

Direction des Métiers Scientifiques (DMS)  
Pôle 3  
Pôle Non-clinique, pharmacocinétique clinique  
et interactions médicamenteuses  
Personne en charge : Paul Houeto  
Numéro du document : 20210701\_CR\_CSP\_NC

### Comité scientifique permanent Sécurité et qualité des médicaments - Formation restreinte non clinique

Séance du 1<sup>er</sup> juillet 2021 de 14h à 17h00

#### Ordre du jour

Points	Sujets abordés	pour audition, information, adoption ou discussion
<b>1.</b>	<b>Introduction</b>	
1.2	Point sur les déclarations d'intérêts (DPI) et les situations de conflits d'intérêts	Pour information
<b>2.</b>	<b>Dossiers thématiques</b>	
2.1	Audition partie prenante : Servier	Pour discussion et avis
2.2	Organes sur puce : Analyse critique des données issues de la littérature	Pour discussion et avis

#### Participants

Nom des participants	Statut (modérateur, membre, évaluateur, ...)	Présent	Absent /excusé
<b>Membres</b>			
DEBRUYNE Danièle		<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
GATTACCECA Florence		<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
GUERBET Michel		<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
GUILLEMAIN Joël		<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
PETITCOLLOT Nicole		<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
PICARD Roger		<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<b>Autres</b>			
SERVIER	Partie prenante	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
SERVIER	Partie prenante	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Nom des participants	Statut (modérateur, membre, évaluateur, ...)	Présent	Absent /excusé
<b>ANSM</b>			
BARDIN-LAFORGE	Evaluateur	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
BURBANK Matthew	Evaluateur	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
FABRE Isabelle	Chef de pôle CTROL	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
HOUETO Paul	Référent non clinique DMS, Modérateur	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
LAVERGNE Fabien	Evaluateur	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
LOUIN Gaelle	Chef de pôle 3 DMS	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
MONIER Christine	Evaluateur	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
MORCOS Athina	Stagiaire pôle 3 DMS	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
SALOMON Valérie	Directrice DMS	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
SANH Alan	Evaluateur	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

## 1. Introduction

---

### 1.1. Point sur les DPI et les situations de conflits d'intérêts

Tous les membres ont déclaré avoir complété leur DPI et n'ont pas à ce jour d'intérêt à déclarer notamment en lien avec cette thématique sur les organes sur puces.

Aucun lien n'a été identifié pour les membres et les experts

Lien(s) identifié(s)					
Dossier	Nom Prénom	Type de lien	Niveau de lien	Période	Si lien niveau 2
					Sorti <input type="checkbox"/> Absent <input type="checkbox"/> Présent <input type="checkbox"/>

### Nom du dossier :

Numéro/type/nom du dossier	Méthodes alternatives : organes sur puces pour évaluer la toxicité et la pharmacocinétique des médicaments.
Laboratoire(s)	Servier
Direction produit concernée	Direction des Métiers Scientifiques (DMS)
Expert(s)	

### 1.2. Tour de table

Après avoir souhaité la bienvenue aux participants, le modérateur ouvre la séance.

Un tour de table des participants a été effectué.

## 2. Dossiers thématiques

---

L'agence se préoccupe des technologies d'organes sur puces. C'est dans ce cadre qu'elle souhaite anticiper et cherche à amorcer une réflexion autour de ce sujet relatif à ces technologies innovantes de culture cellulaire en 3D et en conditions dynamiques dans la chaîne de développement de nouveaux médicaments.

Cette réflexion ne saurait aboutir sans le concours de parties prenantes (grandes entreprises pharmaceutiques, CRO, start-up, ...) qui sont des acteurs majeurs et concrets, capables de nous informer sur l'évolution de ces technologies d'organes sur puces.

### Objectif

Cette cinquième séance de travail vise à auditionner une partie prenante, en l'occurrence la société Servier, qui a une expérience dans le développement de système d'organes sur puces.

Cette séance de travail est aussi consacrée à la présentation du plan de mémoire de Madame Athina Morcos, stagiaire à l'ANSM.

Ce travail effectué par Madame Morcos permettra d'identifier les points critiques de telles données dans le cadre d'une demande d'autorisation de mise sur le marché ou d'un essai clinique et d'élaborer le cas échéant des recommandations correspondantes.

La finalité de ce travail est d'élaborer une doctrine d'évaluation des technologies d'organes sur puce dans le processus de développement d'un candidat médicament.

## 2.1. Audition Servier

La société Servier a été associée à la réflexion par le biais de questions sur leur propre expérience de mise en œuvre de ces technologies, les verrous éventuels et les avancées majeures dans le domaine, afin de nous permettre de mieux appréhender les points ci-dessous :

- Quel est l'état des lieux de la recherche actuelle ?
- Les modèles existants à savoir :
  - o Les principaux modèles hépatiques
  - o Les autres modèles d'organes
  - o Les modèles associant plusieurs organes
  - o Les domaines d'application
- Les avantages et les limites de ces systèmes
- Existe-t-il un consensus sur des modèles validés ?
- Les futurs projets
- Les bénéfices apportés par l'intégration de ces technologies : quel impact sur l'expérimentation animale ?
- Quelles sont les molécules pharmaceutiques testées ou susceptibles d'être testées ?
- Ces modèles ont-ils permis de prédire des toxicités *in vivo* en particulier chez l'homme, non décelées avec les modèles *in vitro* classiques ?
- Ces technologies sont-elles utilisées en routine ou uniquement à des fins de recherche ?
- Quels sont les autres systèmes de couplage, par exemple la modélisation PBPK ou les approches « omics » ?.

## Présentation

Les organes sur puces (ou Organ on a chip, OoC) intégrant des systèmes plus ou moins complexes de gestion des fluides ont émergé de façon exponentielle ces dernières années. Ce type de système est d'intérêt car il permet de développer des modèles d'études *in vitro* plus physiologique que les modèles statiques classiques et ainsi d'investiguer des interactions complexes.

Afin de répondre aux différentes problématiques que pose le développement d'un candidat médicament (efficacité, toxicité, exposition ...), diverses stratégies sont développées car chacune requiert des caractéristiques propres (complexité de la culture cellulaire, volume de milieu, imagerie ...).

La partie prenante a présenté des modèles OoC actuellement proposés sur le marché et quelques exemples de modèles d'étude dédiés à des problématiques de pharmacocinétique.

Les OoC résultent de la fusion de la biologie humaine et de la microfabrication de puce afin de générer des systèmes *in vitro* miniaturisés qui permettent de mimer la physiologie humaine, de faire de la culture à long terme et de générer des données toxicologiques et pharmacocinétiques.

Étant donné qu'il existe une grande variabilité inter-espèce, certains modèles animaux ne peuvent pas correctement prédire de ce qu'il va se passer chez l'homme. On observe un taux d'attrition des médicaments de 90% lors de leur développement, celui-ci étant dû aux problèmes liés à la mauvaise prédictibilité et à la découverte de certains effets indésirables seulement en clinique. Les OoC sont une méthode alternative nous permettant de nous affranchir du modèle animal peu éthique et peu prédictif et d'utiliser un modèle uniquement humain, en respectant les recommandations des 3R (« Reduce, Refine, Replace » ou Réduire, Raffiner, Remplacer).

Trois types de systèmes microphysiologiques peuvent être distingués :

- les systèmes miniaturisés à faible débit (1 composé/plaque) dédiés à un organe mimé par un modèle cellulaire intermédiaire à complexe (Emulate)
- les systèmes miniaturisés à haut débit (ex : jusqu'à 96 puits) avec une gestion simple des fluides et des modèles cellulaires simples (Mimetas)
- les systèmes à débit moyen (ex : 2-12 composés /plaque) avec une gestion complexe des fluides à débit moyen et utilisant des modèles cellulaires intermédiaires à complexes, ce sont des hybrides entre les deux systèmes précédents (CNBio, TissUse)

Parmi ces systèmes, il existe plusieurs caractéristiques de modèles :

- monocompartimenté ou multicompartimenté
- en microfluidique ou millifluidique
- avec un flux obtenu par différentes technologies (mouvement de balance, capillarité, avec un pousse-seringue ou une pompe péristaltique) et en un circuit ouvert ou fermé, ...
- avec des options comme des biosenseurs permettant par exemple de suivre l'oxygénation des systèmes, ou de suivre des biomarqueurs ou encore la possibilité d'appliquer des mouvements pulsatiles

Différents types de « read out » sont possibles pour recevoir les informations comme la transcriptomique, la protéomique, la métabonomique, l'imagerie ainsi que la spectrométrie de masse pour les petites molécules.

Pour les études ADME qui se déroulent en phase de développement intermédiaire, il est nécessaire :

- d'avoir un nombre suffisant de cellules permettant d'observer le processus de métabolisme
- de pouvoir faire une culture sur du long terme et la plus pertinente physiologiquement
- d'avoir des volumes d'échantillons adaptés au dosage par LC-MS.

Pour cela un système en millifluidique est plus adapté.

Pour les études de toxicologie qui se déroulent en phase de développement précoce ou intermédiaire, il est nécessaire :

- \* de pouvoir faire de l'imagerie
- \* d'avoir un haut débit (pour les études de recherche précoces)
- \* d'avoir un modèle complexe physiologique

Pour cela on privilégie un système microfluidique.

Trois systèmes disponibles sur le marché ont ensuite été présentés : Emulate, CnBio et TissUse

Le système microfluidique d'Emulate consiste en une puce de format lame de microscope dédiée à un organe. Un large panel d'organes (intestin, foie, peau, cerveau, poumon, rein) est proposé. Ce système est surtout adapté à l'imagerie et permet d'observer l'effet de l'exposition au produit. Plusieurs études ont montré l'intérêt de développer des modèles d'organe sur ce système et le gain en termes de relevance physiologique. Par exemple, sur une micropuce d'intestin, l'analyse transcriptomique par RNA-Seq du modèle et sa comparaison à des tissus humains a montré un grand nombre de similitude entre les 2 matériels biologiques. D'autre part, l'expression et l'activité de la P-gp, protéine d'efflux incontournable impliquée dans les problèmes d'absorption intestinale d'un grand nombre de

médicaments, y sont observables. Ce système est adapté aux problématiques toxicologiques comme l'a montré une étude sur la toxicité du bosentan. Cette étude a mis en évidence une variabilité interspèce en comparant l'impact d'un effet dose du bosentan sur la production d'albumine dans le modèle de puce hépatique vs une culture d'hépatocytes « sandwich » chez l'homme, le chien et le rat. Ce système a aussi été utilisé pour étudier l'inhibition de BSEP, transporteur d'efflux hépatocytaire des acides biliaires, par le bosentan, mécanisme conduisant à l'accumulation d'acides biliaires dans les hépatocytes et donc à une cholestase.

Le système proposé par TissUse est une puce compartimentée permettant de reproduire des interactions entre 2 à 4 organes suivant un schéma en série ou en parallèle afin de mimer différents types de circulation (par exemple urinaire et sanguine). Ce modèle est plus complexe de par sa gestion des flux dans la plaque et nécessite un modèle PB/PK permettant de générer des données pertinentes pour la prédiction *in vivo*. Son format permet de prélever des échantillons analysables en spectrométrie de masse. Une automatisation du système est proposée (24 puces / robot).

### **Retour d'expérience de la partie prenante :**

Étude de pharmacocinétique sur un modèle intestin/foie :

L'intestin et le foie, sont des organes clés en pharmacocinétique. Ils déterminent notamment la biodisponibilité des produits.

Le modèle actuel utilisé pour l'intestin est la culture de cellules Caco-2 en transwell, afin de prédire la fraction absorbée et d'identifier les potentiels transporteurs d'efflux impliqués.

Le modèle actuel pour le foie est la culture d'hépatocytes sous divers types d'incubation, ce qui permet de prédire la clairance métabolique et d'uptake, ainsi que l'identification des transporteurs actifs impliqués dans l'entrée ou l'efflux du candidat médicament de la cellule.

Ces deux modèles sont donc mis en série pour étudier la biodisponibilité des molécules candidats médicament. Cela a permis de comparer l'administration *intraveineuse* (IV) vs *per os* (PO).

Le premier système évalué, QuasiVivo®, consiste en la mise en série de puits par un système tubulaire soumis à l'action d'une pompe péristaltique créant un flux entre les puits. Il a été utilisé pour tester l'incubation de produits à faible clairance et donc évaluer leur métabolisme sur du long terme. Un problème de fixation des métabolites aux tubulures a été identifié, ce qui est rétroactif pour ce type d'étude.

La partie prenante s'est donc tournée vers un autre système présentant moins de tubulure, PhysioMimix de CnBio, qui propose un système de flux intégré dans une plaque. Celui-ci présente moins de fixation aspécifique, une utilisation plus simple, un petit volume avec un format classique pour l'HPLC et est en cours d'évaluation par la FDA. Le système choisi consiste en un puit combinant une culture Caco2 en transwell et en fond de puits une culture d'hépatocytes en monocouche, le flux circulant entre les deux cultures. Les études en cours évaluent l'amélioration de la pertinence de l'expression et l'activité des enzymes et transporteurs dans ces modèles afin de prédire la biodisponibilité des molécules en développement et de comparer l'administration IV vs PO.

Les principaux résultats obtenus sont l'amélioration de l'activité des transporteurs d'efflux grâce à la culture MPS et l'avantage d'une culture sur du long terme pour le métabolisme. Actuellement le travail est centré sur l'optimisation de la culture d'hépatocytes.

En 2021, CnBio propose un modèle optimisé plus complexe et plus physiologique. Cette nouvelle configuration propose des compartiments différents pour les deux cultures, les flux se rejoignant à une

interface, et un système de culture 3D en « éponge » (scaffold) pour les hépatocytes qui est traversé par le flux.

### **Bilan :**

Actuellement la FDA et l'EMA s'intéressent à la validation de ces systèmes millifluidiques physiologiques et sont impliquées dans certaines études en collaboration avec les fournisseurs. De nombreux papiers en collaboration avec des industries pharmaceutiques sont aussi disponibles démontrant l'intérêt de ces systèmes dans la pertinence des modèles développés et leur application pour le développement de molécules médicaments. Un point d'attention est à avoir concernant la gestion des données générées afin d'obtenir des paramètres exploitables et prédictifs. L'intégration des données générées dans un modèle PB/PK est ainsi indispensable.

Les perspectives à long terme du développement d'un modèle d'étude PK concernent pour la partie prenante :

- la construction d'un système multi-organe intégrant un modèle intestinal, un modèle hépatique, un modèle rénal et un modèle de barrière hématoencéphalique, les barrières les plus étudiées en pharmacocinétique ;
- le développement d'un modèle pharmacocinétique permettant de modéliser et générer des données intégrables dans un modèle PB/PK pour permettre de la prédiction *in vivo* ;
- Intégrer l'utilisation de ces systèmes en stade de screening intermédiaire voire précoce des molécules.

Actuellement, TissUse travaille sur des puces à façon intégrant des modèles d'organes issus de cellules souches d'un donneur / puce (7 donneurs actuellement étudiés). Ce travail met en perspective le développement de « patient on a chip » dans l'optique du développement de la Médecine Personnalisée.

### **Discussion**

La présentation de Servier confirme les dires des autres parties prenantes auditionnées. Le manque de résultats clairement définis représente un frein à l'exploitation des données générées sur les organes sur puces. Il se pose la question de la soumission de ces données aux autorités sanitaires pour mieux apprécier l'utilité de ces outils comme approche alternative à l'expérimentation animale. Le fait d'encourager la soumission de ces données permettra d'asseoir une ligne directrice qui précisera les contours des exigences réglementaires en matière de prérequis.

La réflexion amorcée par l'Agence devrait être dotée d'une dimension européenne tout en sachant que d'autres acteurs européens sont engagés dans cette problématique.

Le groupe considère qu'il manque le versant fabricant et qu'il serait opportun de les auditionner pour connaître leur point de vue à propos du développement des organes sur puces.

### **2.2 Bilan des travaux du mémoire de stage**

Athina Morcos, stagiaire à l'ANSM depuis avril 2021 a présenté l'avancée de ses travaux.

Le plan du mémoire de stage a été discuté avec le groupe. Le mémoire sera composé de quatre parties ; le contexte, la méthodologie, les résultats et la discussion/conclusion. La partie résultats consiste en la synthèse des données issues de la littérature scientifique, l'audition des parties prenantes, la présentation du laboratoire de recherche de l'Université Technologique de Compiègne et enfin les perspectives réglementaires. Une définition des organes sur puce a été établie grâce aux données de la bibliographie, puis les différentes méthodes de fabrication des organes sur puces, les différents modèles existant et les types cellulaires utilisés sont présentés. Une partie sur la validation des modèles et leur comparaison à d'autres modèles (2D, 3D ou *in vivo*) est ensuite présentée.

Les principales questions posées concernent les méthodes de détection analytique et le « readout », à savoir comment récupérer les mesures et analyser les résultats. Cette partie sera à ajouter au mémoire.

## Conclusions du CSP

---

Le groupe de travail a apprécié la présentation de Servier qui était de qualité. L'approche utilisée dans cet échange était très pragmatique et transparente.

Il s'agit de continuer les travaux qui ont été initiés en poursuivant les auditions, notamment des fabricants de puces.

## Prochaine réunion

---

La prochaine réunion est prévue pour le 25 novembre 2021.

**Question posée :** Elaborer une doctrine d'évaluation des technologies d'organes sur puces dans le processus de développement d'un candidat médicament ?

### Votes

Nombre de votants	4/4
Nombre d'avis favorables	4/4
Nombre d'avis défavorables	0/4
Nombre d'abstention	0/4

### Explication des votes

Avis majoritaires	Oui
Avis minoritaires	Non

### Conclusions

L'avis général s'inscrit dans le cadre d'une continuité des travaux et d'évolution dans la réflexion autour de la technologie d'organes sur puces considérée d'essor grandissant dans l'alternative à l'expérimentation animale. Le retour d'expérience des parties prenantes est un axe à privilégier pour mieux circonscrire la thématique.

### Références documentaires

- Jang, K.-J. et al. Reproducing human and cross-species drug toxicities using a Liver-Chip. *Science Translational Medicine* 11, (2019).
- Lee, H. et al. Cell-printed 3D liver-on-a-chip possessing a liver microenvironment and biliary system. *Biofabrication* 11, 025001 (2019).
- Si, L. et al. A human-airway-on-a-chip for the rapid identification of candidate antiviral therapeutics and prophylactics. *Nature Biomedical Engineering* 1–15 (2021) doi:10.1038/s41551-021-00718-9.

#### Sites internet :

- <https://euroocs.eu/organ-on-chip/>
- Cherry Biotech. Alternative to PDMS: a new biocompatible polymer for microfluidics -. <https://innovation.cherrybiotech.com/microphysiological-systems/pdms-microfluidics-biocompatible-polymer> (2017).
- « Advancing Alternative Methods at FDA », FDA, janv. 2021, <https://www.fda.gov/science-research/about-science-research-fda/advancingalternative-methods-fda>.



