

Poster P.18.121

LIVER-DIRECTED GENE THERAPY WITH LENTIVIRAL VECTORS ACHIEVE NORMAL LEVELS OF CLOTTING FACTOR VIII AND IX IN NON-HUMAN PRIMATES

Milani M.^[1], Canepari C.^[1], Annoni A.^[1], Liu T.^[2], Biffi M.^[1], Patarroyo--White S.^[2], Ayuso E.^[3], Peters R.^[2], **Cantore A.*^[1]**, Naldini L.^[1]

^[1]SR-Tiget ~ Milan ~ Italy, ^[2]Sanofi ~ Waltham ~ United States of America, ^[3]University of Nantes ~ Nantes ~ France

Liver-directed gene therapy with adeno-associated viral (AAV) vectors delivering a clotting factor transgene has shown successful results in adults with hemophilia. However, because AAV vectors do not actively integrate into the host cell genome, they are diluted upon cell division in liver growth, thus challenging their proficient use in pediatric patients. In contrast, lentiviral vectors (LV) integrate into the target cell chromatin and are maintained as cells divide. We have developed LV that achieve stable transgene expression in the liver following systemic administration and allow dose-dependent reconstitution of coagulation factor IX (FIX) activity in mouse and dog models of hemophilia B. We recently generated improved phagocytosis-shielded LV, which, upon intravenous (i.v.) administration to non-human primates (NHP), showed selective targeting of liver and spleen and enhanced hepatocyte gene transfer, reaching up to 300% of normal activity of a human FIX transgene, without signs of toxicity or clonal expansion of transduced cells. In order to apply our gene therapy strategy to hemophilia A, we have codon-optimized the coagulation factor VIII (FVIII) transgene and incorporated a DNA fragment encoding a non-structured XTEN polypeptide, known to increase the half-life and expression level of the payload protein into the B-domain region of FVIII (coFVIII-XTEN). I.v. administration of LV-coFVIII-XTEN to NHP resulted in 60-100% of normal circulating FVIII, with immune suppression. These studies support further pre-clinical assessment and clinical evaluation of liver-directed LV gene therapy in patients with hemophilia.

La terapia genica diretta al fegato con vettori lentivirali permette di raggiungere livelli normali di fattore VIII e IX della coagulazione in primati non umani

La terapia genica diretta al fegato con vettori adeno-associati (AAV) contenenti un transgene di un fattore della coagulazione ha dimostrato risultati molto positivi in pazienti adulti affetti da emofilia. Tuttavia, poiché i vettori AAV non si integrano attivamente nel genoma della cellula ospite, vengono diluiti in seguito alla divisione cellulare durante la crescita del fegato, rendendo così al momento difficile il loro uso nei pazienti pediatrici. Al contrario, i vettori lentivirali (LV) si integrano nella cromatina delle cellule bersaglio e vengono mantenuti anche se le cellule si dividono. Abbiamo sviluppato LV che raggiungono un'espressione stabile del transgene nel fegato dopo la somministrazione sistemica e consentono una ricostituzione dose-dipendente dell'attività del fattore IX (FIX) della coagulazione in modelli di emofilia B di topo e cane. Di recente abbiamo generato LV più resistenti alla fagocitosi, che, dopo la somministrazione endovenosa (i.v.) in primati non umani (NHP), hanno mostrato trasferimento genico selettivo nel fegato e nella milza e hanno migliorato in particolare il trasferimento genico degli epatociti, raggiungendo fino al 300% dell'attività normale di un transgene FIX umano, senza segni di tossicità. Per applicare la nostra strategia di terapia genica all'emofilia A, abbiamo ottimizzato il transgene del fattore VIII della coagulazione (FVIII) e incorporato un frammento di DNA che codifica un polipeptide XTEN non strutturato, noto per aumentare la stabilità e il livello di espressione delle proteine nella regione del dominio B di FVIII (coFVIII-XTEN). Dopo somministrazione i.v. di LV-coFVIII-XTEN in NHP abbiamo osservato il 60-100% della normale concentrazione di FVIII circolante, seppur durante un periodo di immunosoppressione. Questi studi

supportano un'ulteriore valutazione preclinica e una possibile valutazione clinica della terapia genica diretta dal fegato con LV in pazienti con emofilia.

Milani et al., Science Translational Medicine 2019

Emofilia

Coordinator: Luigi Naldini, Alessio Cantore

Duration (N. Years): 5

Starting year: 2016

Telethon Project (nr):

TGT16D04

Disease Name:

Hemophilia

Keywords:

Gene therapy, Liver, Lentiviral vectors