



Centro di Riferimento Degenerazioni  
Retiniche Ereditarie  
AOU Careggi - Firenze



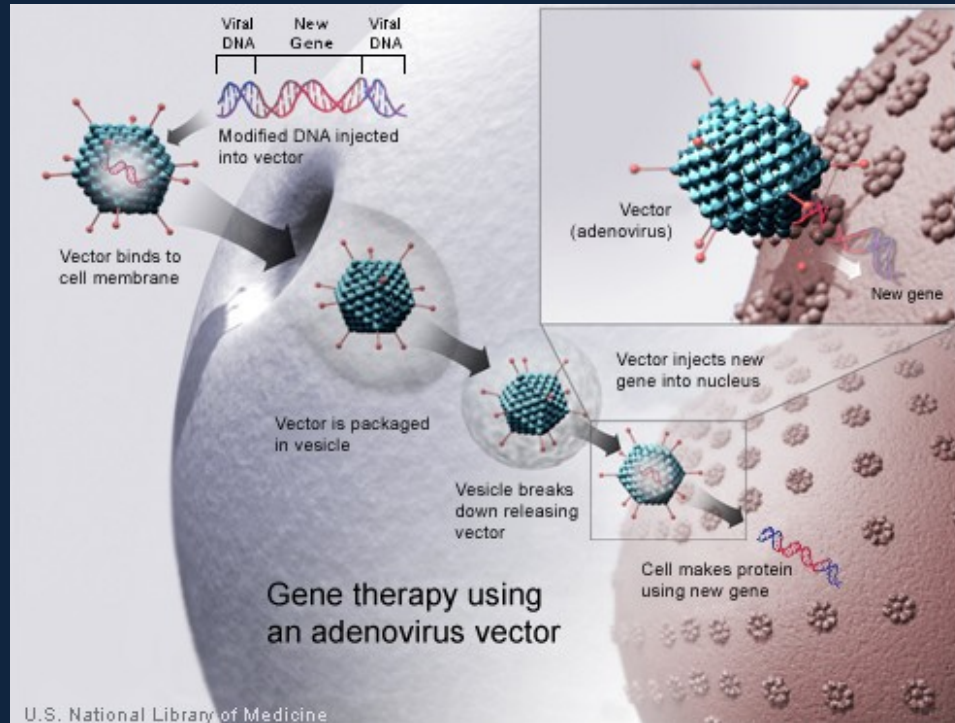
Andrea Sodi

Quels candidats pour les  
thérapies géniques ?

RETINA  
PIGMENTOSA ASBL

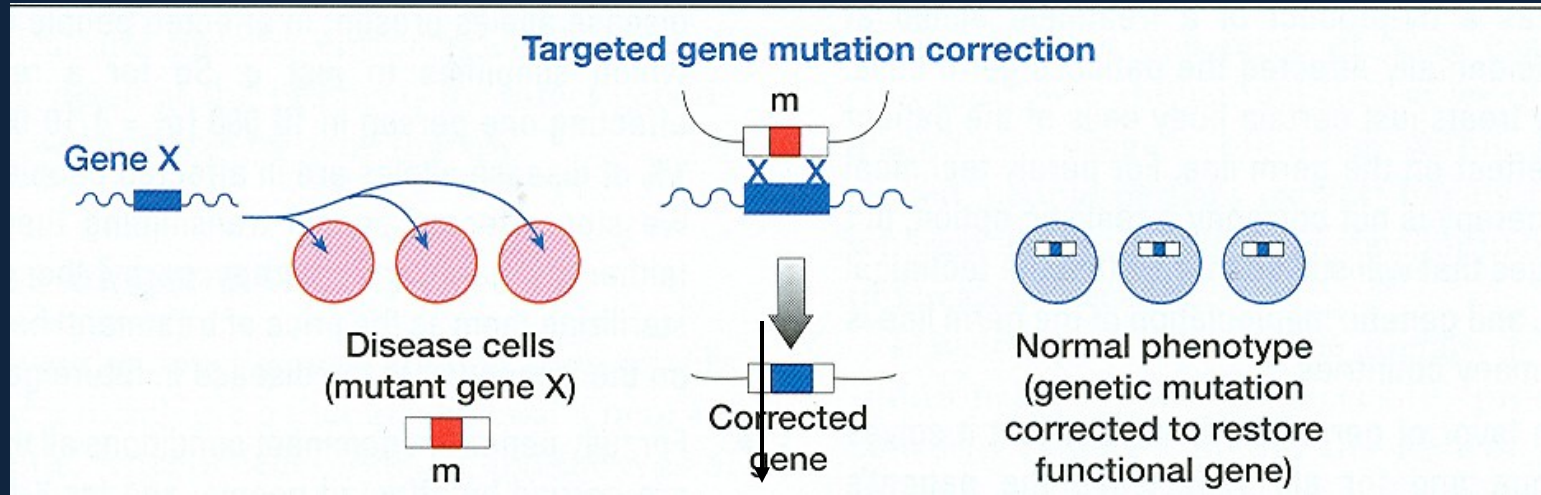
**DES SYMPTÔMES DE LA RÉTINOPATHIE PIGMENTAIRE  
À LA PRATIQUE THÉRAPEUTIQUE :  
UN MONDE EN CONSTANTE ÉVOLUTION...  
GAND, LE 7 DÉCEMBRE 2019**

# La thérapie génique



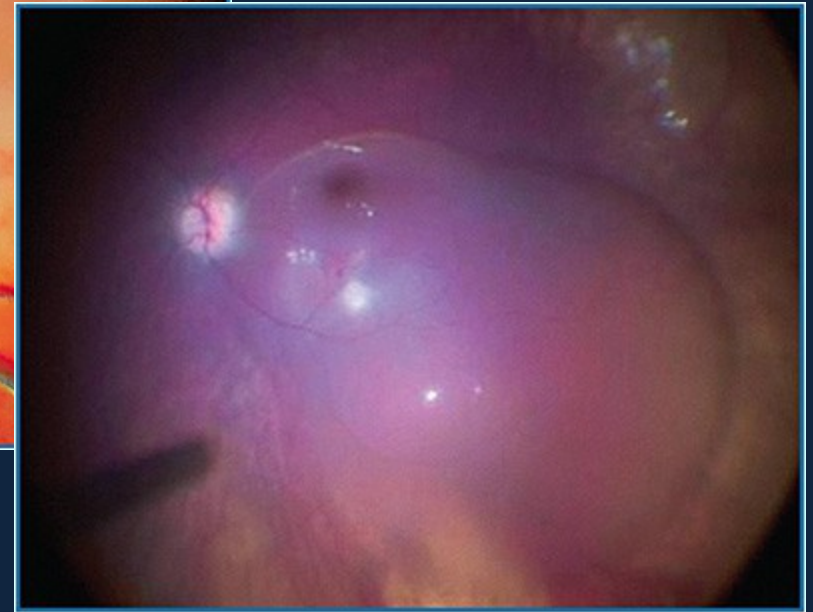
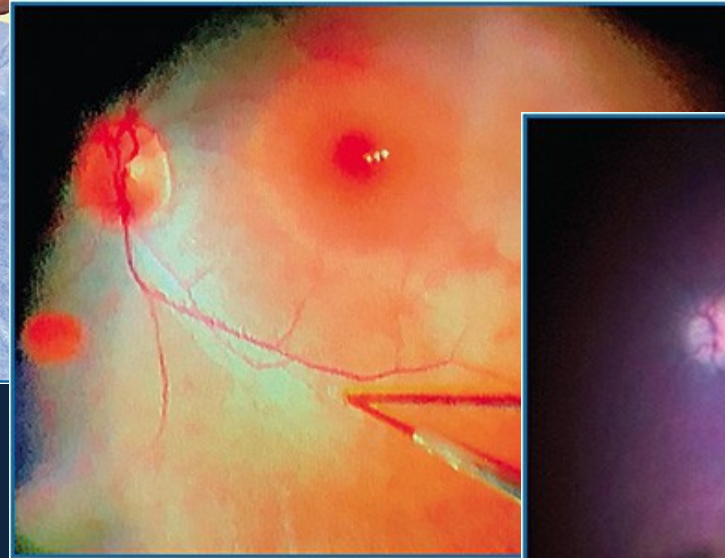
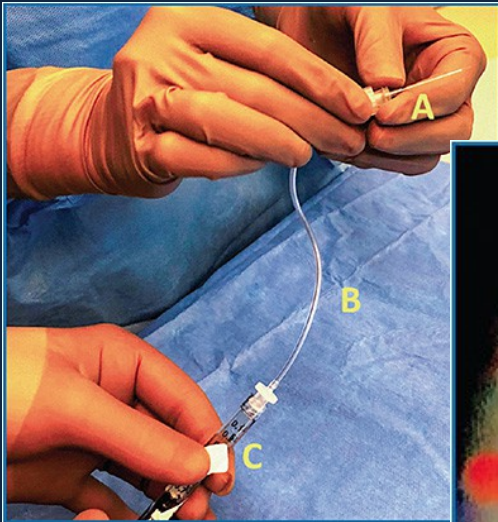
Introduction et expression d'acides nucléiques exogènes dans un tissu hôte pour le traitement d'une maladie.

# thérapie génique



Il existe diverses possibilités de thérapies géniques. Celle qui nous intéresse aujourd'hui est fondamentalement une thérapie de remplacement : en présence d'une activité défectueuse d'un gène particulier au niveau de la rétine, on introduit dans l'œil la version normale du même gène de manière à restaurer sa fonction initiale.

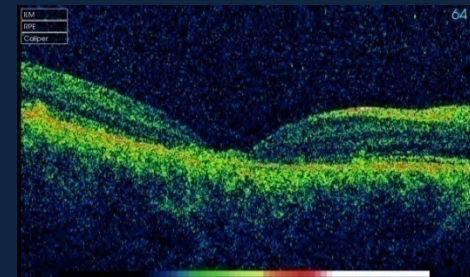
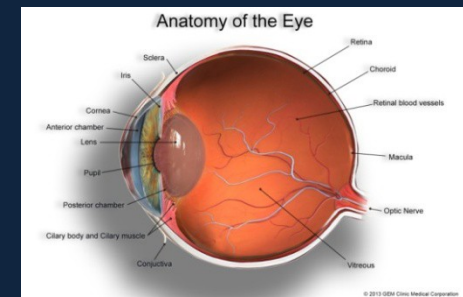
# thérapie génique : ophtalmologie



Des vecteurs viraux inactivés sont utilisés pour introduire le matériel génétique à l'intérieur des cellules rétiniennes à l'aide d'une **injection sous-rétinienne**

## L'œil est un organe idéal pour la thérapie génique


- C'est un organe externe, facilement accessible par chirurgie
- Son volume est relativement petit et, par conséquent, il nécessite une dose minime de médicaments
- Il est facilement accessible et explorable via des techniques sophistiquées d'imagerie
- Nous avons actuellement une bonne connaissance des bases génétiques de nombreuses maladies dégénératives rétiniennes
- Il existe des modèles « animaux » fiables



## Limites de la thérapie génique

- ✓ La thérapie génique nécessite l'identification précise de l'altération génétique du patient.  
Pour la majorité des *dystrophies rétiniennes*, les techniques modernes de biologie moléculaire sont possibles.
- ✓ Sur le plan conceptuel, la thérapie génique vise à réactiver la fonction du gène modifié afin d'empêcher une progression ultérieure de la maladie.  
Cependant, elle ne peut pas régénérer les cellules déjà perdues.  
Ce qui est perdu reste perdu.  
Il y a donc potentiellement de meilleurs résultats si le traitement est appliqué suffisamment tôt.  
Par contre, des études cliniques ont montré une certaine amélioration de quelques paramètres visuels après traitement...

# thérapie génique : ophtalmologie

 © 2001 Nature Publishing Group <http://genetics.nature.com>

*letter*

## Gene therapy restores vision in a canine model of childhood blindness

Gregory M. Acland<sup>1</sup>, Gustavo D. Aguirre<sup>1</sup>, Jharna Ray<sup>1</sup>, Qi Zhang<sup>1</sup>, Tomas S. Aleman<sup>2</sup>, Artur V. Cideciyan<sup>2</sup>, Susan E. Pearce-Kelling<sup>1</sup>, Vibha Anand<sup>2</sup>, Yong Zeng<sup>2</sup>, Albert M. Maguire<sup>2</sup>, Samuel G. Jacobson<sup>2</sup>, William W. Hauswirth<sup>3</sup> & Jean Bennett<sup>2</sup>

*Center for Cellular and Molecular Therapeutics del Children's Hospital di Philadelphia e della School of Medicine dell'Università della Pennsylvania*



Pour les *dystrophies rétiniennes*, le premier gène pour lequel la thérapie génique a été testée est le gène **RPE65**, un gène impliqué dans le cycle visuel.

Tout d'abord, des essais ont été effectués sur des animaux porteurs d'une maladie similaire à celle de l'homme. Vous voyez ici *Lancelot*, le premier chien traité.

# thérapie génique : ophtalmologie

THE NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

N Engl J Med 2008;358:2231-9.

## Effect of Gene Therapy on Visual Function in Leber's Congenital Amaurosis

James W.B. Bainbridge, Ph.D., F.R.C.Ophth., Alexander J. Smith, Ph.D.,  
Susie S. Barker, Ph.D., Scott Robbie, M.R.C.Ophth.,  
Robert Henderson, M.R.C.Ophth., Kamaljit Balaggan, M.R.C.Ophth.,  
Ananth Viswanathan, M.D., F.R.C.Ophth., Graham E. Holder, Ph.D.,  
Andrew Stockman, Ph.D., Nick Tyler, Ph.D., Simon Petersen-Jones, Ph.D.,  
Shomi S. Bhattacharya, Ph.D., Adrian J. Thrasher, Ph.D., M.R.C.P., F.R.C.P.  
Fred W. Fitzke, Ph.D., Barrie J. Carter, Ph.D., Gary S. Rubin, Ph.D.,  
Anthony T. Moore, F.R.C.Ophth., and Robin R. Ali, Ph.D.

SUMMARY

THE NEW ENGL

N Engl J Med 2008;358:2240-8.

BRIEF REPORT

## Safety and Efficacy of Gene Transfer for Leber's Congenital Amaurosis

Albert M. Maguire, M.D., Francesca Simonelli, M.D., Eric A. Pierce, M.D., Ph.D.,  
Edward N. Pugh, Jr., Ph.D., Federico Mingozzi, Ph.D., Jeannette Bencicelli, Ph.D.,  
Sandro Banfi, M.D., Kathleen A. Marsh:  
Enrico M. Surace, D.V.M., Settimio Ros  
Valder R. Arruda, M.D., Barbara Konkle  
Junwei Sun, M.S., Jonathan Jacobs,  
Richard Hertle, M.D., Jian-xing Ma, M.D.,  
Xiaosong Zhu, M.D., Bernd Hauck  
Kenneth S. Shindler, M.D., Ph.D., Maureen G.  
Nicholas J. Volpe, M.D., Jennifer Wellman Mc  
Katherine A. High, M.D., and J

HUMAN GENE THERAPY 19:979-990 (October 2008)  
© Mary Ann Liebert, Inc.  
DOI: 10.1089/hum.2008.107

## Treatment of Leber Congenital Amaurosis Due to *RPE65* Mutations by Ocular Subretinal Injection of Adeno-Associated Virus Gene Vector: Short-Term Results of a Phase I Trial

William W. Hauswirth,<sup>1,2</sup> Tomas S. Aleman,<sup>3</sup> Shalesh Kaushal,<sup>1</sup> Artur V. Cideciyan,<sup>3</sup>  
Sharon B. Schwartz,<sup>3</sup> Lili Wang,<sup>4</sup> Thomas J. Conlon,<sup>1</sup> Sanford L. Boye,<sup>1</sup> Terence R. Flotte,<sup>5</sup>  
Barry J. Byrne,<sup>1,2</sup> and Samuel G. Jacobson<sup>3</sup>

Ensuite, en 2008, trois essais cliniques différents ont montré la relative innocuité et efficacité du traitement sur l'homme



# thérapie génique : ophtalmologie

*Ophthalmology*. 2013 June ; 120(6): 1283–1291. doi:10.1016/j.ophtha.2012.11.048.

## Three Year Follow-Up after Unilateral Subretinal Delivery of Adeno-Associated Virus in Patients with Leber Congenital Amaurosis Type 2

Francesco Testa, MD, PhD<sup>1</sup>, Albert M Maguire, MD<sup>2,3,4</sup>, Se MD, PhD<sup>2,4,\*</sup>, Paolo Melillo, PhD<sup>1</sup>, Kathleen Marshall<sup>3</sup>, Sar Surace, DVM<sup>5</sup>, Junwei Sun, MS<sup>4</sup>, Carmela Acerra<sup>1</sup>, J. Fras Wellman<sup>3</sup>, Katherine A High, MD<sup>3,4,7</sup>, Alberto Auricchio, M and Francesca Simonelli, MD<sup>1,5</sup>



## Efficacy, Safety, and Durability of Voretigene Neparvovec-rzyl in RPE65 Mutation–Associated Inherited Retinal Dystrophy

*Results of Phase 1 and 3 Trials*

Ophthalmology 2019 126: 1273-1285

Albert M. Maguire, MD,<sup>1,2</sup> Stephen Russell, MD,<sup>3</sup> Jennifer A. Wellman, MS,<sup>2,4</sup> Daniel C. Chung, DO, MA,<sup>2,4</sup> Zi-Fan Yu, ScD,<sup>2</sup> Amy Tillman, MS,<sup>3</sup> Janet Wittes, PhD,<sup>3</sup> Julie Pappas, BA,<sup>6</sup> Okan Elci, PhD,<sup>6</sup> Kathleen A. Marshall, COT,<sup>2</sup> Sarah McCague, MS,<sup>2</sup> Hannah Reichert, BS,<sup>2</sup> Maria Davis, BA,<sup>7</sup> Francesca Simonelli, MD,<sup>8</sup> Bart P. Leroy, MD, PhD,<sup>9,10</sup> J. Fraser Wright, PhD,<sup>2,4</sup> Katherine A. High, MD,<sup>2,4</sup> Jean Bennett, MD, PhD<sup>1,4</sup>

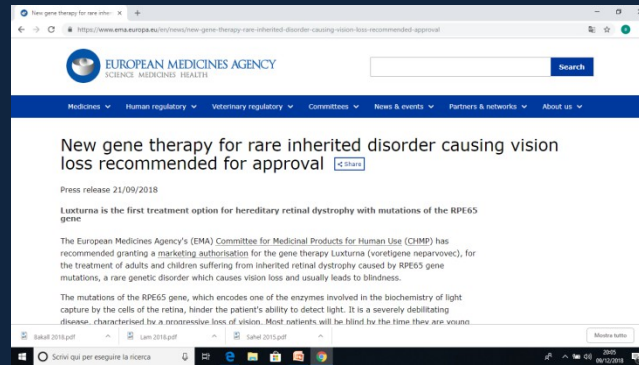
Hum Gene Ther. 2018 Jul 24. [Epub ahead of print]

**Results at 5 Years After Gene Therapy for RPE65-Deficient Retinal Dystrophy.**

**Pennesi ME(1), Weleber RG(1), Yang P(1), Whitebirch C(1), Thean B(1), Flotte TR(2), Humphries M(2), Chegarnov E(1), Beasley KN(3), Stout JT(4), Chulay JD(3).**

Après le traitement génique, on a observé des résultats visuels partiels, cependant appréciables et stables durant des années (actuellement, la durée du follow-up est de 5 ans).

# Thérapie génique : ophtalmologie



Il y a en cours plusieurs essais cliniques sur diverses mutations génétiques de la rétine.

Cependant, le seul traitement approuvé actuellement est la thérapie génique des *dystrophies rétiniennes* dues au gène RPE65.

Ce traitement, connu sous le nom commercial de **Luxturna**, a été approuvé aux États-Unis et en Europe (décembre 2018). Il constitue donc un médicament à tous égards.

Après les États-Unis, ce traitement a été appliqué en France et en Allemagne et dans les prochains mois le sera à Naples et à Florence, le Centre où je travaille.

# Luxturna n'est plus un essai clinique mais un vrai médicament

Forcément, l'approche est totalement différente de celle d'un essai clinique, et cela, pour deux raisons :

- 1- Contrairement à l'essai clinique, le **coût du traitement** n'est pas supporté par une entreprise mais bien par l'Etat (coût total : +/- 800000 € par patient)
- 2- Contrairement lors d'un essai clinique, **les patients** savent
  - qu'ils ne participent pas à un essai (qui comporte un certain risque),
  - qu'ils reçoivent un traitement et donc s'attendent, à juste titre, à prendre peu de risques et à avoir des résultats

C'est donc à nous, médecins, à prendre la responsabilité de sélectionner les patients pour le traitement.

Il est clair que, dans mon exposé, je parlerai tout d'abord de la situation italienne dans laquelle je suis impliqué.

Dans le contexte italien, nous ne serons probablement pas en mesure de traiter tous les patients potentiellement adaptés, et donc

**nous devons probablement  
établir des critères de priorité**

Pour le moment, nous espérons être en mesure de traiter bientôt les deux premiers patients au début de la nouvelle année (2020) à travers le soutien d'un fonds spécial du ministère de la Santé.

Probablement à partir de Mars/Avril, ce traitement sera financé régulièrement par le Service National de la Santé via l'intermédiaire de l'Agence italienne des médicaments.

## Le patient idéal

Nous devons d'abord nous rappeler que la thérapie génique vise principalement à arrêter la détérioration rétinienne en rétablissant la fonction correcte du gène affecté, sans remplacer les structures cellulaires dégénérées et irrémédiablement perdues.

Le critère général est donc d'intervenir si possible à des stades relativement précoces de la maladie lorsqu'il y a encore une activité visuelle importante à sauver.

Le **patient idéal** serait alors un :

**patient jeune avec un certain maintien de la capacité visuelle et des structures rétiniennes.**

# Les critères déjà codifiés

## Fiche technique Luxturna

Patients adultes et pédiatriques présentant la perte de vision due à la dystrophie rétinienne héréditaire provoquée par des mutations bialléliques confirmées de RPE65 et qui ont encore des cellules rétiniennes vitales suffisantes.

## Essais cliniques phase 3 ( Russell 2017 )

Traiter les patients avec une acuité visuelle de 20/60 ou pire ou un champ visuel réduit jusqu'à minimum 20°, mutation biallélique RPE65, cellules rétiniennes vitales suffisantes, ( $OCT > 100 \mu$ ), capacité à effectuer le *multiluminance mobility test* (MLMT).



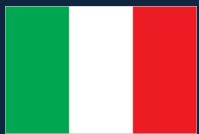
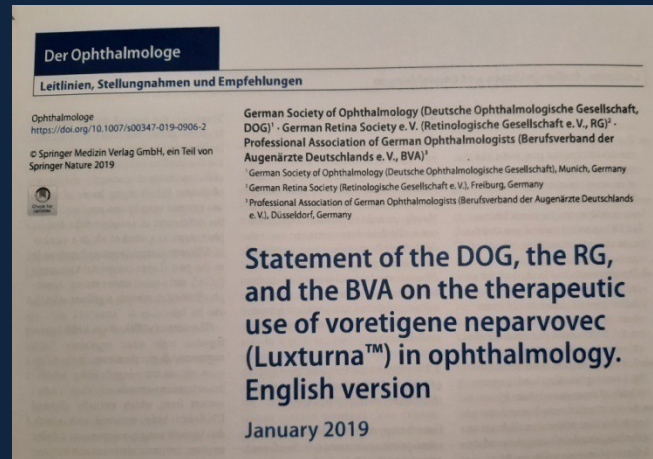
## ATU ( Autorisation temporaire d'utilisation )

Patients adultes et pédiatriques (>3 ans) avec perte de vision due à la dystrophie héréditaire de la rétine causée par des mutations bialléliques confirmées de RPE65 et qui ont suffisamment de cellules vitales. Soit

- 1) Épaisseur de la rétine  $OCT > 100 \mu$  au pôle postérieur
- 2) Zone de rétine sans atrophie ou dégénérescence pigmentaire  $\geq 3$  disques optiques au pôle postérieur
- 3) Champ visuel de Goldmann résiduel d'au moins 30° ( III-4)



Un protocole similaire a été adopté en Allemagne et publié dans un article spécifique de la Société Allemande d'Ophtalmologie



Aucune directive spécifique n'a été adoptée jusqu'à présent en Italie. Cependant, un comité d'experts a été mis en place et s'est réuni pour la première fois à Rome le 13 décembre 2019

# Recommandations pour la sélection des patients

Donc nous avons vu que jusqu'à ce jour, on considère surtout l'OCT, le champ visuel et l'extension de l'atrophie rétinienne au pôle postérieur. Mais l'évaluation des facteurs pronostiques pour la réponse au traitement est encore débattue

1. Il est clair que l'**âge** est un facteur très important et les patients plus jeunes sont théoriquement mieux indiqués pour recevoir le traitement.

2. L'**acuité visuelle** seule ne semble pas être un facteur fondamental.

- a) En fait, nous devons tenir compte que, dans le futur, le traitement sera probablement effectué assez tôt dans l'histoire naturelle de la maladie, et donc chez les patients avec acuité visuelle relativement maintenue. Actuellement, de nombreux patients à un stade relativement avancé de la maladie pourraient bénéficier du traitement.
- b) De plus, même une acuité visuelle apparemment faible peut permettre une bonne autonomie personnelle



3-L'analyse de données de l'étude de phase 3 a montré une possible réponse au traitement même chez des patients ayant débuté avec un **champ visuel** très limité.

Impact of voretigene neparvovec on legal blindness in Germany in patients with *RPE65* mutation-associated inherited retinal dystrophy: *Post hoc* analysis of Phase III trial data

Sue Lacey<sup>1</sup>, Celia Aouadj<sup>1</sup>, Daniel C. Chung<sup>2</sup>, Kathleen Reape<sup>2</sup>, Katherine A. High<sup>2</sup>, Daniel Viriato<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Novartis Pharma AG, Basel, Switzerland; <sup>2</sup>Spark Therapeutics, Inc, Philadelphia, PA, USA

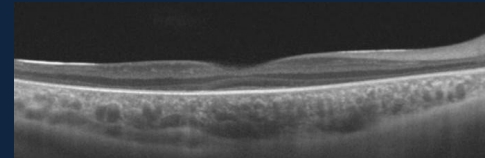
Table 2. Number of patients meeting eligibility criteria for legal blindness

	VF	VA
Legally blind at baseline	11/29	1/29
Change from legally blind to non-legally blind at Year 1	8/11	0
Became legally blind at Year 1 post treatment	0/29	0/29

VA, visual acuity; VF, visual field

- One year after receiving VN treatment, 8/11 (73%) patients who were legally blind at baseline no longer fulfilled the criteria for legal blindness. Only 3 patients remained legally blind (Figure 4)

4-Probablement plus important est **l'OCT**, qui permet d'évaluer anatomiquement l'étendue et la structure de la rétine résiduelle potentiellement sensible au traitement



5-On pourrait considérer également la **rapidité de progression** de la maladie au cours des dernières années. Certaines études remarquent que la progression de la dégénérescence rétinienne n'est pas toujours linéaire, de sorte qu'il est difficile d'établir des évaluations pronostiques fiables.

6-Étant donné que la thérapie vise à restaurer la fonction du gène RPE65, et seulement cela, il est nécessaire d'être sûr que ce sont précisément les **altérations du gène RPE65** qui sont réellement responsables de la maladie.

7-Comme nous l'avons vu, les indications dans la fiche technique sont génériques pour ne parler que de "mutations bialléliques confirmées de RPE65". Nous devons être sûrs que ces mutations sont pathogéniques. En fait, lorsque des variantes du patrimoine génétique sont trouvées, il n'est pas toujours certain que celles-ci causent des effets négatifs sur la protéine.

Ainsi, **clarifier la pathogénie**, c'est-à-dire la responsabilité d'une mutation donnée dans la détermination de la maladie est absolument essentielle. Cette pathogénie est évidente lorsque la mutation a déjà été rapportée dans la littérature scientifique chez d'autres patients souffrant de la maladie. Elle peut être plus incertaine dans les cas où la mutation est détectée pour la première fois.

Il existe ensuite diverses méthodes qui permettent de déterminer la pathogénie d'une certaine mutation, même en utilisant des logiciels prédictifs spécifiques.

## Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology

Sue Richards, PhD<sup>1</sup>, Nazneen Aziz, PhD<sup>2,16</sup>, Sherri Bale, PhD<sup>3</sup>, David Bick, MD<sup>4</sup>, Soma Das, PhD<sup>5</sup>, Julie Gastier-Foster, PhD<sup>6,7,8</sup>, Wayne W. Grody, MD, PhD<sup>9,10,11</sup>, Madhuri Hegde, PhD<sup>12</sup>, Elaine Lyon, PhD<sup>13</sup>, Elaine Spector, PhD<sup>14</sup>, Karl Voelkerding, MD<sup>13</sup> and Heidi L. Rehm, PhD<sup>15</sup>; on behalf of the ACMG Laboratory Quality Assurance Committee

Table 3 Criteria for classifying pathogenic variants

Evidence of pathogenicity	Category
Very strong	<p>PV1 Null variant (nonsense, frameshift, canonical <math>\pm</math> 1 or 2 splice sites, initiation codon, single or multiple deletion) in a gene where LOF is a known mechanism of disease</p> <p>Caveats:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Beware of genes where LOF is not a known disease mechanism (e.g., <i>GLAF</i>, <i>MYH7</i>)</li> <li>Use caution interpreting LOF variants at the extreme 3' end of a gene</li> <li>Use caution with splice variants that are predicted to lead to exon skipping but leave the remainder of the protein intact</li> <li>Use caution in the presence of multiple transcripts</li> </ul>
Strong	<p>PS1 Same amino acid change as a previously established pathogenic variant regardless of nucleotide change Example: Val→Leu caused by either G&gt;C or G&gt;T in the same codon Caveat: Beware of changes that impact splicing rather than at the amino acid/protein level</p> <p>PS2 De novo (paternity and maternity confirmed) in a patient with the disease and no family history Note: Confirmation of paternity only is insufficient. Egg donation, surrogate motherhood, errors in embryo transfer, and so on, can contribute to nonpaternity</p> <p>PS3 Well-established in vitro or in vivo functional studies supportive of a damaging effect on the gene or gene product Note: Functional studies that have been validated and shown to be reproducible and robust in a clinical diagnostic laboratory setting are considered the most well established.</p> <p>PS4 The prevalence of the variant in affected individuals is significantly increased compared with the prevalence in controls Note 1: Relative risk or OR, as obtained from case-control studies, is &gt;1.0, and the confidence interval around the estimate of relative risk or OR does not include 1.0. See the article for detailed guidance. Note 2: In instances of very rare variants where case-control studies may not reach statistical significance, the prior observation of the variant in multiple unrelated patients with the same phenotype, and its absence in controls, may be used as moderate level of evidence.</p>
Moderate	<p>PM1 Located in a mutational hot spot and/or critical and well-established functional domain (e.g., active site of an enzyme) without benign variation</p> <p>PM2 Absent from controls (or at extremely low frequency if recessive) (Table 6) in Exome Sequencing Project, 1000 Genomes Project, or Exome Aggregation Consortium Caveat: Population data for insertions/deletions may be poorly called by next-generation sequencing.</p> <p>PM3 For recessive disorders, detected in trans with a pathogenic variant Note: This requires testing of parents (or offspring) to determine phase.</p> <p>PM4 Protein length changes as a result of in-frame deletions/insertions in a nonpeptide region or stop-loss variants</p> <p>PM5 Novel missense change at an amino acid residue where a different missense change determined to be pathogenic has been seen before Example: Arg156His is pathogenic; now you observe Arg156Cys Caveat: Beware of changes that impact splicing rather than at the amino acid/protein level.</p> <p>PM6 Assumed de novo, but without confirmation of paternity and maternity</p>
Supporting	<p>PP1 Co-segregation with disease in multiple affected family members in a gene definitively known to cause the disease Note: May be used as stronger evidence with increasing segregation data</p> <p>PP2 Missense variant in a gene that has a low rate of benign missense variation and in which missense variants are a common mechanism of disease</p> <p>PP3 Multiple lines of computational evidence support a deleterious effect on the gene or gene product (conservation, evolutionary, splicing impact, etc.) Caveat: Because many in silico algorithms use the same or very similar input for their predictions, each algorithm should not be counted as an independent criterion. PP3 can be used only once in any evaluation of a variant.</p> <p>PP4 Patient's phenotype or family history is highly specific for a disease with a single genetic etiology</p> <p>PP5 Reputable source recently reports variant as pathogenic, but the evidence is not available to the laboratory to perform an independent evaluation</p>

LOF, loss of function; OR, odds ratio.

Table 5 Rules for combining criteria to classify sequence variants

Pathogenic	<p>(I) 1 Very strong (PV51) AND (a) <math>\geq</math> 1 Strong (PS1–PS4) OR (b) <math>\geq</math> 2 Moderate (PM1–PM6) OR (c) 1 Moderate (PM1–PM6) and 1 supporting (PP1–PP5) OR (d) <math>\geq</math> 2 Supporting (PP1–PP5) (II) <math>\geq</math> 2 Strong (PS1–PS4) OR (III) 1 Strong (PS1–PS4) AND (a) <math>\geq</math> 3 Moderate (PM1–PM6) OR (b) 2 Moderate (PM1–PM6) AND <math>\geq</math> 2 Supporting (PP1–PP5) OR (c) 1 Moderate (PM1–PM6) AND <math>\geq</math> 4 Supporting (PP1–PP5)</p>
Likely pathogenic	<p>(I) 1 Very strong (PV51) AND 1 moderate (PM1–PM6) OR (II) 1 Strong (PS1–PS4) AND 1–2 moderate (PM1–PM6) OR (III) 1 Strong (PS1–PS4) AND <math>\geq</math> 2 supporting (PP1–PP5) OR (IV) <math>\geq</math> 3 Moderate (PM1–PM6) OR (V) 2 Moderate (PM1–PM6) AND <math>\geq</math> 2 supporting (PP1–PP5) OR (VI) 1 Moderate (PM1–PM6) AND <math>\geq</math> 4 supporting (PP1–PP5)</p>
Benign	<p>(I) 1 Stand-alone (BA1) OR (II) <math>\geq</math> 2 Strong (BS1–BS4)</p>
Likely benign	<p>(I) 1 Strong (BS1–BS4) and 1 supporting (BP1–BP7) OR (II) <math>\geq</math> 2 Supporting (BP1–BP7)</p>
Uncertain significance	<p>(I) Other criteria shown above are not met OR (II) the criteria for benign and pathogenic are contradictory</p>

Les indications de la Société allemande d'ophtalmologie proposent de traiter les patients atteints de mutations bialleliques RPE65 et classés dans les catégories 4 et 5 (pathogenic and likely pathogenic) selon la classification 2015 de l'American College of Medical Genetics,

# RPE65 Mutation Subtype Effect on Baseline Visual Function and Treatment Response in Phase 3 Voretigene Neparvovec Trial

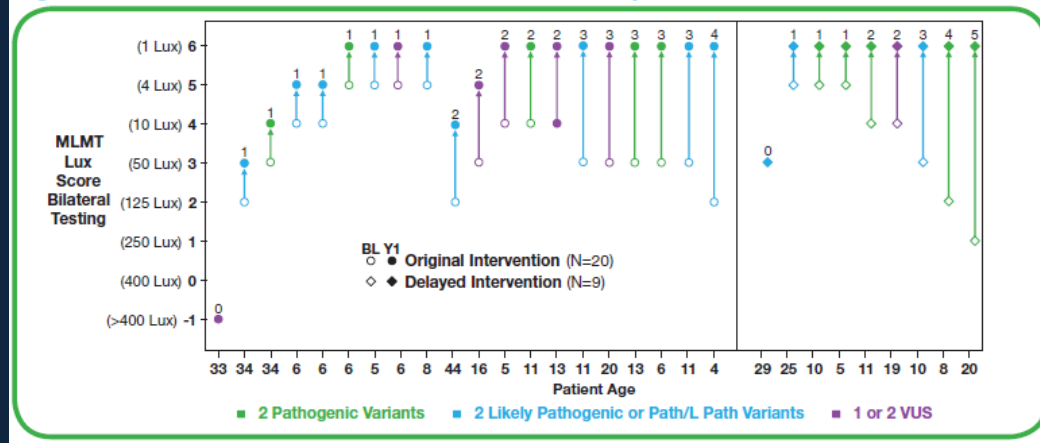
POS08

Vinit B. Mahajan, MD, PhD<sup>1</sup>; Jean Bennett, MDP<sup>2</sup>; Albert Maguire, MDP<sup>3</sup>; Julia Haller, MD<sup>4</sup>; Bart P. Laroey, MD, PhD<sup>5</sup>; Elliott H. Sohn, MDP<sup>6</sup>; Ariana Drack, MDP<sup>7</sup>; Christine M. Ohman, MD<sup>8</sup>; Thomas Cluff, MDP<sup>9</sup>; Daniel Chung, DO<sup>10</sup>; Katherine A. High, MDP<sup>11</sup>; Stephen Russell, MDP<sup>12</sup>

<sup>1</sup>Yerkes Eye Institute, Department of Ophthalmology, Stanford University, Palo Alto, CA; <sup>2</sup>Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphia, PA; <sup>3</sup>Thomas Jefferson University, Philadelphia, PA; <sup>4</sup>Wills Eye Hospital, Philadelphia, PA; <sup>5</sup>Queen's University & Queen's University Hospital, Belfast, Northern Ireland; <sup>6</sup>University of Iowa, Iowa City, IA; <sup>7</sup>OMD Medical Communications, LLC, Reading, PA; <sup>8</sup>Speck Therapeutics, Inc, Philadelphia, PA; <sup>9</sup>University of Iowa, Iowa City, IA; <sup>10</sup>University of Iowa, Iowa City, IA; <sup>11</sup>University of Iowa, Iowa City, IA; <sup>12</sup>University of Iowa, Iowa City, IA

American Academy of Ophthalmology Annual Meeting, October 27–30, 2018, McCormick Place, Chicago, IL.

Figure 5. Variant Classification and Treatment Response



No correlations emerged between mutation subtype or ACMG classification and baseline visual function or treatment response (Figure 5)

— 27 of 29 subjects with a range of variant classifications responded to treatment with VN

- 10/10 with 2 pathogenic variants
- 11/12 with 2 likely pathogenic variants or 1 likely and 1 pathogenic variant
- 6/7 with 1 or 2 VUS
- 21 subjects improved to the maximum level of light sensitivity tested
  - 9 with 2 pathogenic variants
  - 7 with 2 likely pathogenic variants or 1 likely and 1 pathogenic variant
  - 5 with 1 or 2 VUS
- 16 subjects improved by 2 or more light levels on the MLMT
  - 6 with 2 pathogenic variants
  - 6 with 2 likely pathogenic variants or 1 likely and 1 pathogenic variant
  - 5 with 1 or 2 VUS
  - 3 subjects with 2 VUS improved by 1 to 3 light levels on the MLMT

De plus, dans l'étude de Luxturna phase 3 (Russell 2017) des résultats favorables ont été obtenus même en traitant aussi des patients avec VUS (variant uncertain significance)

# Utility of In Vitro Mutagenesis of RPE65 Protein for Verification of Mutational Pathogenicity Before Gene Therapy

Unikora Yang, MD; Susan Gentleman, PhD; Xiaowu Gai, PhD; Michael B. Gorin, MD, PhD; Mark S. Borchert, MD; Thomas C. Lee, MD; Adda Villanueva, MD; Robert Koenekoop, MD, PhD; Albert M. Maguire, MD; Jean Bennett, MD, PhD; T. Michael Redmond, PhD; Aaron Nagiel, MD, PhD

**CONCLUSIONS AND RELEVANCE** Findings from this study suggest that, in patients with missense mutations in *RPE65*, functional assays of protein function can be performed to assess the pathogenicity of variants in both compound heterozygous and homozygous cases. Given the potential risks of gene therapy operations, in vitro RPE65 activity testing should be considered to avoid the possibility of treating a false genotype.

JAMA Ophthalmol. doi:10.1001/jamaophthalmol.2019.3914  
Published online October 3, 2019.

Les cas particulièrement complexes peuvent nécessiter des **études fonctionnelles**, c'est-à-dire des expériences en laboratoire qui évaluent in vitro les effets du gène muté sur la production et la fonction des protéines. En Italie, nous parlons de mettre en place un **laboratoire de référence** au niveau national précisément pour le contrôle des mutations et d'une étude approfondie de leur pathogénicité.

## The Natural History of Inherited Retinal Dystrophy due to Biallelic Mutations in the *RPE65* Gene

Daniel C. Chung<sup>1</sup>, Mette Bertelsen<sup>2</sup>, Birgit Lorenz<sup>3</sup>, Mark E. Pennesi<sup>4</sup>, Bart P. Leroy<sup>5-7</sup>, Christian P. Hamel<sup>8,9</sup>, Eric Pierce<sup>10</sup>, Juliana Sallum<sup>11</sup>, Michael Larsen<sup>2</sup>, Knut Stieger<sup>3</sup>, Markus Preising<sup>3</sup>, Richard Weleber<sup>4</sup>, Paul Yang<sup>4</sup>, Emily Place<sup>10</sup>, Emily Liu<sup>1</sup>, Grace Schaefer<sup>1</sup>, Julie DiStefano-Pappas<sup>11</sup>, Okan U. Elci<sup>11</sup>, Sarah McCague<sup>6</sup>, Jennifer A. Wellman<sup>1</sup>, Katherine A. High<sup>1</sup>, Kathleen Z. Reape<sup>1</sup>

Accepted Date: 20 September 2018 *American Journal of Ophthalmology*

Leber congenital amaurosis/early-onset severe retinal dystrophy: clinical features, molecular genetics and therapeutic interventions. *Br J Ophthalmol* 2017;**101**:1147–1154.

Neruban Kumaran,<sup>1,2</sup> Anthony T Moore,<sup>1,2,3</sup> Richard G Weleber,<sup>4</sup> Michel Michaelides<sup>1,2</sup>

*Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2008 December ; 49(12): 5235–5242. doi:10.1167/iovs.07-1671.

**A novel RPE65 hypomorph expands the clinical phenotype of RPE65 mutations. A comprehensive clinical and biochemical functional study**

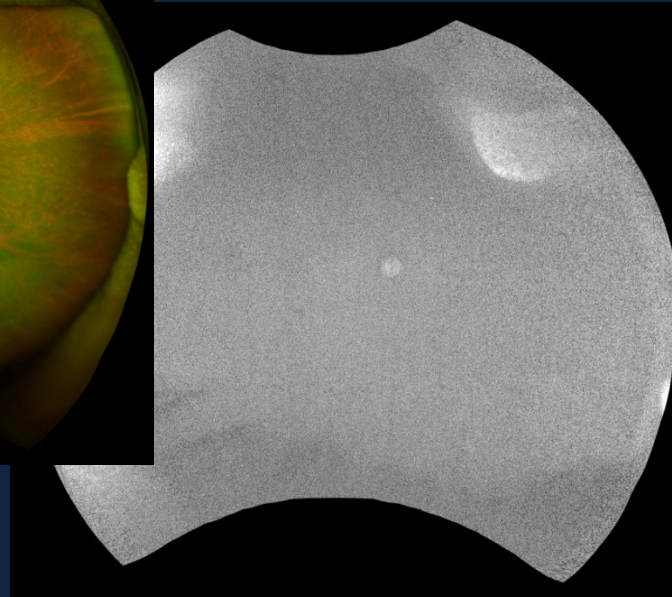
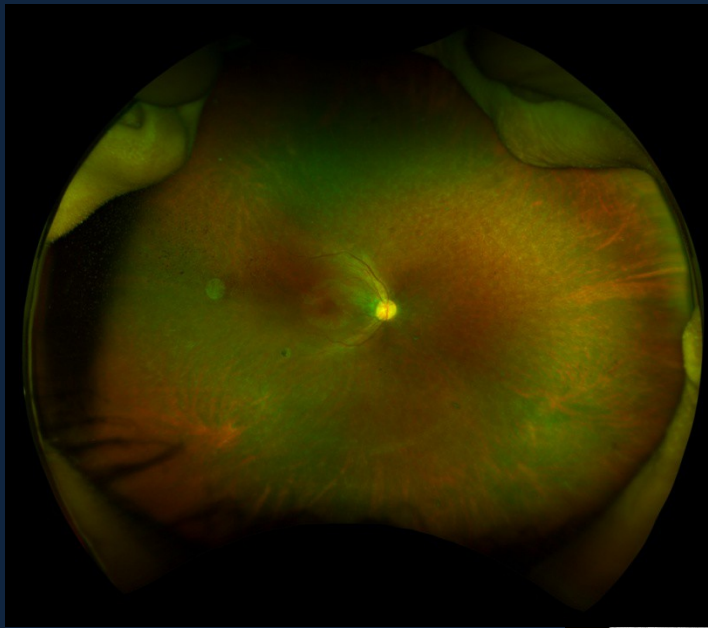
Birgit Lorenz<sup>1,§</sup>, Eugenia Poliakov<sup>2</sup>, Maria Schambeck<sup>§</sup>, Christoph Friedburg<sup>1,§</sup>, Markus N. Preising<sup>1,§</sup>, and T. Michael Redmond<sup>2</sup>

## *RPE65*-Related Leber Congenital Amaurosis / Early-Onset Severe Retinal Dystrophy

Daniel L Chao, Amanda Burr, Mark Pennesi

GeneReviews®, 14 November 2019

En cas de doute du point de vue génétique, il peut également être important d'évaluer avec précision le phénotype, car certains aspects cliniques (apparition précoce, héméralopie, grave perte visuelle associée au maintien relatif de la structure rétinienne, ERG considérablement altéré, réduction diffuse de l'autofluorescence, altérations OCT ONL périfovéale, petites taches blanches au niveau du EPR ) peuvent être signes d'une **rétinopathie associée au gène RPE65**, même en présence d'un génotype plus incertain.



Nicolas B, 19 ans

Réduction diffuse de  
l'autofluorescence



Ophthalmology. 2004 Aug;111(8):1585-94.

**Lack of fundus autofluorescence to 488 nanometers from childhood on in patients with early-onset severe retinal dystrophy associated with mutations in RPE65.**

Lorenz B<sup>1</sup>, Wabbels B, Wegscheider E, Hamel CP, Drexler W, Preising MN.

⊖ **Author information**

1 Department of Paediatric Ophthalmology and Ophthalmogenetics, University of Regensburg, Germany. Birgit.Lorenz@klinik.uni-regensburg.de

- ✓ La thérapie génique des dystrophies rétiniennes peut être considérée comme un traitement révolutionnaire, car pour la première fois elle offre une possibilité thérapeutique concrète aux patients pour lesquels jusqu'à présent nous étions impuissants.
- ✓ Jusqu'à ce jour, le seul traitement approuvé est la thérapie génique des dystrophies rétiniennes dues au gène RPE65, connue sous le nom commercial de Luxturna.
- ✓ Luxturna est un véritable médicament et donc il est très différent d'un essai clinique.
- ✓ Nous ne serons probablement pas en mesure de traiter tous les patients potentiels. Il faudra donc faire des choix.
- ✓ Le critère idéal est d'intervenir à des stades relativement précoces de la maladie lorsqu'il y a encore une activité visuelle importante. Cette question reste encore débattue.
- ✓ Il est nécessaire d'être sûr que ce sont précisément les altérations du gène RPE65 qui sont réellement responsables de la maladie.
- ✓ Des lignes directrices partagées pourraient être très utiles pour des choix équilibrés