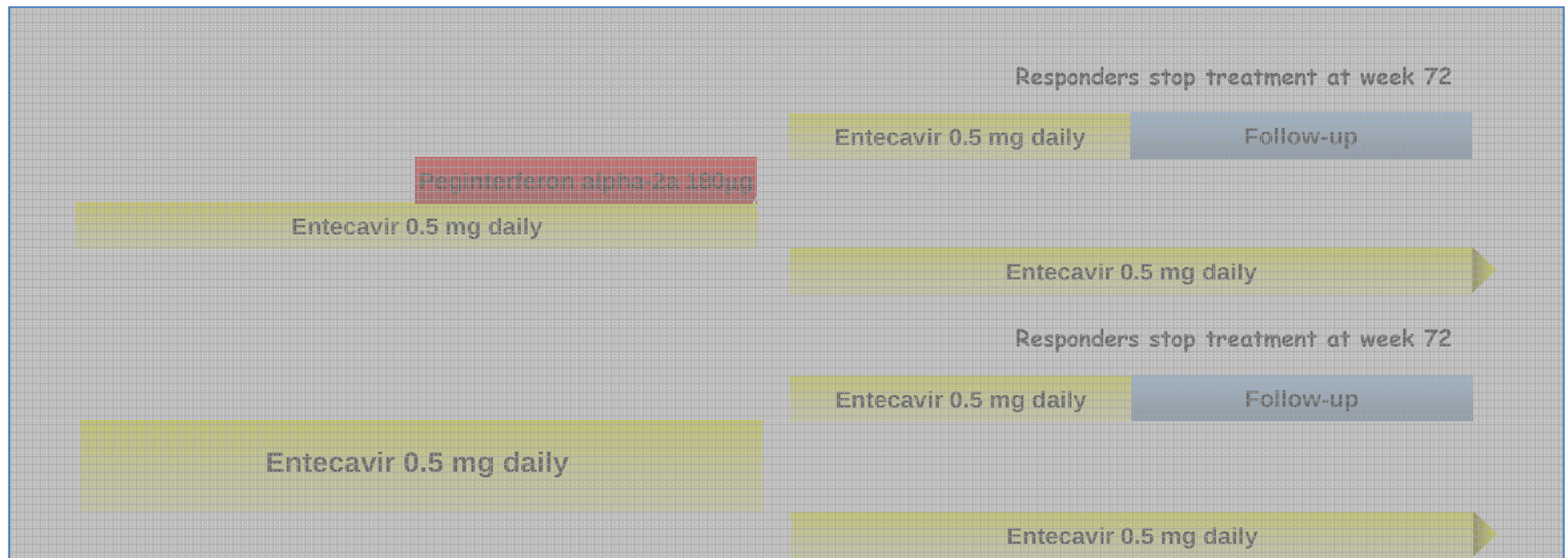
Amélioration de la stabilité
dans le plasma :

- Meilleure délivrance de la forme active (TFV-DP) aux hépatocytes
- Posologie plus faible (Exposition systémique au TFV réduite)

CES1 = carboxylesterase 1; DP= di-phosphate; MP= mono-phosphate.

ARES: adding peginterferon to entecavir in HBeAg-positive CHB patients

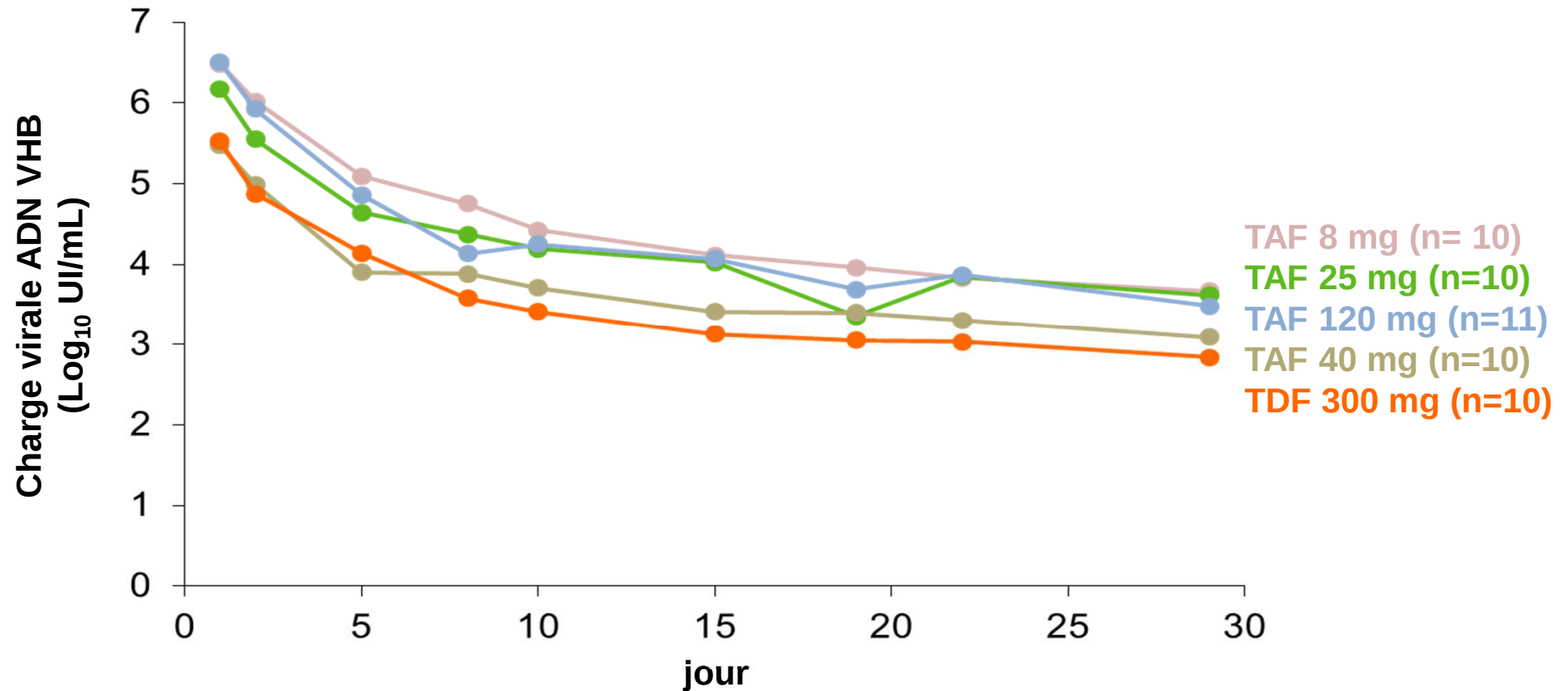
- Investigator-initiated, multicenter, open-label, randomized controlled trial comparing PEG-IFN add-on versus ETV monotherapy
- HBeAg-positive CHB patients with compensated liver disease



❖Response is defined as the combined presence of e-loss and HBV DNA level < 200 IU/ml at week 48

Brouwer W.P., et al. Abstract #03

Phase 1B - Résultats : Déclin de l'ADN du VHB



- ◆ Déclin de la charge virale est similaire pour les différentes doses de TAF (de 8 mg à 120 mg)
- ◆ L'éradication virale est similaire avec TAF et TDF après 4 semaines de traitement

Guérir l'hépatite B : les pistes

✓ Pourquoi ?

- ✓ Vaccin, Amélioration de la survie (réduction du CHC)
- ✓ Perte de l'AgHBs

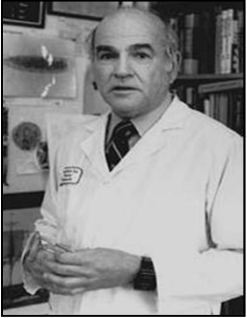
✓ Comment ? Avec les molécules disponibles

- ✓ Combinaisons thérapeutiques (interféron et analogues)
- ✓ TAF

✓ Comment ? Nouvelles cibles

- ✓ Identifier de nouvelles cibles thérapeutiques
- ✓ Perspectives

VHB: il existe un vaccin



1967 : Découverte de l'Ag Australia (*Blumberg et al., 1967*), Prix Nobel en 1976

1970 : Microscopie Electronique (*Dane et al., 1970*)

1972 : Marqueurs sérologiques (*Alter et al., 1972*)

2012 : Recepteur NTCP (*Huan et al., 2012*)

2004 : Quantification AgHBs (*Deguchi et al., 2004*)

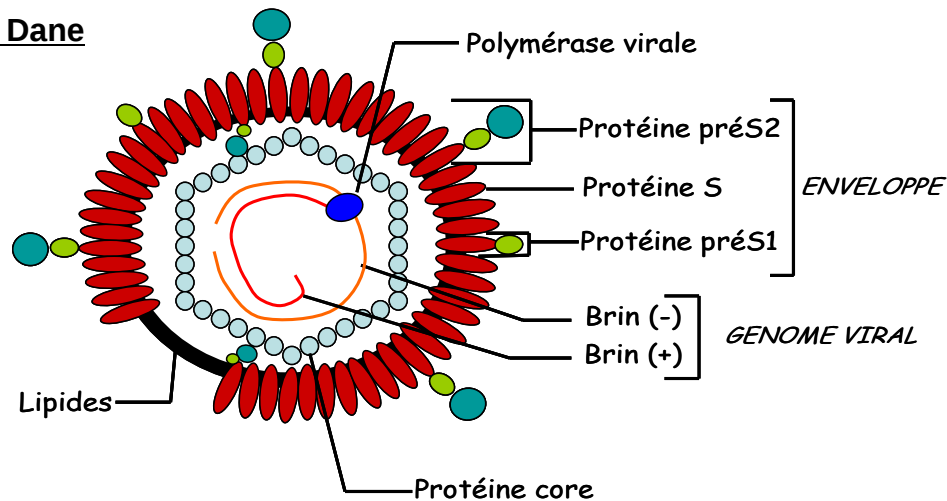
1978 : Sequençage (*Thiollais et al., 1978*)

1976 : Vaccin (*Maupas et al., 1976*)

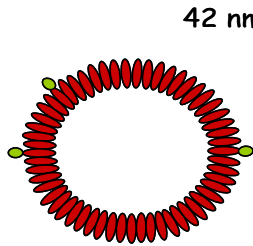
Le virus de l'hépatite B: ADN, AgHBs, et cccDNA

➤ Structure :

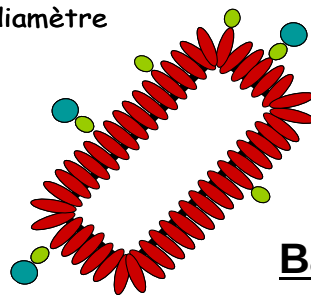
Particule de Dane



Sphère



Bâtonnets

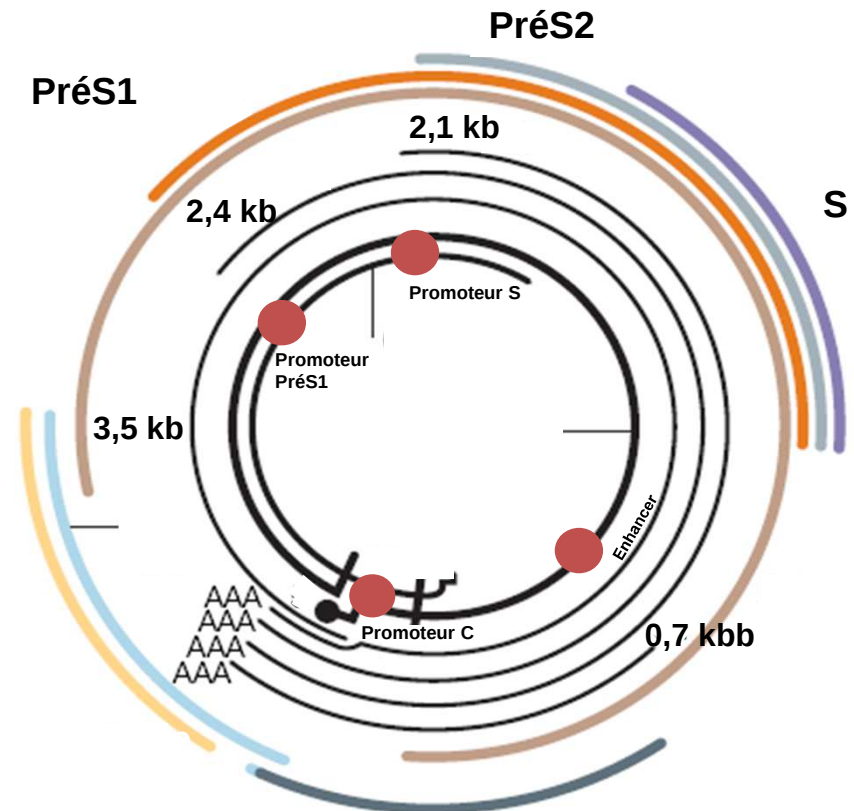


22 nm de diamètre

➤ Organisation du génome viral

Longueur de 3,2Kb

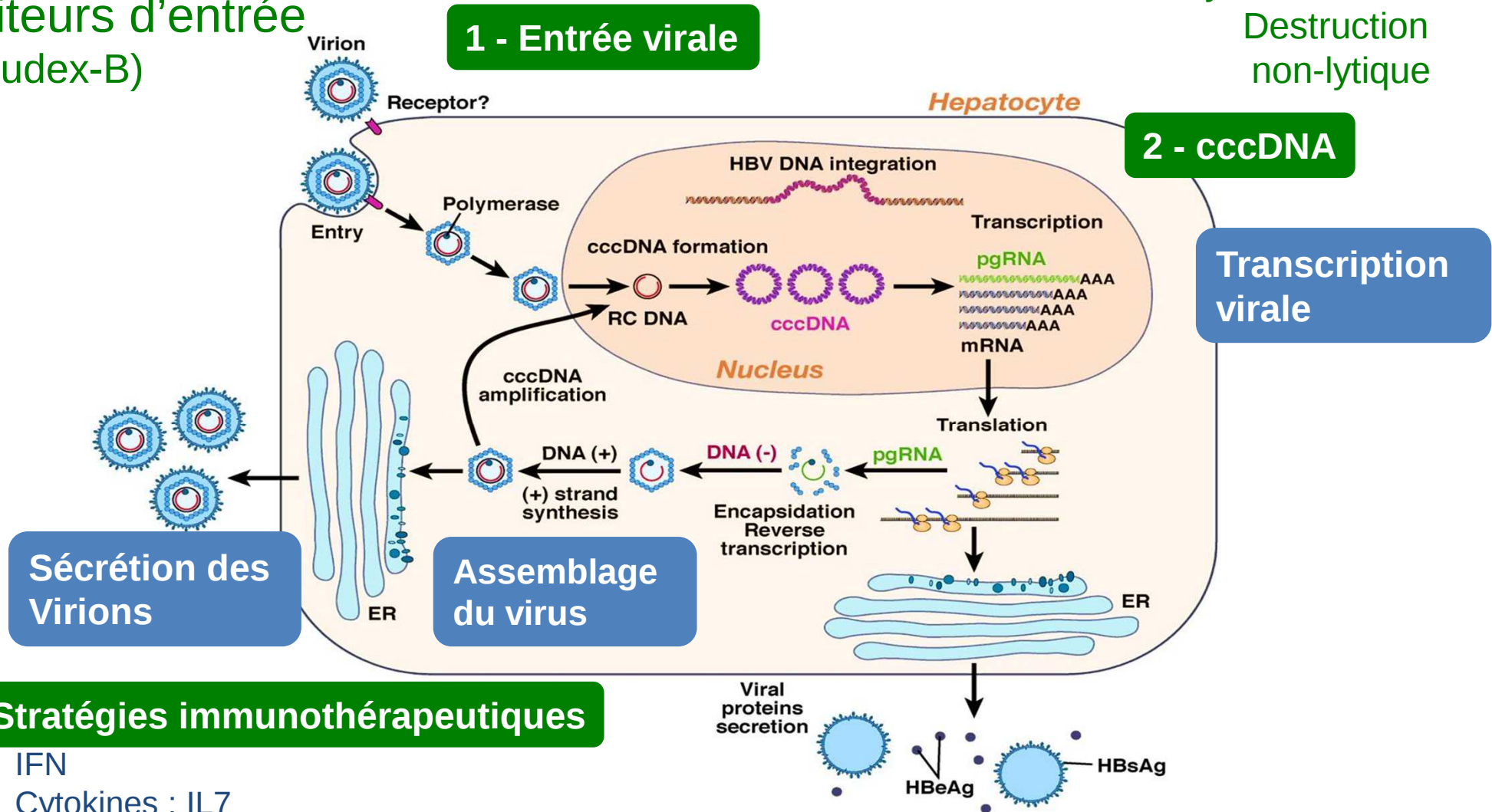
Chevauchement des cadres de lecture



Connaissance du cycle viral : identifier des cibles

Inhibiteurs d'entrée
(Myrcludex-B)

Cytokines : cccDNA
Destruction
non-lytique



3 - Stratégies immunothérapeutiques

IFN

Cytokines : IL7

Vaccins améliorés/boostés

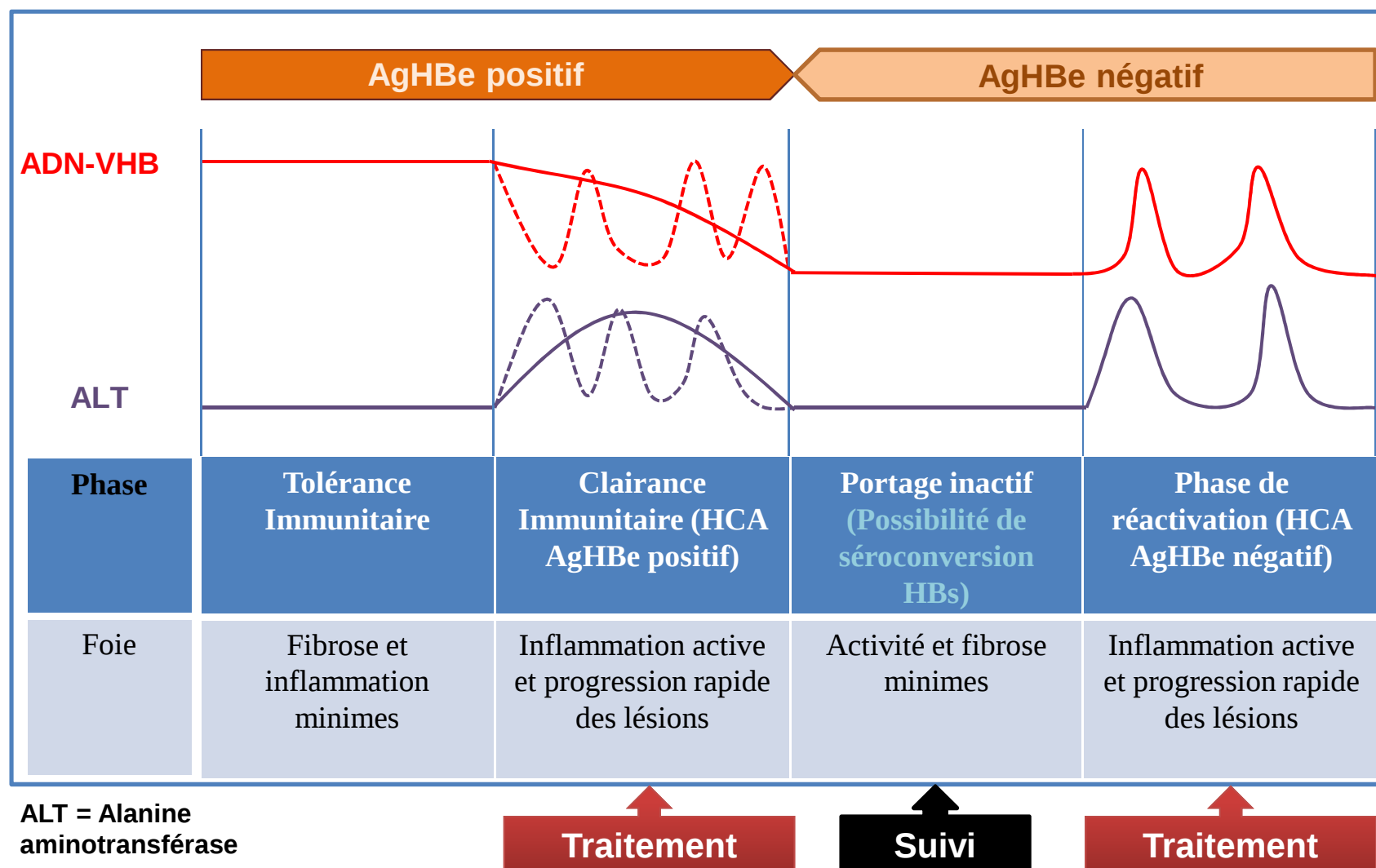
Thérapie cellulaire

cccDNA: closed circular covalent DNA;
RC: relaxed circular; pgRNA: pregenomic RNA;

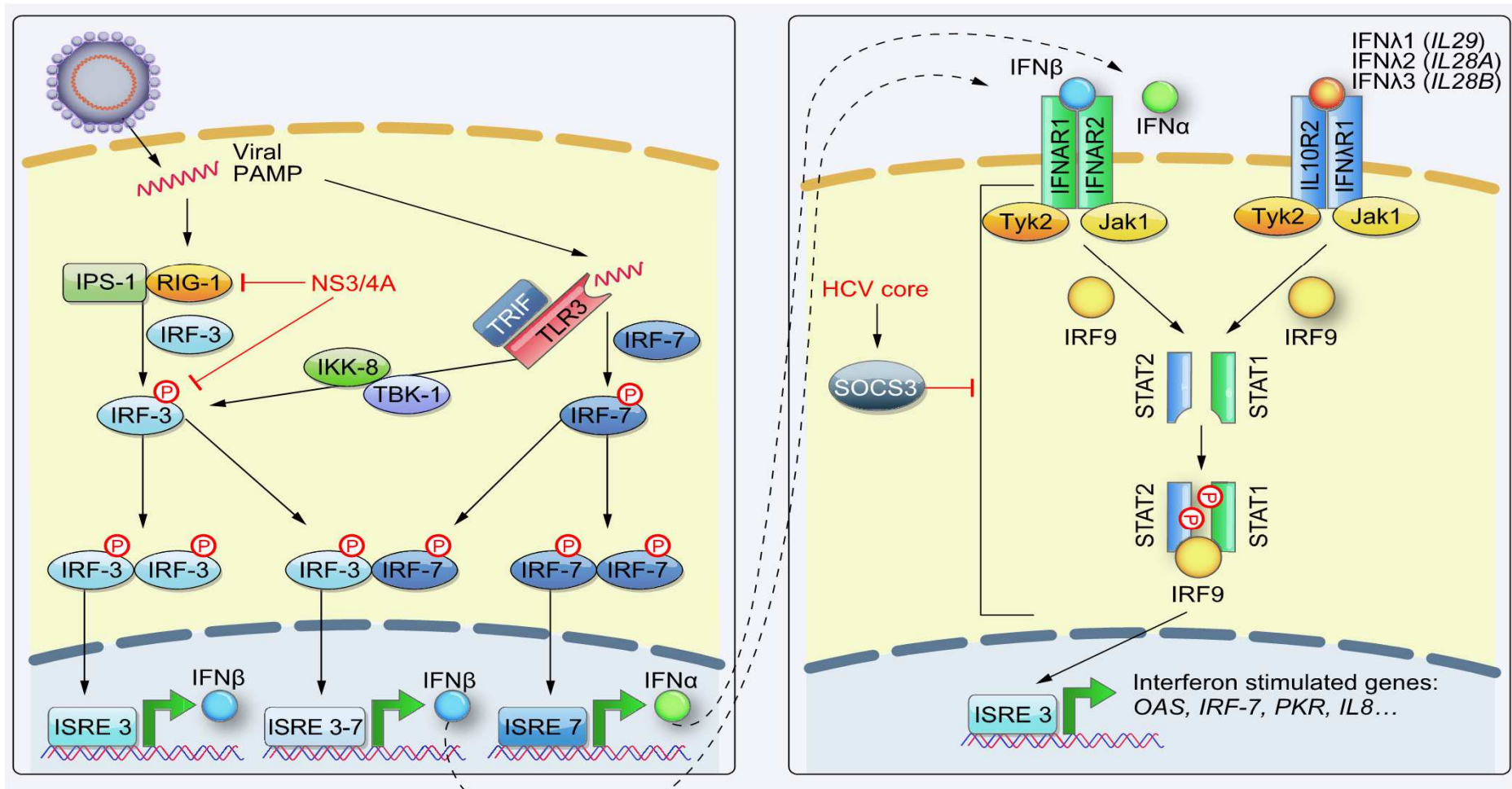
ER: endoplasmic reticulum

Les phases de l'infection chronique par le VHB

Hépatite chronique = persistance de l'AgHBs > 6 mois après le début de l'infection aiguë



Interferon (Interferon Stimulated Genes) et Réponse immunitaire



Eradication du VHB: Guérison ou rémission?

Guérison	Rémission
Modèle de maladies infectieuses	Modèle de cancer (<i>Sleeping beauty</i>)
Elimination de toutes les cellules infectées par le VHB	Rémission clinique en absence de traitement
ADN du VHB indétectable & AgHBs négatif	ADN du VHB < 20,000 UI/ml
Eradication	Guérison fonctionnelle (tolérance immunitaire)
“Guérison”	Elite controllers (Porteurs inactifs - occulte)

Persistence du VHB : cccDNA

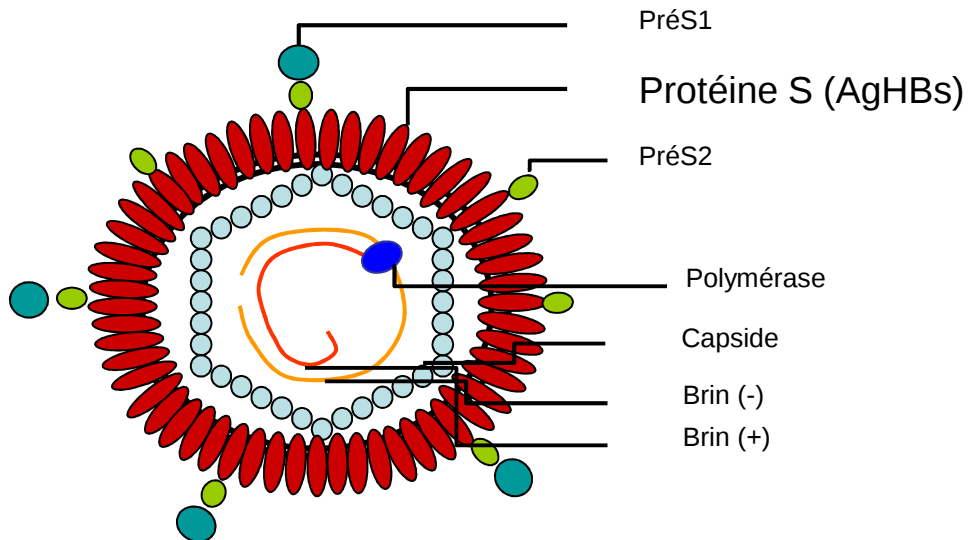
La persistance du cccDNA pourrait être responsable de l'hépatite **chronique B**

- cccDNA est un minichromosome nucléaire
- cccDNA persiste en l'absence de replication virale active
- Le taux de cccDNA nucléaire est réduit mais n'est pas éliminé malgré le traitement et la régénération du foie

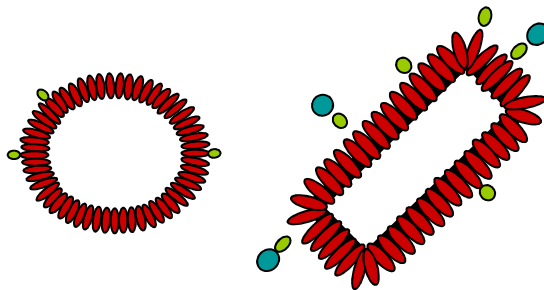
La **guérison** de l'hépatite B implique: l'**élimination**, la **suppression** ou le **contrôle** du cccDNA.

L'AgHBs et le Virus

Particule de Dane



Particules vides



•L'AgHBs est synthétisé à partir de l'ADNccc du VHB.

Seeger C et al. Microbiol Mol Biol Rev 2000.

•Le niveau d'AgHBs pourrait être corrélé au niveau d'ADNccc.

Volz T et al. Gastroenterology 2007.

•L'AgHBs est présent sur les virions et sur les particules non-infectieuses.

Dienes HP et al. Gastroenterology 1990

L'AgHBs induit la synthèse d'anticorps anti-HBs neutralisants (protecteurs).

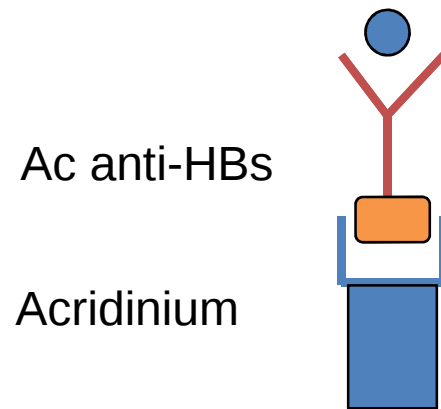
Dienstag JL. N Engl J Med 2008.

L'AgHBs semble refléter l'interaction complexe entre le virus et la réponse immune.

Dienstag JL. N Engl J Med 2008.

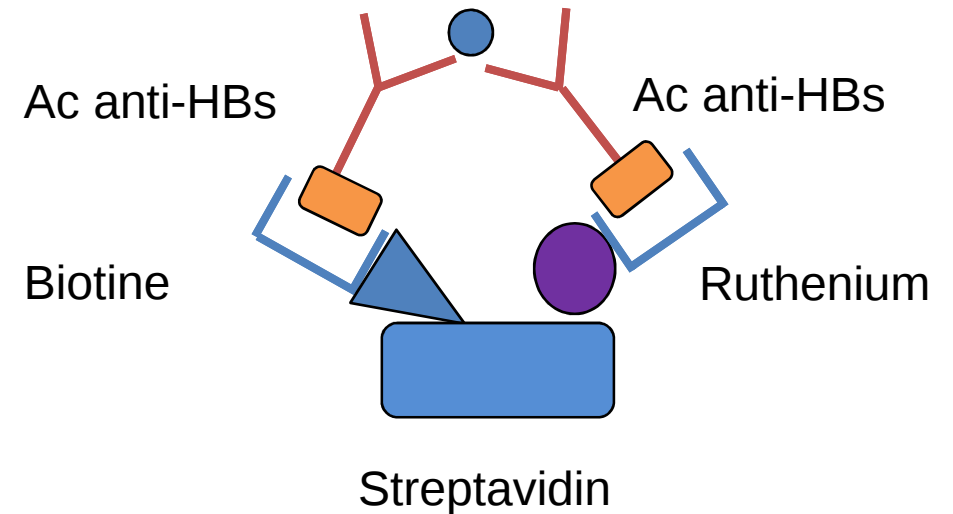
Quantification de l' AgHBs

Architect platform



(<0,05- 250 UI/ml
Dilution automatique 1/20 ou 1/500)

Elecsys HBsAg II



(< 0,05- 52 000 UI/ml
dilution automatique 1/100 ou 1/400)

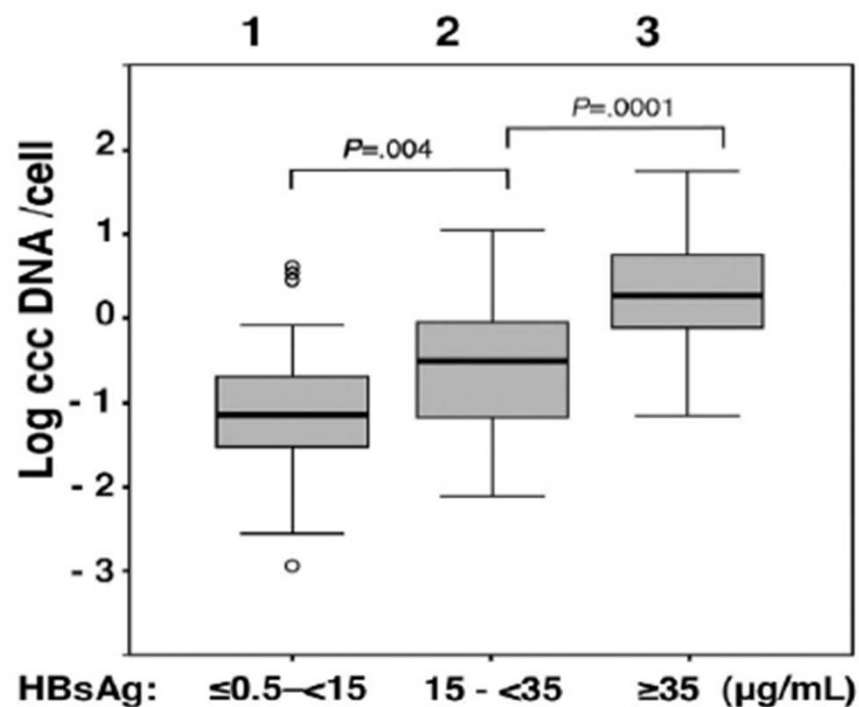
0.05 UI/ml AgHBs



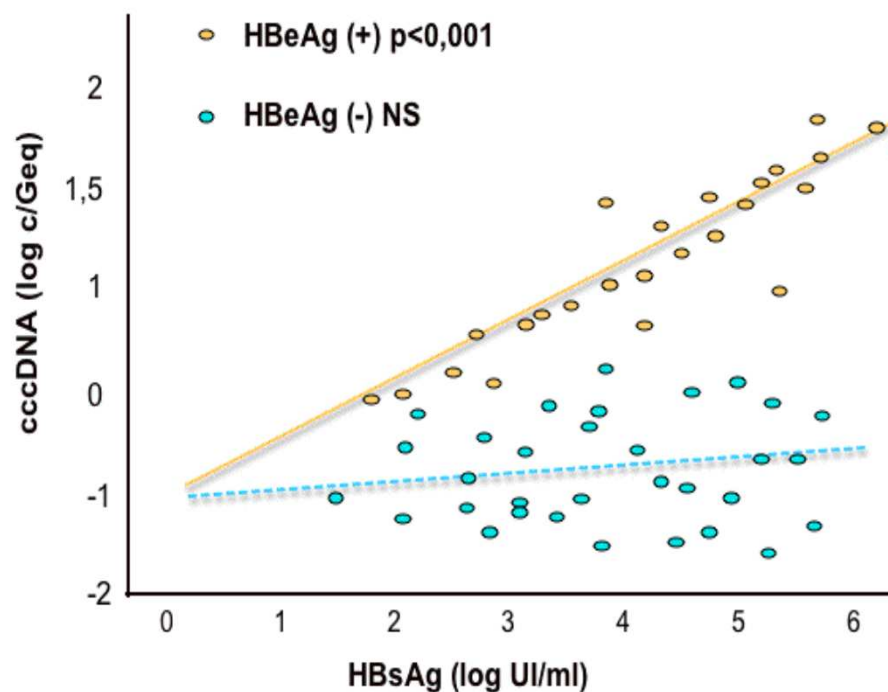
4000 particules virales/ml

Quantification de l' AgHBs : outils

Intérêt porté à la quantification de l'AgHBs est fondé sur les études initiales montrant une association entre le titre AgHBs sérique et la quantité de cccDNA présent dans l'hépatocyte



HBeAg positif 42 et HBeAg négatif 77

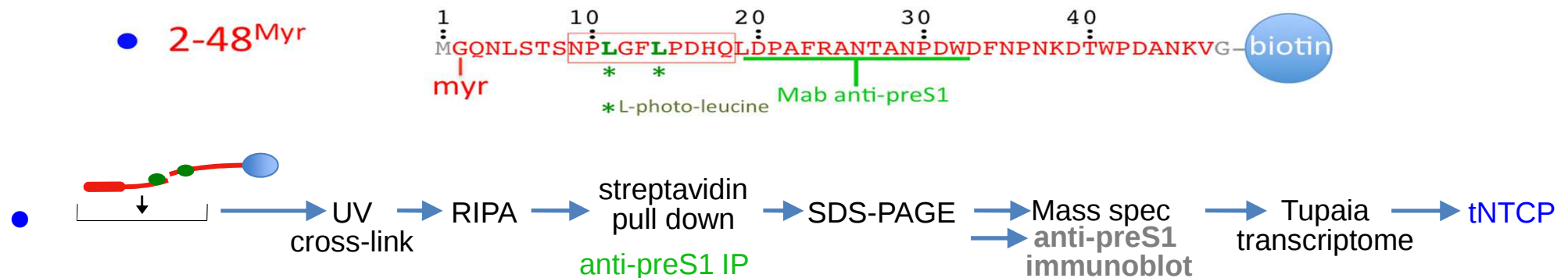


HBeAg positif 71 et HBeAg négatif 78

Identification du Récepteur du VHB: Sodium taurocholate cotransporting polypeptide (NTCP)

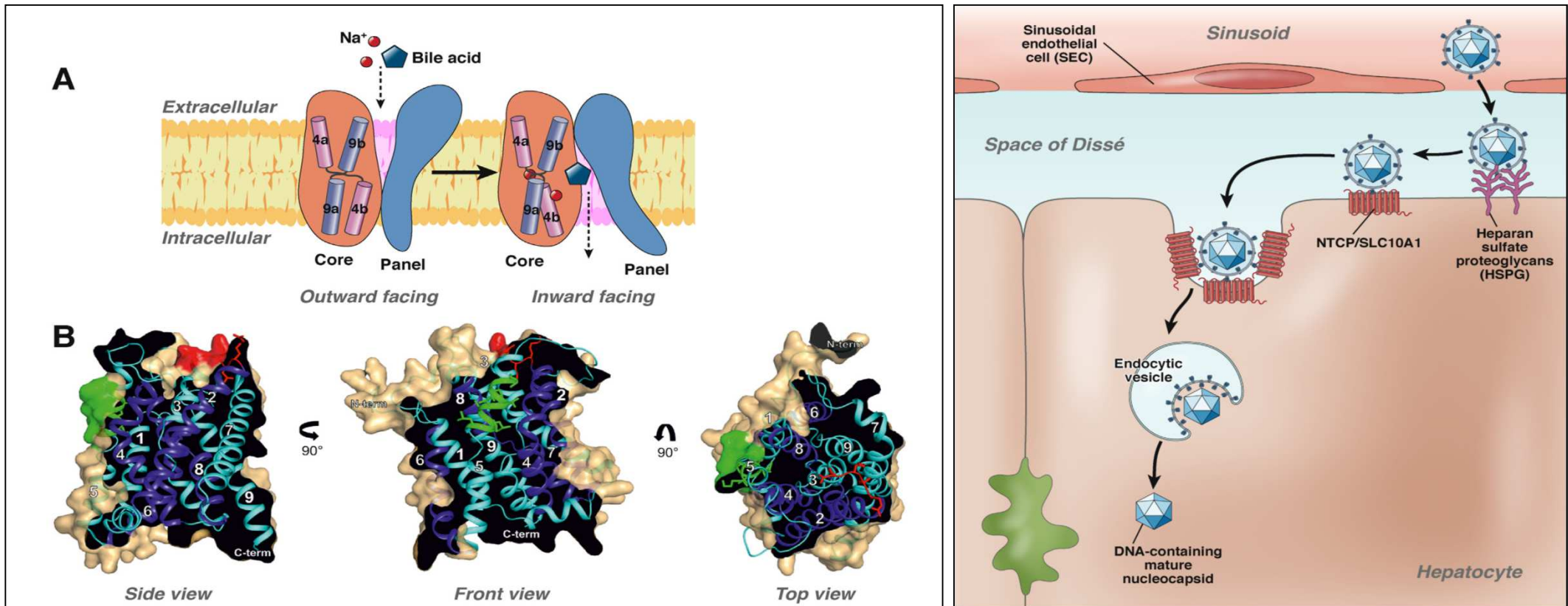


- Modèle d'infection expérimentale: treeshrews (*Tupaia belangeri*)



- Le sodium taurocholate cotransporting polypeptide (NTCP) est un récepteur fonctionnel du HBV et du HDV

Identification du Récepteur du VHB: NTCP



Urban et al. Gastroenterology. 2014 Jul;147(1):48-64.

Stratégie de guérison du VHB:

Elimination du cccDNA en utilisant des enzymes ingénierées de clivage de l'ADN

OPEN ACCESS Freely available online

PLOS COMPUTATIONAL BIOLOGY

Predictors of Hepatitis B Cure Using Gene Therapy to Deliver DNA Cleavage Enzymes: A Mathematical Modeling Approach

Joshua T. Schiffer^{1,2*}, Dave A. Swan¹, Daniel Stone¹, Keith R. Jerome^{1,3}

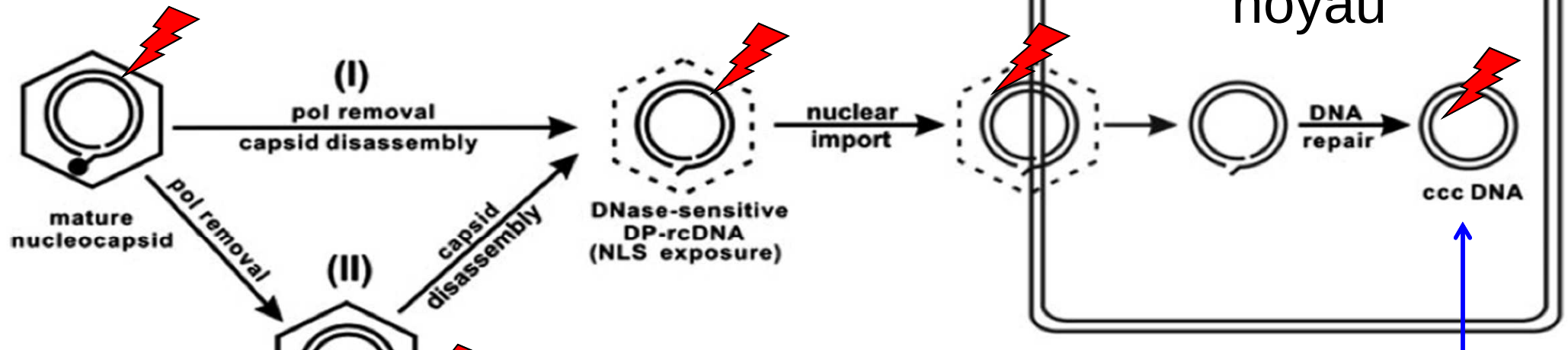
¹ Vaccine and Infectious Diseases Division, Fred Hutchinson Cancer Research Center, Seattle, Washington, United States of America, ² Department of Medicine, University of Washington, Seattle, Washington, United States of America, ³ Department of Laboratory Medicine, University of Washington, Seattle, Washington, United States of America

Facteurs importants pour la réussite d'une thérapie basé sur des enzymes de restriction:

- Choix du vecteur pour la délivrance du gène (clairance immunitaire, nombre de copies de gènes transférés, etc...)
- Délivrance spécifique aux hépatocytes (toxicité minimisé et efficacité maximisé)
- Affinité de fixation entre l'ADN-Enzyme et l'efficacité de clivage
- Nombre de doses nécessaire pour la guérison
- Développement de résistance et besoin de combinaison d'enzymes de clivage

Formation du cccDNA et Interaction avec la Capside

⚡ = Sites d'interaction de HBC avec l'acide nucléique du VHB



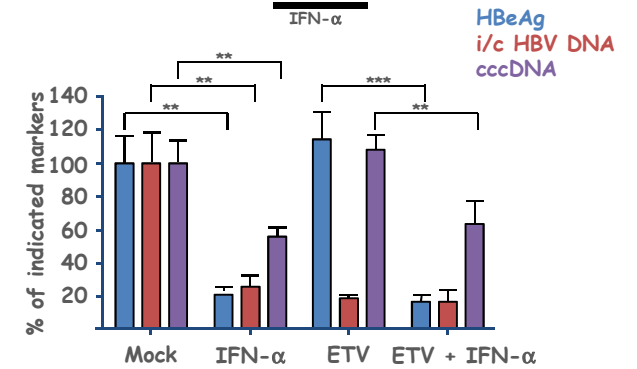
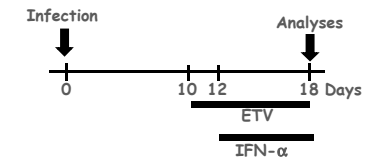
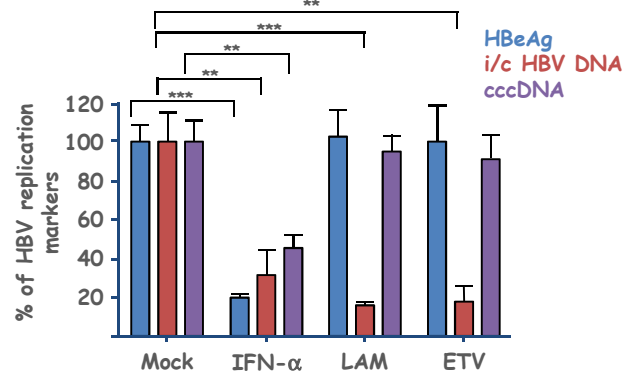
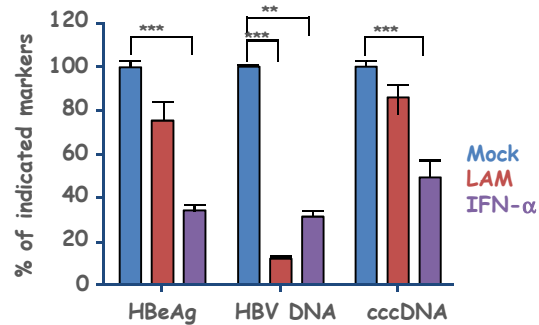
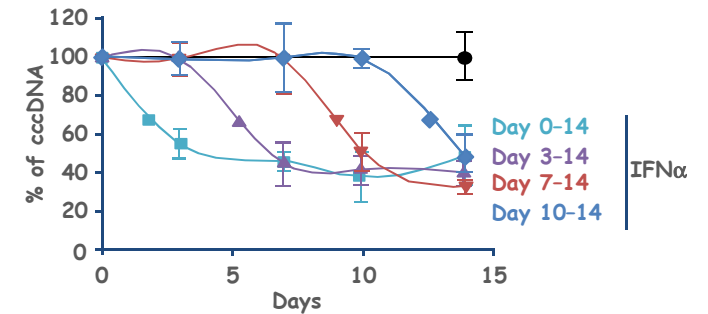
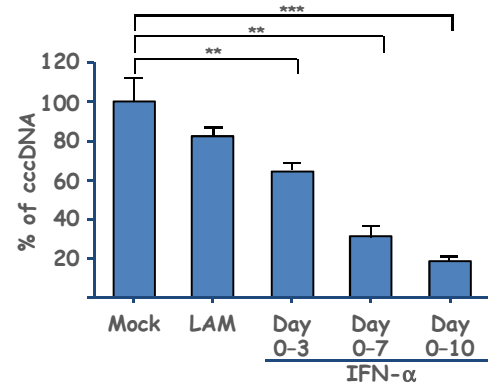
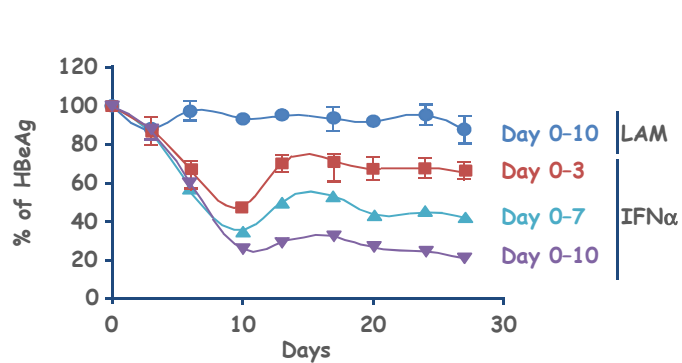
Interaction de la capside avec des précurseurs du cccDNA

Interaction directe avec le cccDNA:

- La capside interagit avec des îlots CpG
- Corrélation négative avec la méthylation de l'ADN
- Rôle de l'épigénétique dans activation de la transcription

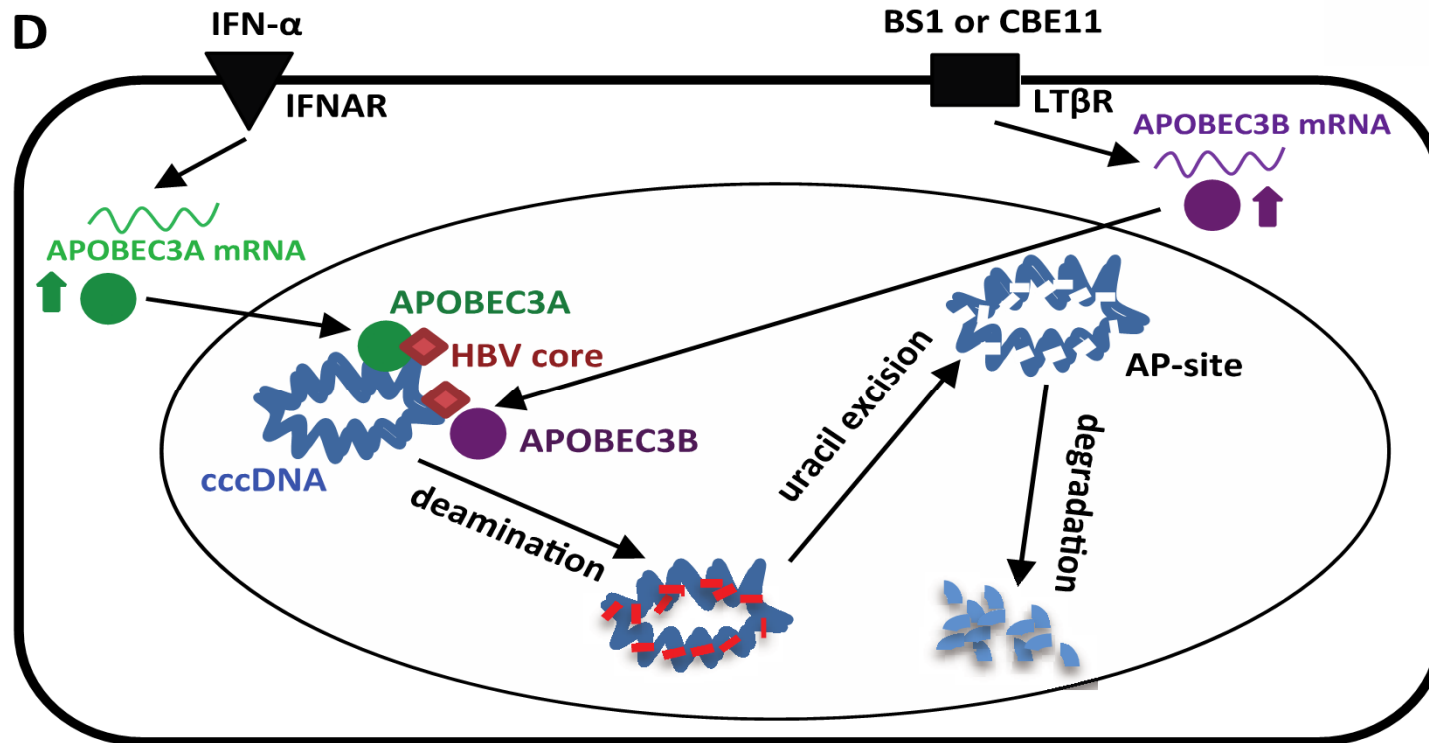
Rôle des effecteurs de la capside dans la formation du cccDNA reste inconnu à ce jour

L'IFN α diminue la quantité de cccDNA *in vitro*



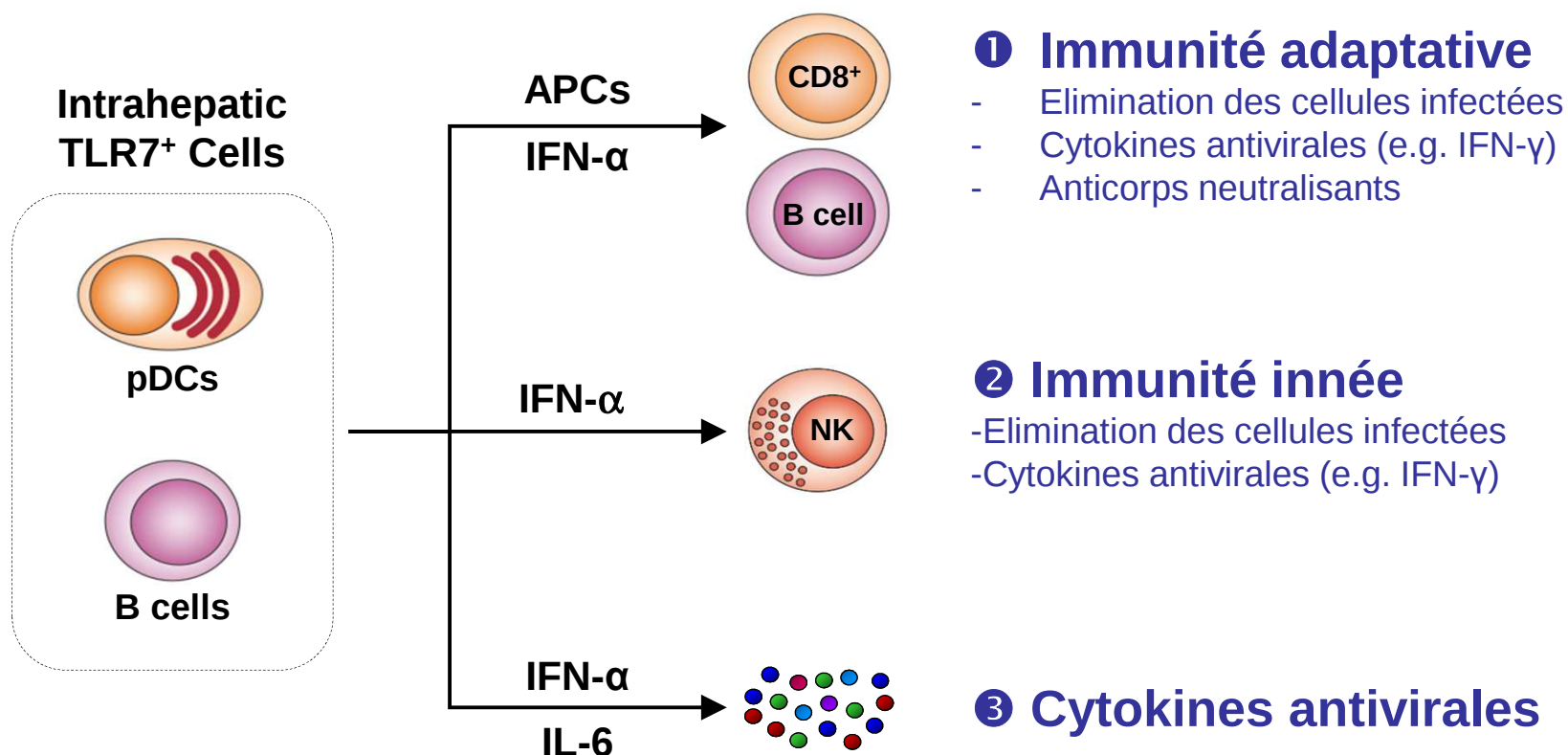
In HepaRG cells unless stated
*P<0.05; **P<0.01; ***P<0.001

Agoniste du Récepteur β de la Lymphotoxine (LT β R)



L'induction de l'activité des déaminases nucléaires, par exemple par l'activation du Récepteur β de la lymphotoxine, permettra le développement de nouveaux traitements, en combinaison avec des antiviraux déjà existants, et ainsi de guérir de l'hépatite B.

Cible : Toll-Like Receptor 7 (TLR7)

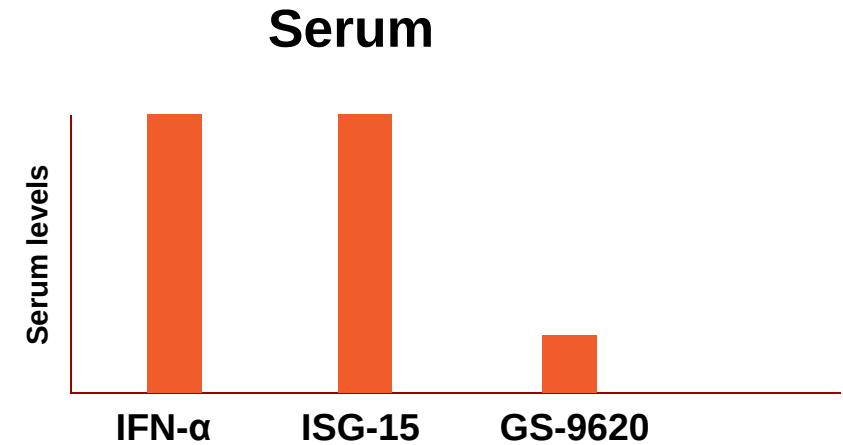
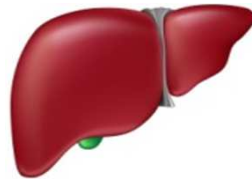


pDC, Cellule dendritique plasmacytoïde
APC, Cellule présentatrice d'antigène
IFN, interféron

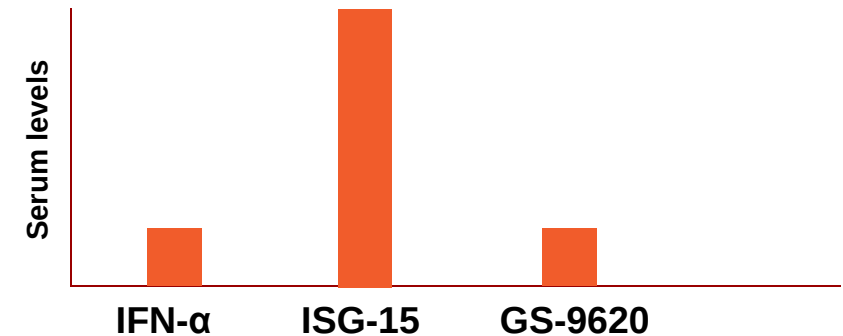
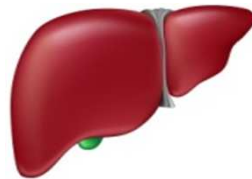
GS-9620 (Agoniste du TLR7, voie orale): Activation pre-systémique

Objectif: Développer un agoniste du TLR-7 qui ne stimule pas une réponse systémique IFN- α

GS-9620
IV dosing



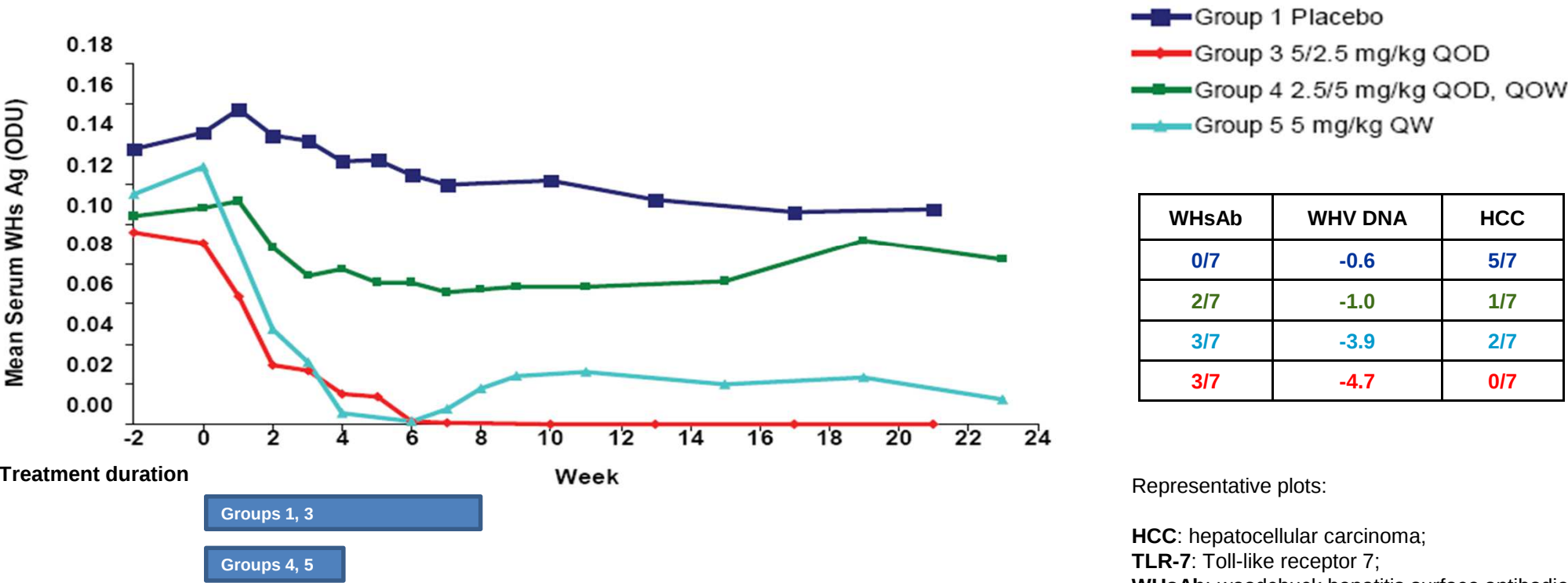
GS-9620
Oral dosing



Déclin du WHsAg avec GS9620

woodchuck

hepatitis virus)



Representative plots:

HCC: hepatocellular carcinoma;
TLR-7: Toll-like receptor 7;
WHsAb: woodchuck hepatitis surface antibodies;
WHV: woodchuck hepatitis virus

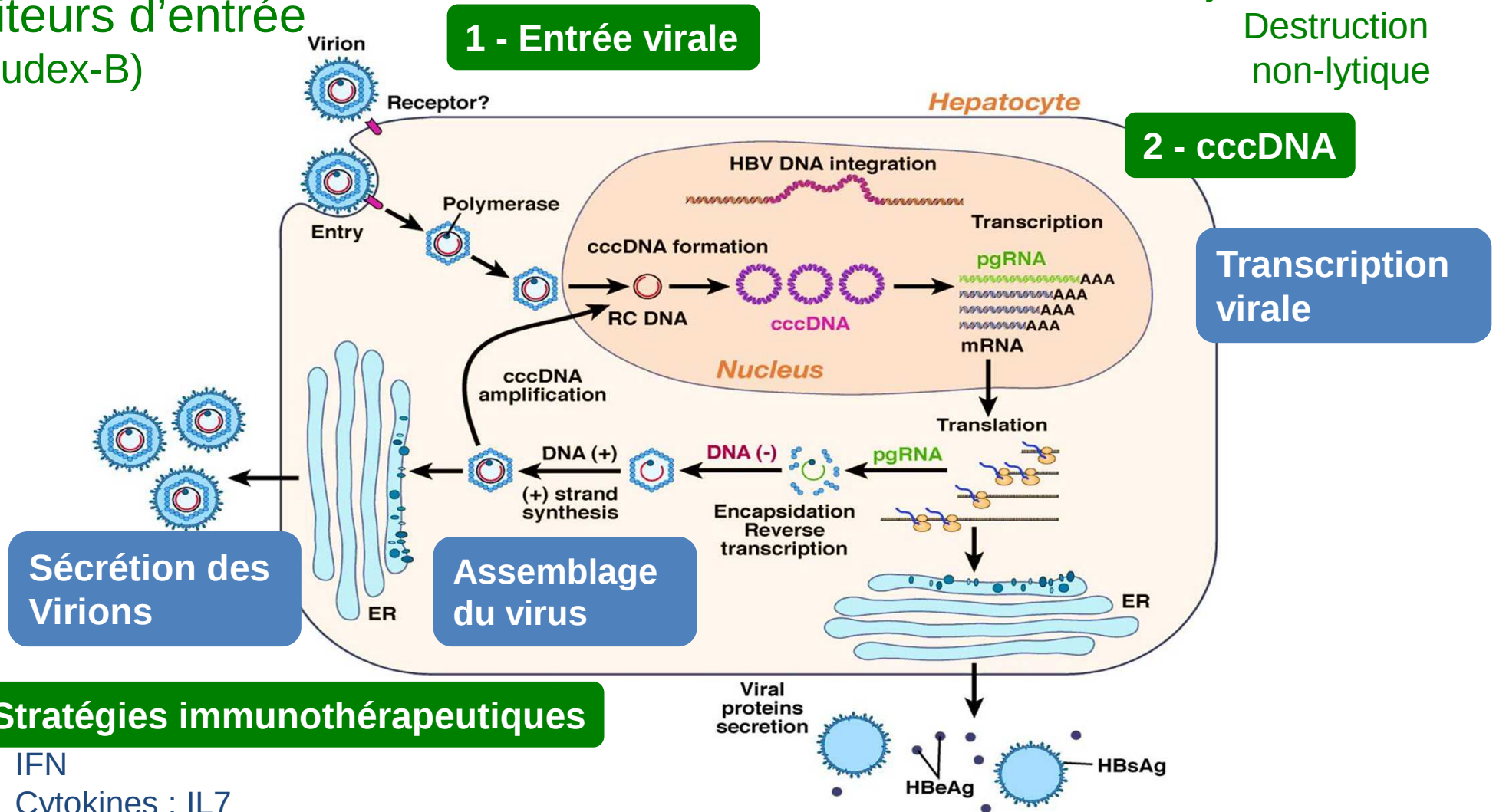
Conclusion : Guérir l'hépatite B

- ✓ Importance de la Recherche
- ✓ Combinaisons thérapeutiques : IFN + analogues
- ✓ TAF
- ✓ Nouvelles cibles

Perspectives

Inhibiteurs d'entrée
(Myrcludex-B)

Cytokines : cccDNA
Destruction
non-lytique



3 - Stratégies immunothérapeutiques

IFN

Cytokines : IL7

Vaccins améliorés/boostés

Thérapie cellulaire

cccDNA: closed circular covalent DNA;
RC: relaxed circular; pgRNA: pregenomic RNA;

ER: endoplasmic reticulum

Recherche sur le VHB

- **Capsid inhitor - Novira** – AASLD 2014 - *LB19 Ed Gane et al – Phase 1*
- **Entry inhibitor - Myrcludex** – AALSD 2014, *LB 20 S Urban et al – Phase 2*
- **siRNA - ACR 520** - AASLD 2014, LB21 M Yuen et al – Phase 2b
- **TLR 7 agonist – mechanism of action** – Niu C et al, AASLD 2014 #1879
- **Chromatin modyfying enzymes** - M Leverero et al, AASLD 2014 # 220

References

- Liaw YF et al. Asian-Pacific consensus statement on the management of chronic hepatitis B: a 2012 update. *Hepatology* 2012;6:561-561.
- Marcellin & Asselah. Long-term therapy for chronic hepatitis B. *J Gastroenterol Hepatology* 2013;28:912-23.
- Yan et al. Sodium taurocholate cotransporting polypeptide is a functional receptor for human hepatitis B and D virus. *Elife*. 2012 Nov 13;1:e00049.
- Lucifora *et al*. Specific and nonhepatotoxic degradation of nuclear hepatitis B virus cccDNA. *Science* 343, 1221, 2014.
- Martinot et al. HBsAg quantification to manage HBV patients. *Liver International* 2015.