

# Les globules rouges de culture en complément de la transfusion

## Enfin à portée de main!

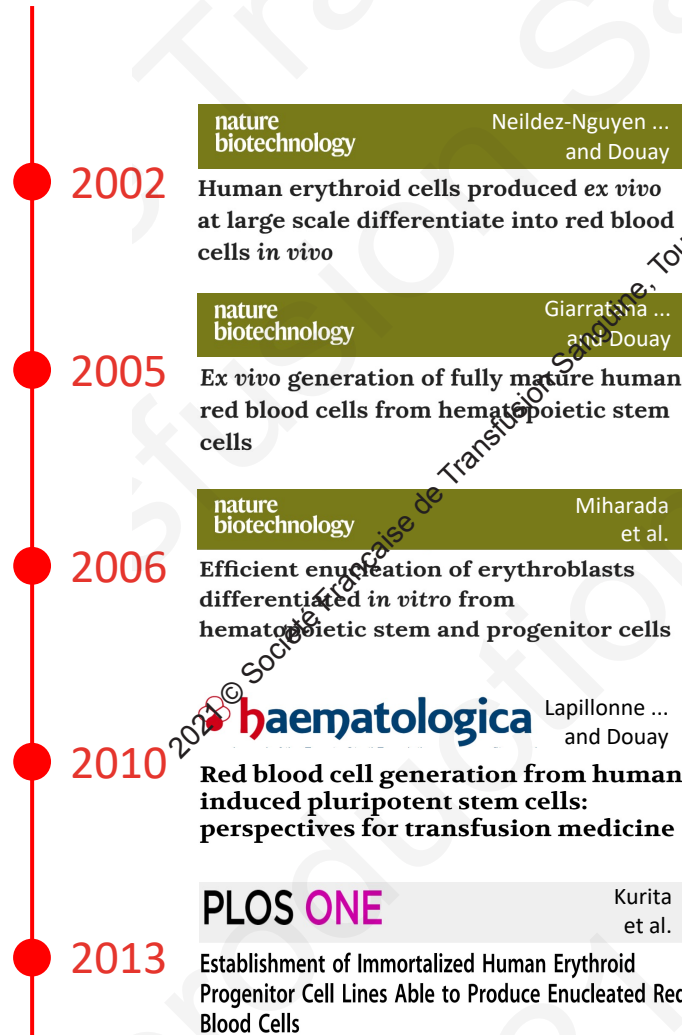
**Guillaume Rousseau**, Ph.D  
Directeur R&D d'Erypharm

**Luc Douay**, Pr, MD, Ph.D  
Sorbonne Université  
Président et Directeur Scientifique d'Erypharm

# **Question 1:**

## **Peut-on fabriquer des globules rouges de culture (GRc) *in vitro*?**

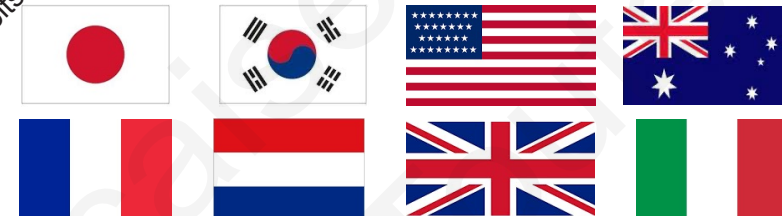
## Faisabilité



- Génération **d'érythroblastes** à partir de *cellules souches hématopoïétiques (CSH)*
- Maturation des érythroblastes en globules rouges *in vivo* chez la souris
- Génération de **globules rouges matures** à partir de *CSH*
- Co-culture sur cellules adhérentes
- Génération de **réticulocytes** à partir de *CSH*
- Pas de co-culture mais du plasma/sérum dans le milieu de culture
- Génération de **réticulocytes** à partir de *cellules souches embryonnaires (CSE)*
- Et à partir de *cellules souches pluripotentes induites (iPS)*
- Génération de **réticulocytes** à partir de *lignées érythroïdes humaines*

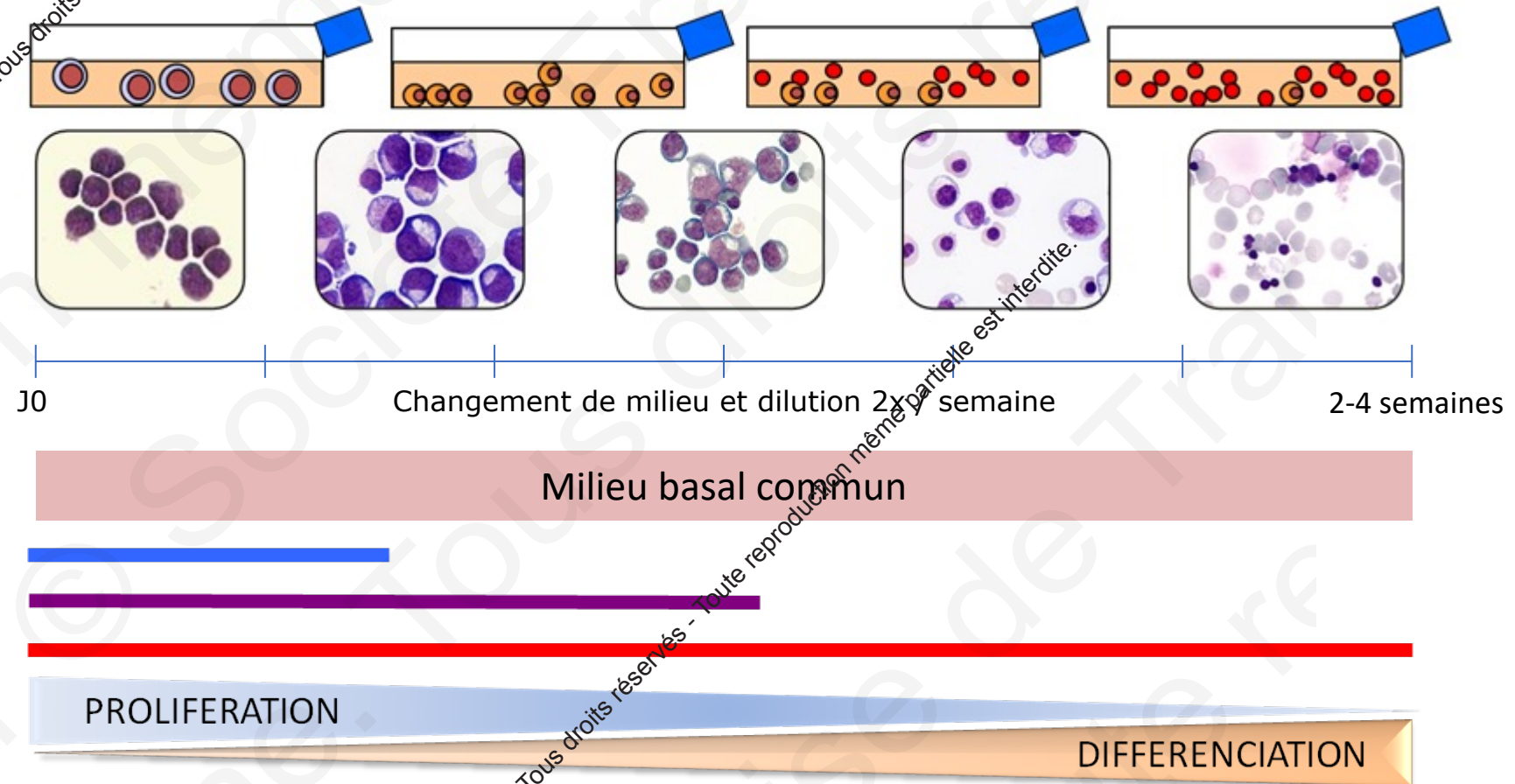
Améliorations des protocoles...

Une émulation scientifique mondiale



## Aspects pratiques – A partir de CSH ou de lignées érythroïdes immortalisées

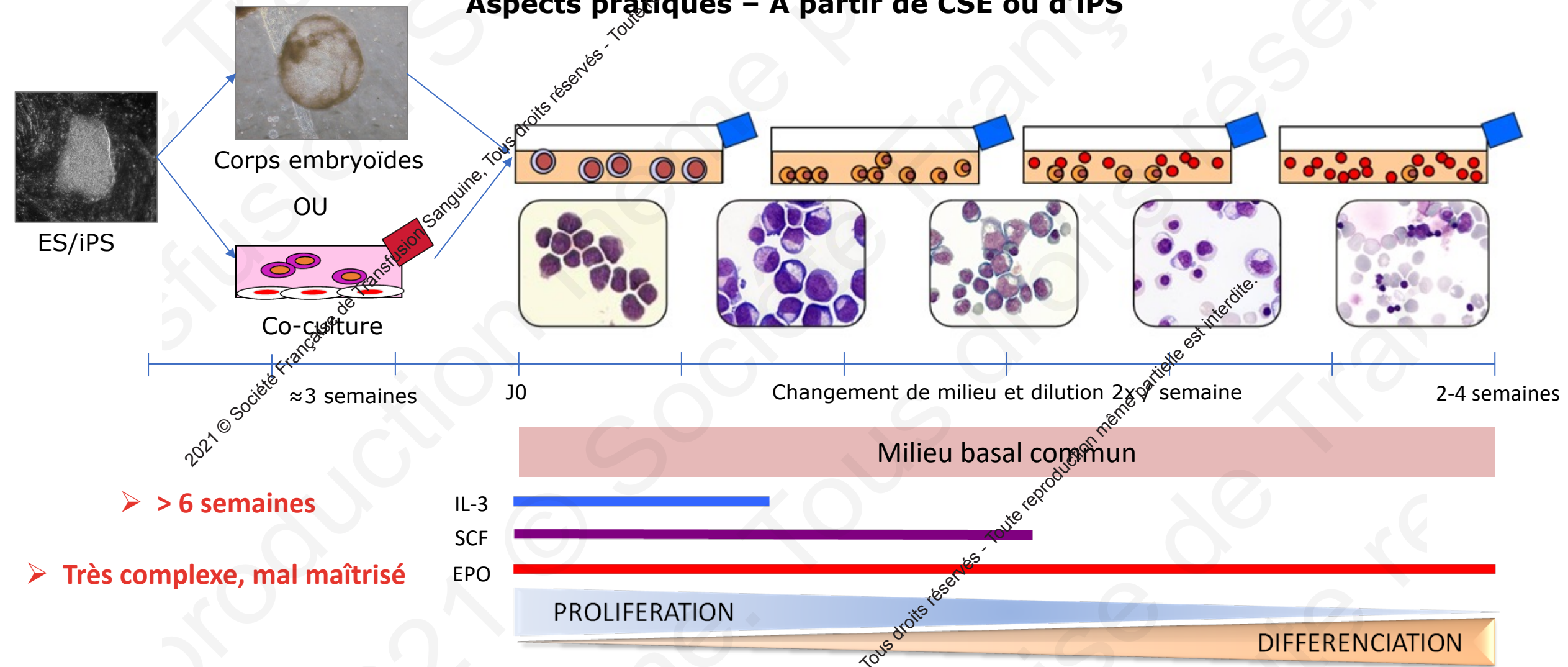
- **Procédé de 3 semaines**
- **Relativement simple pour des chercheurs**
- **Complicé industriellement (stimulation dynamique)**



## Question 1

## Peut-on fabriquer des GRc *in vitro*?

### Aspects pratiques – A partir de CSE ou d'iPS



**Synthèse – choix de la source cellulaire**

| Critère               | CSH        | iPS      | CSE | Lignées érythroïdes immortalisées |
|-----------------------|------------|----------|-----|-----------------------------------|
| Maîtrise à date       | +++        | +        | +   | +                                 |
| Complexité            | Minimale   | +++      | +++ | Minimale                          |
| Phénotype étendu      | (Possible) | Possible | Non | Possible                          |
| Source illimitée      | Non        | Oui      | Oui | Oui                               |
| Risque oncogénique    | Non        | Oui      | Non | Oui                               |
| Préoccupation éthique | Non        | Non      | Oui | Non                               |

**Les CSH sont bien maîtrisées, faciles à cultiver et ne posent aucun problème éthique ou oncogénique**

**Synthèse – choix de la source de CSH**

| Critère           | Sang de cordon              | Sang périphérique après mobilisation G-CSF |
|-------------------|-----------------------------|--------------------------------------------|
| Sélection donneur | Limitée                     | Approfondie                                |
| Rendement         | > 100 unités de GRc par don | > 100 unités de GRc par don                |
| Qualité           | Hémoglobine foetale         | Hémoglobine adulte                         |
| Accessibilité     | Simple                      | Limitée                                    |

**Notre choix : les cellules nucléées totales collectées par cytaphérèse chez des donneurs mobilisés par G-CSF**

**On peut fabriquer des GRc *in vitro*.**

**Mais le procédé est plus compliqué  
et le produit plus cher qu'à partir des dons de sang...**

**Question 2: Pourquoi faire des GRc?**

### 1/ Avantages qualitatifs



**Proof of principle for transfusion of *in vitro* generated red blood cells**

2011

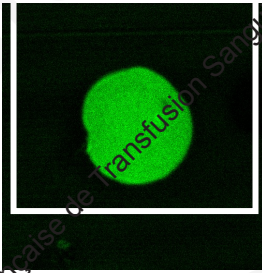
1/ Injection de GRc à la souris

2/ Première injection de 2 mL de GRc autologues fabriqués à partir de CSH de sang périphérique – artisanat

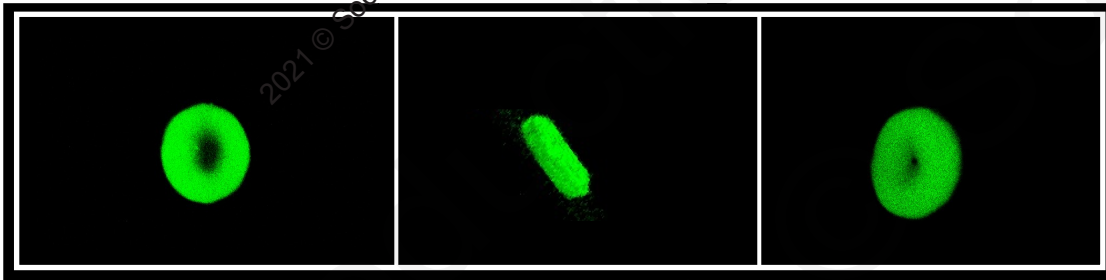


**MATURATION DES GRc  
chez la souris**

**MICROSCOPIE CONFOCALE**

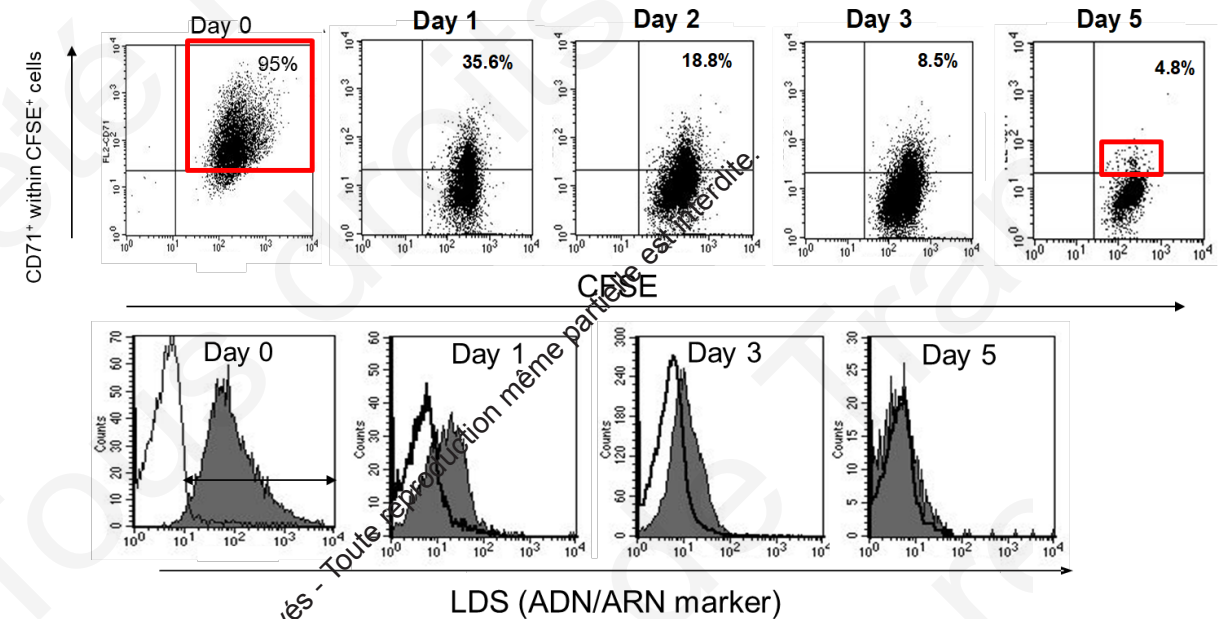


GRc avant injection



GRc 3 jours après injection

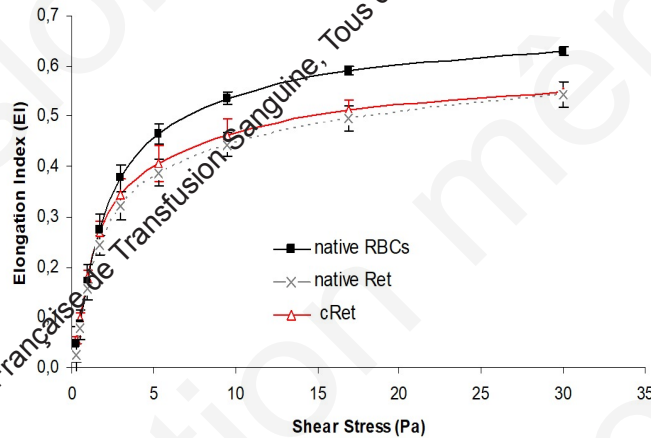
**CYTOMETRIE EN FLUX**



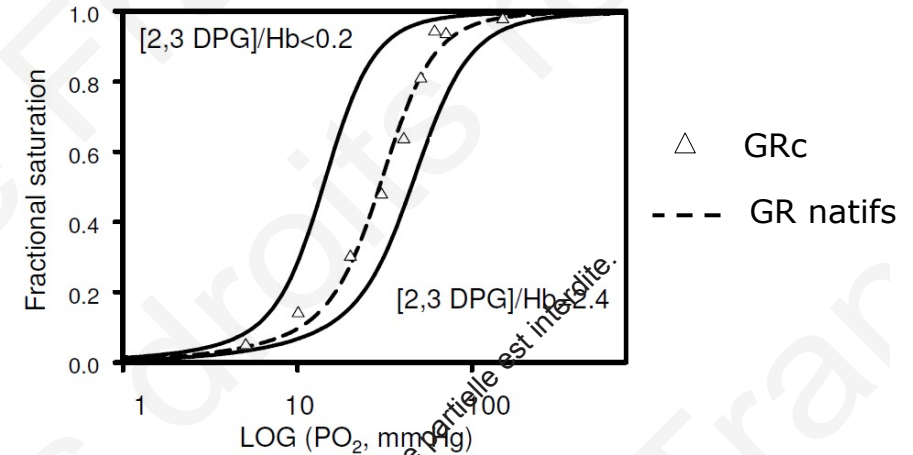
Les GRc évoluent en quelques jours en globules rouges matures

## FONCTIONNALITE des GRc : comparable à des réticulocytes natifs

### DEFORMABILITE



### LIAISON AU DIOXYGENE



La demi-vie d'une population de GRc est supérieure à celle de GR natifs issus du don

**Marquage au  
Chrome-51**

GR natifs  
28 ± 2 jours

VS

**GRc:  
Entre 37 et 54 jours**

### 1/ Avantages qualitatifs



Proof of principle for transfusion of *in vitro* generated red blood cells

2011

1/ Injection de GRc à la souris

2/ Première injection de 2 mL de GRc autologues fabriqués à partir de CSH de sang périphérique – artisanat

- Les GRc sont déformables ☒
- Leur hémoglobine (HbA) est fonctionnelle ☒
- Les GRc achèvent leur maturation *in vivo* ☒
- **Jeune de façon homogène, la population de GRc survit plus longtemps *in vivo* que des GR issus du don.**

### 1/ Avantages qualitatifs



Proof of principle for transfusion of *in vitro* generated red blood cells

### 2/ Avantages conceptuels

Banking de phénotypes d'intérêt  
Vieillessement de la population

2011

1/ Injection de GRc à la souris

2/ Première injection de 2 mL de GRc autologues fabriqués à partir de CSH de sang périphérique – artisanat

➤ Les GRc sont déformables



➤ Leur hémoglobine (HbA) est fonctionnelle



➤ Les GRc achèvent leur maturation *in vivo*

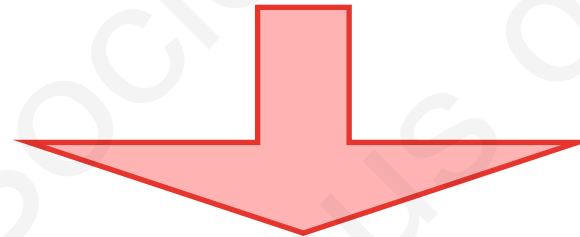


➤ **Jeune de façon homogène, la population de GRc survit plus longtemps *in vivo* que des GR issus du don.**

→ **Disponibilité permanente de sang compatible**  
→ **Source complémentaire**

- ✓ **Potentialisation de donneurs sélectionnés**  
**1 donneur de CSH → 100 CGRc**
- ✓ **Un produit amélioré par rapport au produit issu du don de sang**  
**Les populations de GRc vivront plus longtemps que celles de GR issus du don**

### TRANSFUSIONS ESPACEES ET MIEUX ADAPTEES



**MOINS D'IMMUNISATION**

**MOINS D'INFECTIONS**

**MOINS DE SURCHARGE  
EN FER**

**MOINS  
D'HOSPITALISATIONS**

**La transfusion de GRc devrait être plus efficace que celle de GR issus du don**

**Question 3 : Qui en bénéficiera le plus?**

### PATIENTS TRANSFUSION-DEPENDANTS (PTD)

**Cette minorité de patients reçoit la majorité des poches de sang**

*e.g.: Pour le traitement de la drépanocytose, les PTD utilisent 78% des poches de sang*

### DESCRIPTION DU PROBLEME

- 10-30% d'allo-immunisation
- Surcharge en fer → traitements à vie
- Risques d'infection augmentés
- Qualité de vie largement dégradée
- **En fin de course, mort prématurée**
  - **Drépanocytose:  $\leq 50$  ans**
  - **$\beta$ -Thalassémie:  $\leq 30$  ans**

#### Pathologies associées :

- $\beta$  Thalassémie
- Drépanocytose
- Syndromes myélodysplasiques

#### Nombre de PTD USA+EU

|                             |        |
|-----------------------------|--------|
| $\beta$ Thalassémie         | 15,000 |
| Drépanocytose               | 75,000 |
| Syndromes myélodysplasiques | 75,000 |

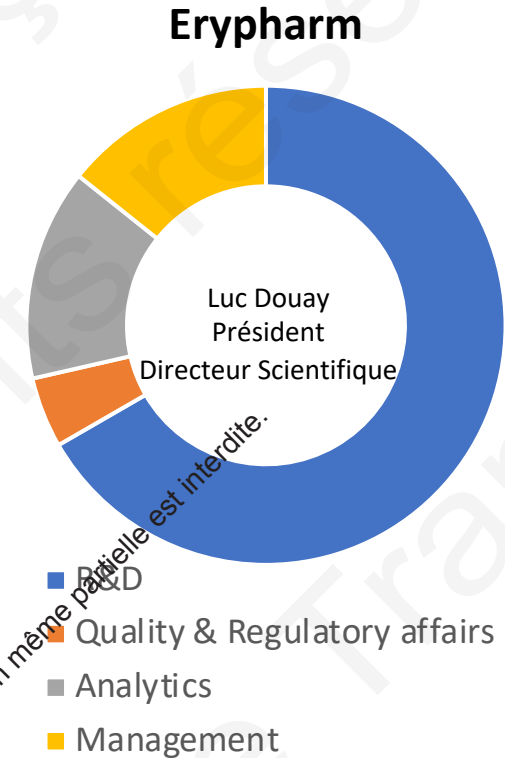
**Les patients transfusion-dépendants ont besoin de nouveaux traitements améliorés**

## **Les GRc permettront d'améliorer l'offre de soin des patients transfusion-dépendants**

**Question 4 : Est-ce économiquement viable et socialement acceptable?**



**20 personnes**



**Mission :**  
**Transformer les globules rouges de culture  
en une réalité tangible, robuste et viable pour la transfusion,  
en complément du don de sang**

### 5 chiffres pour poser le problème :

- CAR-T cells autologues : 1 dose de  $10^8$  cellules  $\approx$  400 000€
- GRs issus du don : 1 dose de  $10^{12}$  cellules  $\approx$  200€

➤ **Le procédé doit être des millions de fois plus efficace (!)**

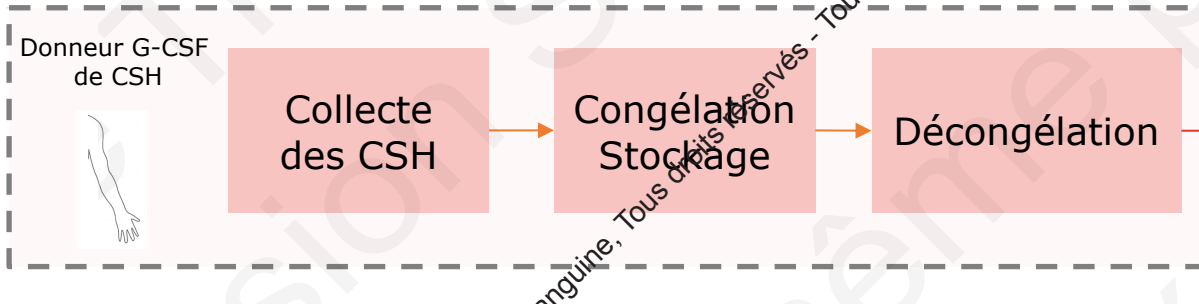
Un challenge sans précédent dans le monde de la bioproduction :  
produire des cellules thérapeutiques en masse et à bas coûts

→ BESOIN D'UNE INNOVATION DE RUPTURE

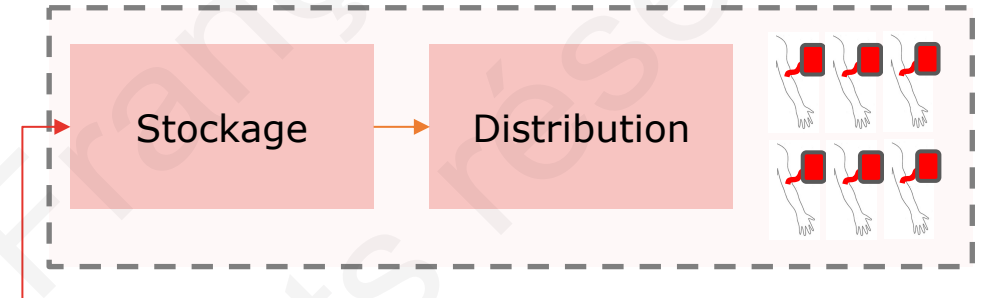
## Question 4

## Les GRc peuvent-ils être viables?

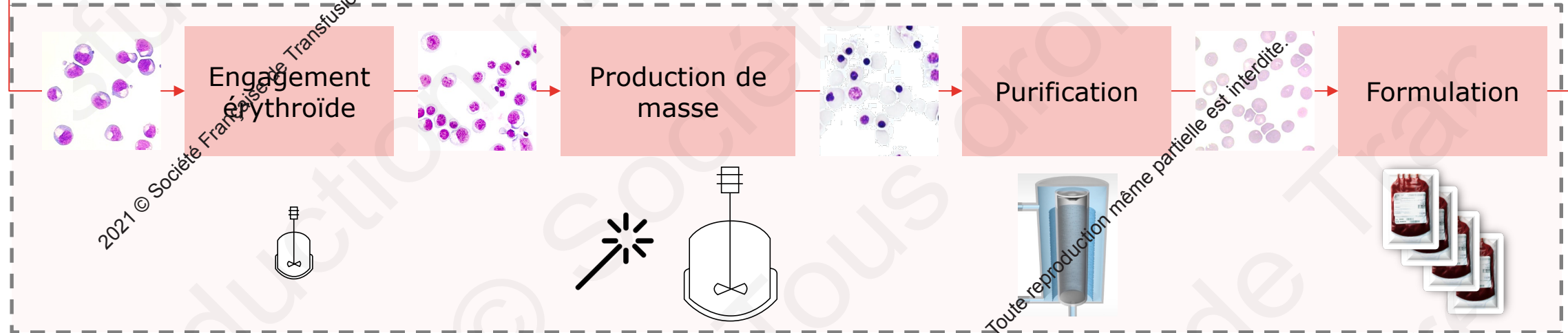
### COLLECTE ET PREPARATION DES CSH



### CANAUX DE DISTRIBUTION



### USINE ERYPHARM



Un procédé biotechnologique de rupture pour un concept révolutionnaire:  
100 unités de GRc produites par don de CSH

## Question 4

## Les GRc peuvent-ils être viables?

| Procédé                                          | Concentration Cellulaire   | Volume d'un lot (100 unités/lot) | Coût / unité de GRc                 |
|--------------------------------------------------|----------------------------|----------------------------------|-------------------------------------|
| Traditionnel: batchs en série<br><b>Inadapté</b> | $5 \cdot 10^6$ cellules/ml | 60 000 litres                    | 340 000 €<br>>99% dus aux protéines |

## Question 4

## Les GRc peuvent-ils être viables?

| Procédé                                                                                                        | Concentration Cellulaire | Volume d'un lot (100 unités/lot) | Coût / unité de GRc                                                     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|----------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|
| Traditionnel: batchs en série<br><b>Inadapté</b>                                                               | $5.10^6$ cellules/ml     | 60 000 litres                    | 340 000 €<br>>99% dus aux protéines                                     |
|  N°1 :<br>Technologie ERYCULT | $>100.10^6$ cellules/ml  | < 3 000 litres                   | 15 000 €<br>(> 95% d'économie des protéines)<br>Investissements réduits |

- ✓ Cela représente une division de plus de 20 fois des coûts en comparaison des procédés de référence

## Question 4

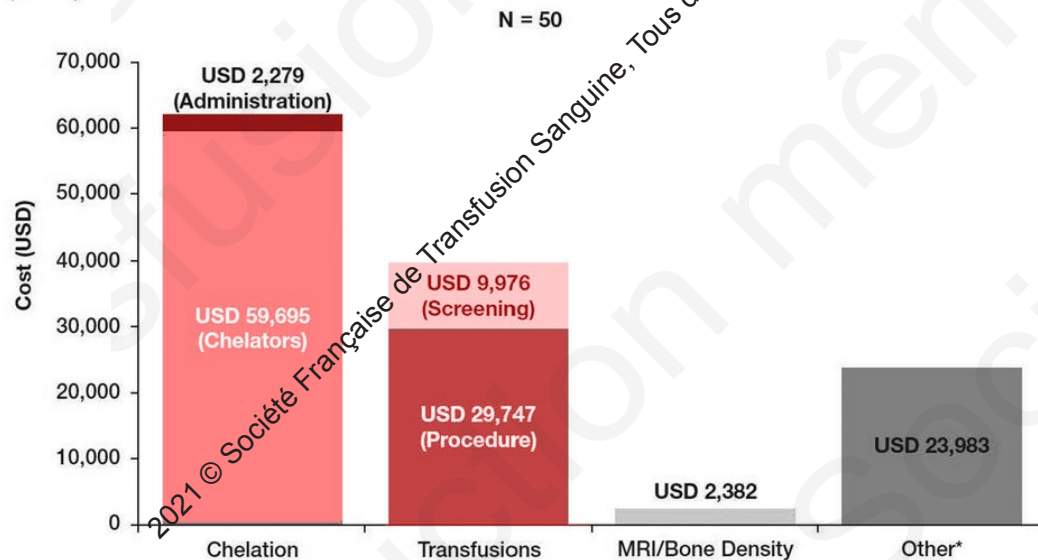
## Les GRc peuvent-ils être viables?

| Procédé                                                                                                                                                                 | Concentration Cellulaire | Volume d'un lot (100 unités/lot) | Coût / unité de GRc                                                     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|----------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|
| Traditionnel: batchs en série<br><b>Inadapté</b>                                                                                                                        | $5.10^6$ cellules/ml     | 60 000 litres                    | 340 000 €<br>>99% dus aux protéines                                     |
|  N°1 :<br>Technologie ERYCULT                                                          | $>100.10^6$ cellules/ml  | < 3 000 litres                   | 15 000 €<br>(> 95% d'économie des protéines)<br>Investissements réduits |
|  N°2 :<br>Fourniture industrielle<br>→ Economies d'échelle/<br>production internalisée | $>100.10^6$ cellules/ml  | < 3 000 litres                   | 1500 €<br>(÷10 en cumulé)                                               |

- ✓ Cela représente une division de plus de 20 fois des coûts en comparaison des procédés de référence
- ✓ Une innovation de rupture et des prix de fourniture industriels sont compatibles avec un coût de production global inférieur à 1,500 € / unité de GRc

### Etude de cas médico-économique: la Beta-Thalassémie

Figure. Mean Healthcare Costs Associated with Treatment of TD  $\beta$ -thalassemia Per Patient Per Year (PPY)



**Les coûts annuels de traitement d'un patient Beta-thalassémique s'élèvent à \$128,042 aux USA, dont :**

→ **≈ 40,000\$ (≈30%) dus à la transfusion**

→ **≈ 62,000\$ (≈50%) dus à la chélation du fer (conséquence de la transfusion)**

\* Sheth S, Weiss M, Parisi M, Ni Q. Clinical and economic burden of transfusion-dependent  $\beta$ -thalassemia in adult patients in the United States. Blood (2017)

### Etude de cas médico-économique: la Beta-Thalassémie

En supposant une **durée de vie doublée pour les GRc**, on s'attend à :

- 2 fois moins d'unités de sang transfusées
- 2 fois moins d'hospitalisation
- 2 fois moins de surcharge en fer
- 2 fois moins de screening

Ces bénéfices justifient un **prix d'équilibre de 2600\$ par unité de GRc**

Sans compter le **service médical rendu** additionnel :

- Au moins 2 fois moins de risques d'infection et d'allo-immunisation
- Une amélioration substantielle de la qualité de vie des patients

*A titre de comparaison, REBLOZYL® coûte entre \$110,000 et \$150,000 par patient par an pour une preuve de réduction de 20% (en moyenne) des besoins de transfusion moyens chez les patients transfusion-dépendants thalassémiques ou souffrant de MDS*

**Les éléments économiques du projet sont justifiés**

**Question 5 : Prochaines étapes?**



**CA MARCHE!**



**2021 : Un demi CGRc produit en bioréacteurs (10L)**

D'ici 3-5 ans :

- Montée en échelle à **1 unite de GRc/lot** dans un environnement GMP
- Réalisation des **essais précliniques et cliniques de phase 1** pour démontrer la sécurité du produit et réévaluer la durée de vie des GRc
- Continuer le **développement du procédé de production industriel**



Les GRc, un nouveau produit à intégrer  
dans l'arsenal thérapeutique de la transfusion



**Questions?**