

# Intérêts de la Détermination de l'*IL28B* dans la Prise en Charge des Patients Atteints d'Hépatite C

**Stéphane Chevaliez**



Centre National de Référence  
des Hépatites Virales B, C et delta  
Laboratoire de Virologie & INSERM U955  
Hôpital Henri Mondor  
Université Paris-Est  
Créteil

# Plan

- Introduction
- Etude d'associations pangénomiques : découverte de l'*IL28B*
- *IL28B* et réponse à la bithérapie pégylée
  - *Génotype 1*
  - *Génotype non-1*
  - *Autres populations*
- *IL28B* et réponse à la trithérapie incluant un IP
- *IL28B* et vitesse de progression de la fibrose
- *IL28B* et cinétiques virales
- *IL28B* et mécanismes moléculaires
- Détermination du génotype de l'*IL28B*

# Plan

- **Introduction**
- Etude d'associations pangénomiques : découverte de l'*IL28B*
- *IL28B* et réponse à la bithérapie pégylée
  - *Génotype 1*
  - *Génotype non-1*
  - *Autres populations*
- *IL28B* et réponse à la trithérapie incluant un IP
- *IL28B* et vitesse de progression de la fibrose
- *IL28B* et cinétiques virales
- *IL28B* et mécanismes moléculaires
- Détermination du génotype de l'*IL28B*

# L'Hépatite C en France

- **0,5% (~200 000) porteurs chroniques**
- **2<sup>ème</sup> cause de cirrhose et de CHC**
- **> 2 500 morts par an**
- **<200 000 sujets dépistés**
- **80 000 malades traités**
- **5 100 nouveaux traitements en 2010**

**L'infection  
Chronique C est  
Curable**

## Options Thérapeutiques Disponibles en 2012

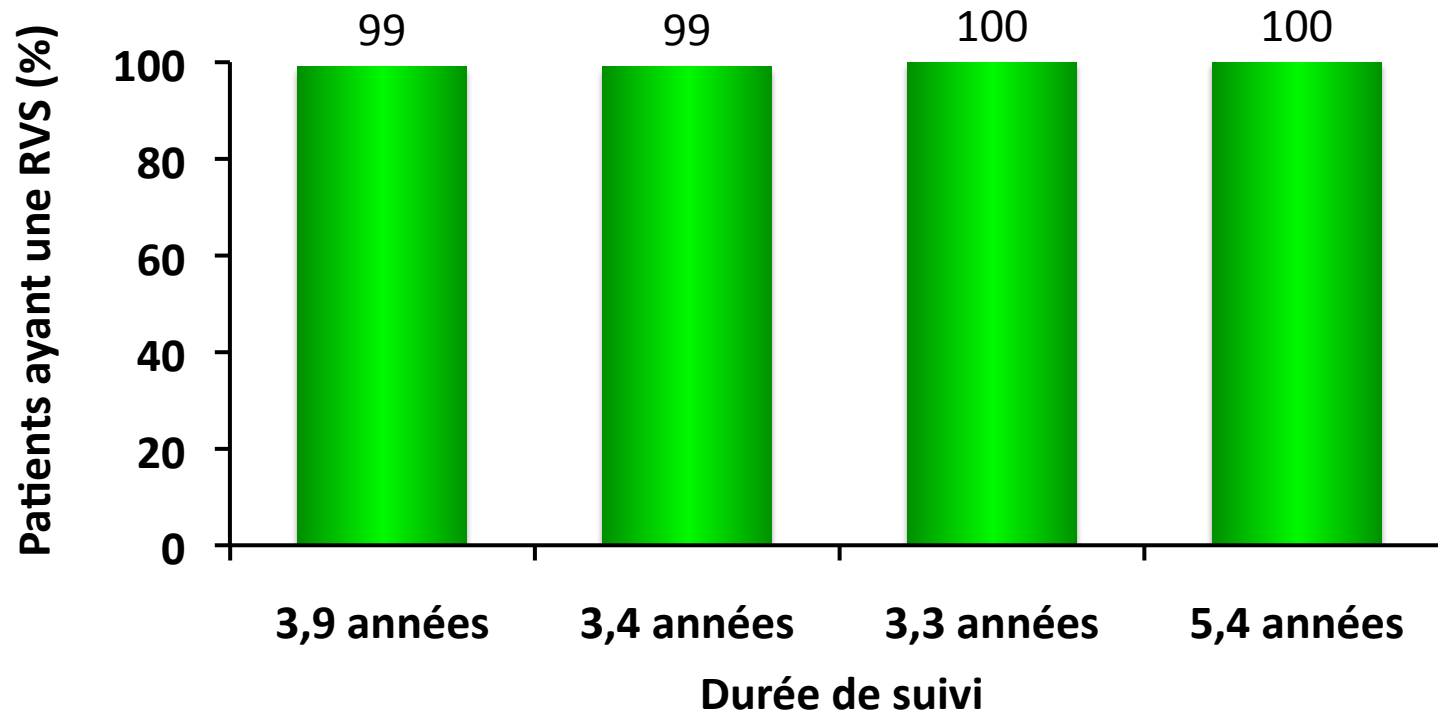
- **Bithérapie pégylée**
  - Patients infectés par un VHC de génotype 2, 3, 4, 5 et 6, (1)
- **Trithérapie incluant un inhibiteur de protéase (telaprevir ou boceprevir)**
  - Uniquement pour les patients infectés par un VHC de génotype 1

# Critère d'Evaluation Thérapeutique

- **La Réponse Virologique Soutenue (RVS) est utilisée comme critère principal de succès thérapeutique**
  
- **La RVS est définie par un ARN indétectable (<10-15 UI/mL) 24 semaines après l'arrêt du traitement**

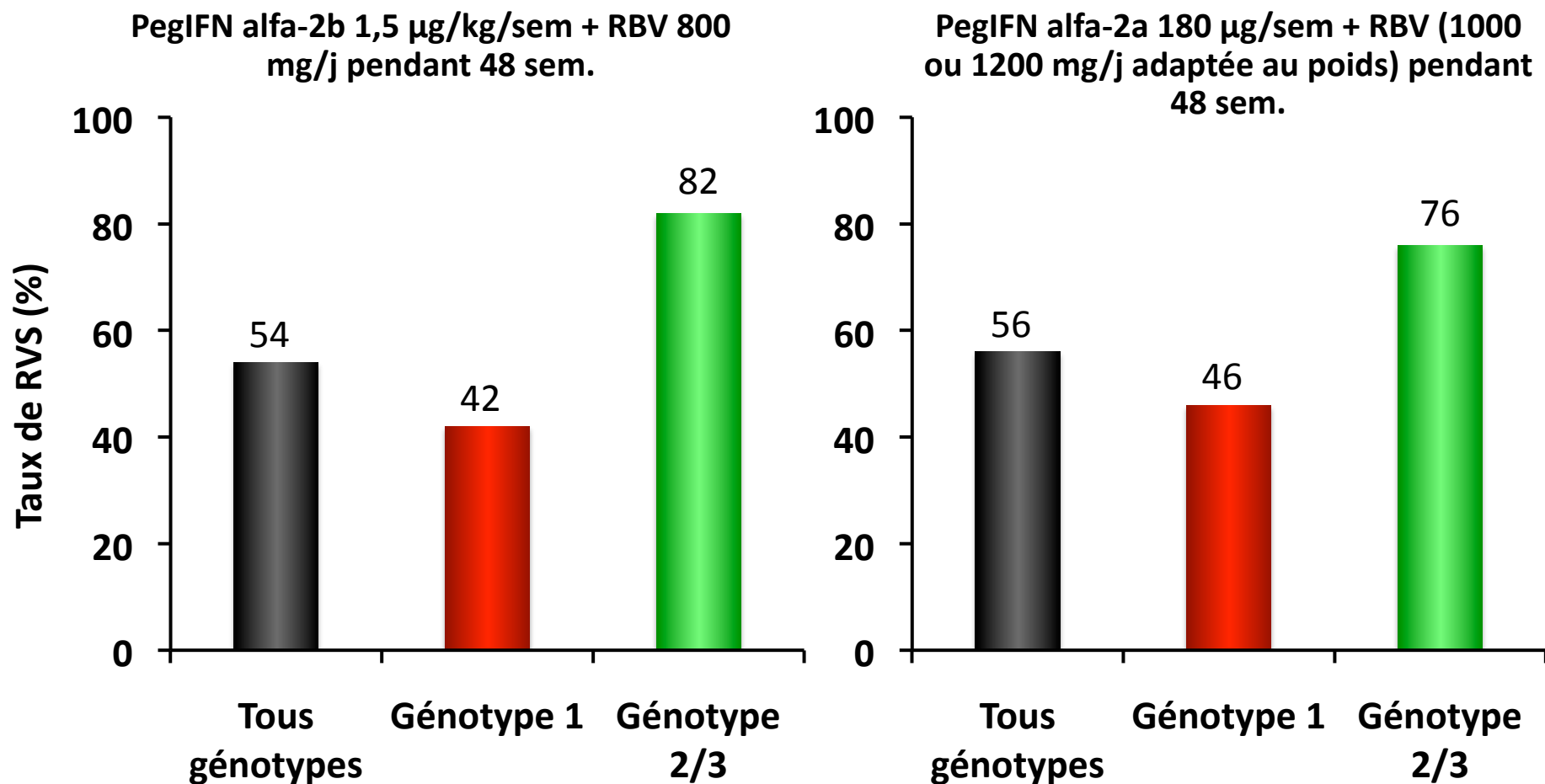
# La RVS est Synonyme de Guérison

- La quasi-totalité des patients ayant une RVS conserve un ARN indétectable à long terme





# Taux de RVS de la Bithérapie Pégylée



# Facteurs Prédicatifs de Réponse au Traitement

- **Facteurs pré-thérapeutiques**
  - Liés au patient
  - Liés au virus
  
- **Facteurs per-thérapeutiques**
  - Cinétiques virales sous traitement

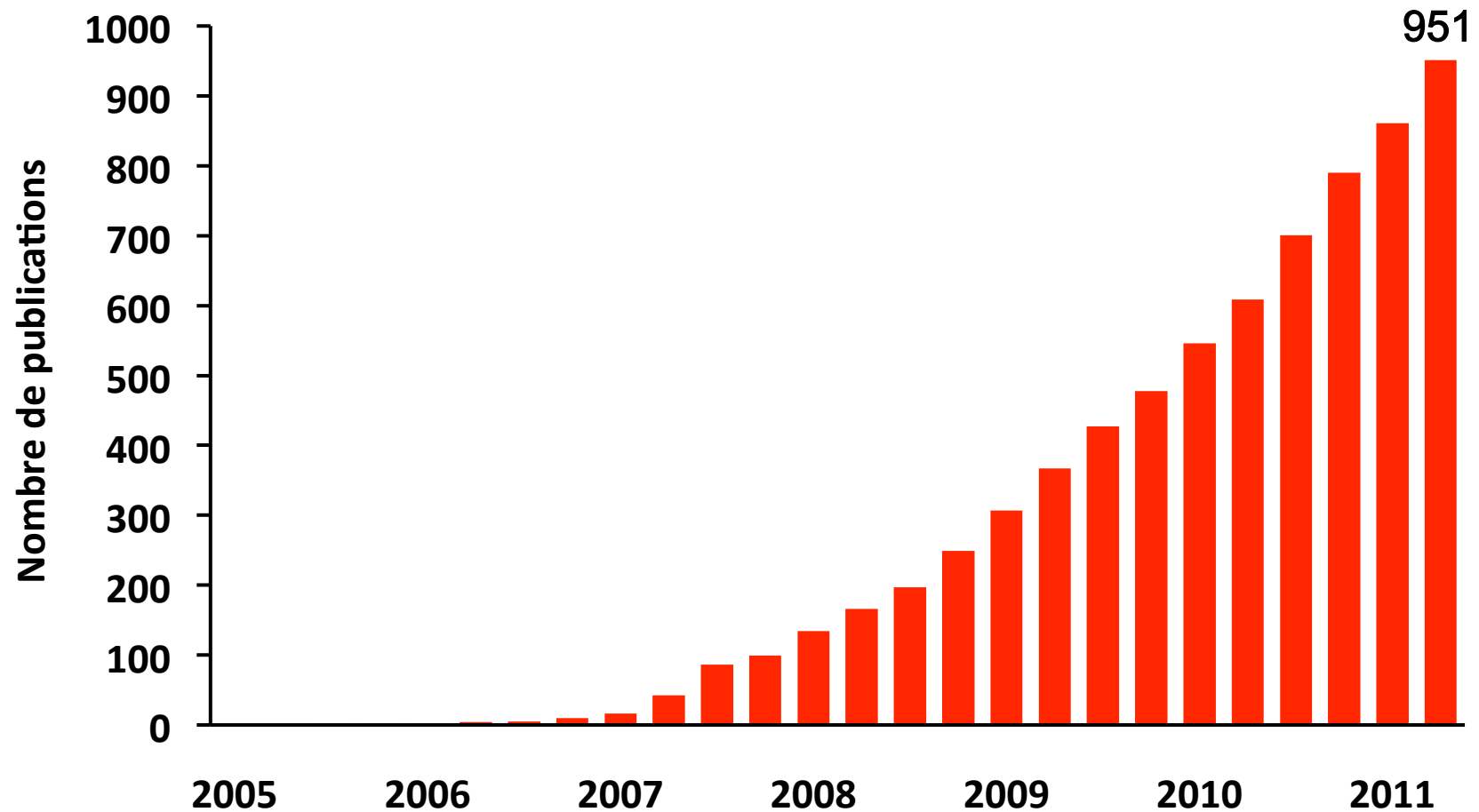
# Facteurs Prédicatifs de Réponse au Traitement

- **Facteurs pré-thérapeutiques**
  - Liés au patient (ethnie, âge, sexe, stade de fibrose, insulino-résistance, coinfection, OH, vit. D, IP-10, **IL28B**)
  - Liés au virus (génotype viral, charge virale avant traitement)
- **Facteurs per-thérapeutiques**
  - Cinétiques virales sous traitement

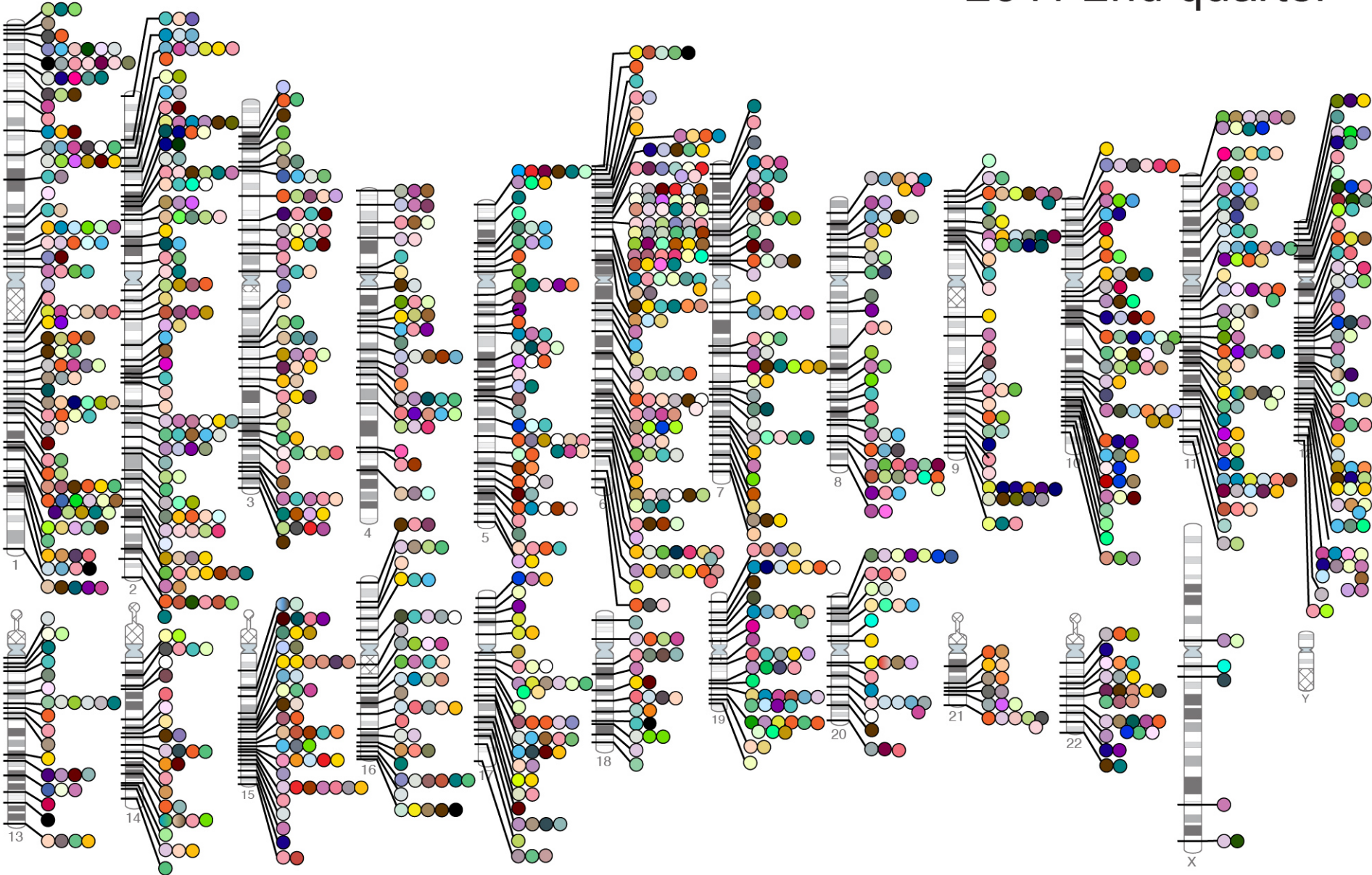
# Plan

- Introduction
- **Etude d'associations pangénomiques : découverte de l'*IL28B***
- *IL28B* et réponse à la bithérapie pégylée
  - *Génotype 1*
  - *Génotype non-1*
  - *Autres populations*
- *IL28B* et réponse à la trithérapie incluant un IP
- *IL28B* et vitesse de progression de la fibrose
- *IL28B* et cinétiques virales
- *IL28B* et mécanismes moléculaires
- Quelle méthode pour déterminer du génotype de l'*IL28B* ?

## Nombre de Publications Concernant les “Etudes d’Associations Pangénomiques” (GWAS)

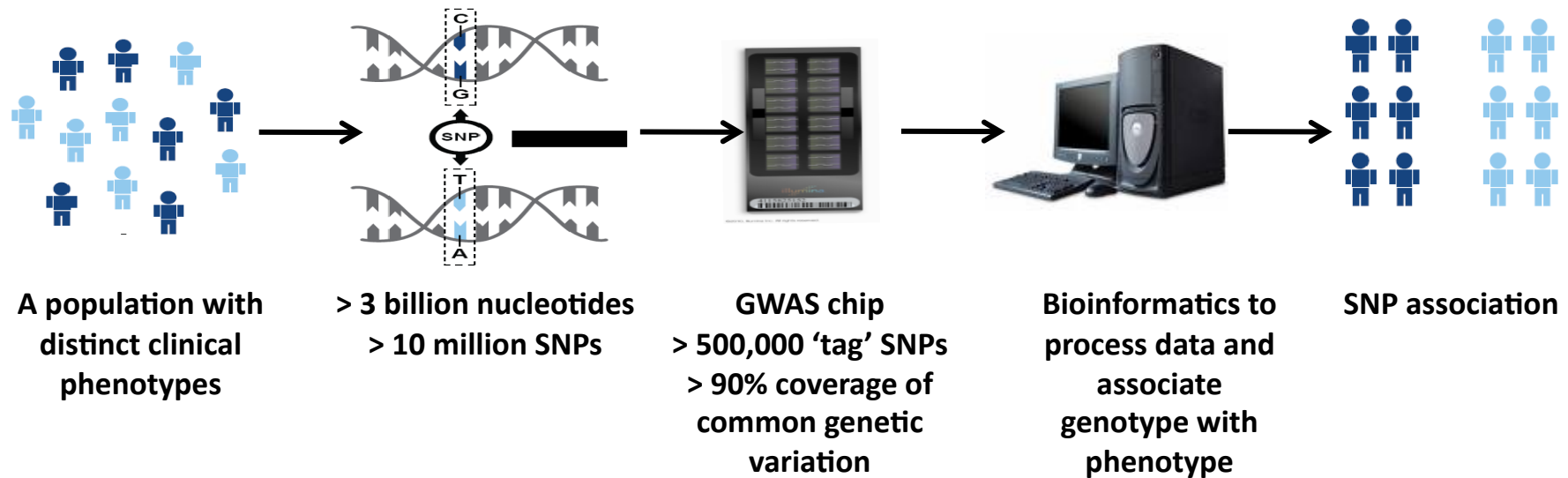


# 2011 2nd quarter



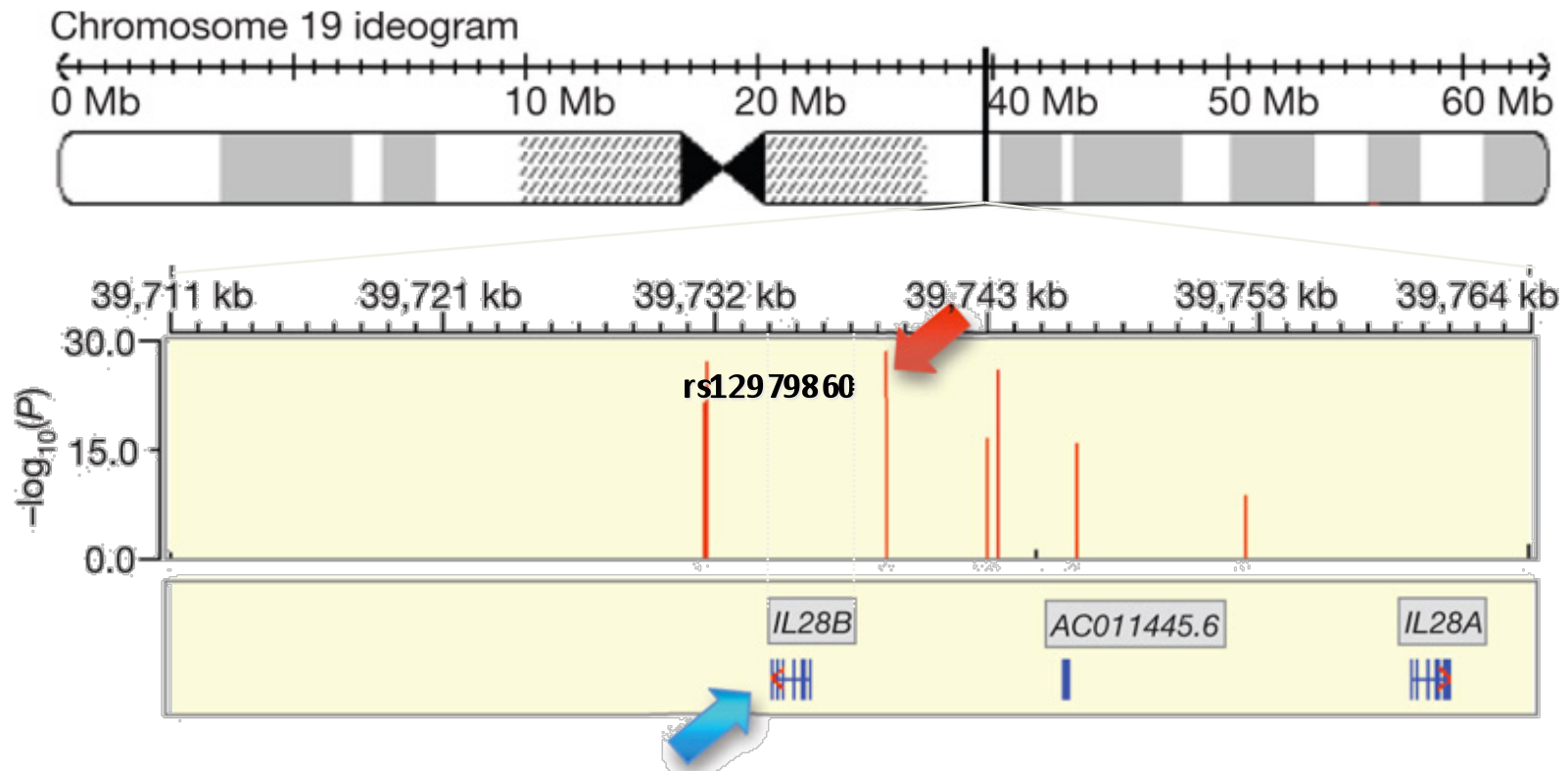
# “Genome Wide Association Studies“ (GWAS)

## *Etudes d'Associations Pangénomiques*



# IL28B “Single Nucleotide Polymorphisme” (SNP)

En amont du gène de l'IL28B, codant l'IFN-λ3





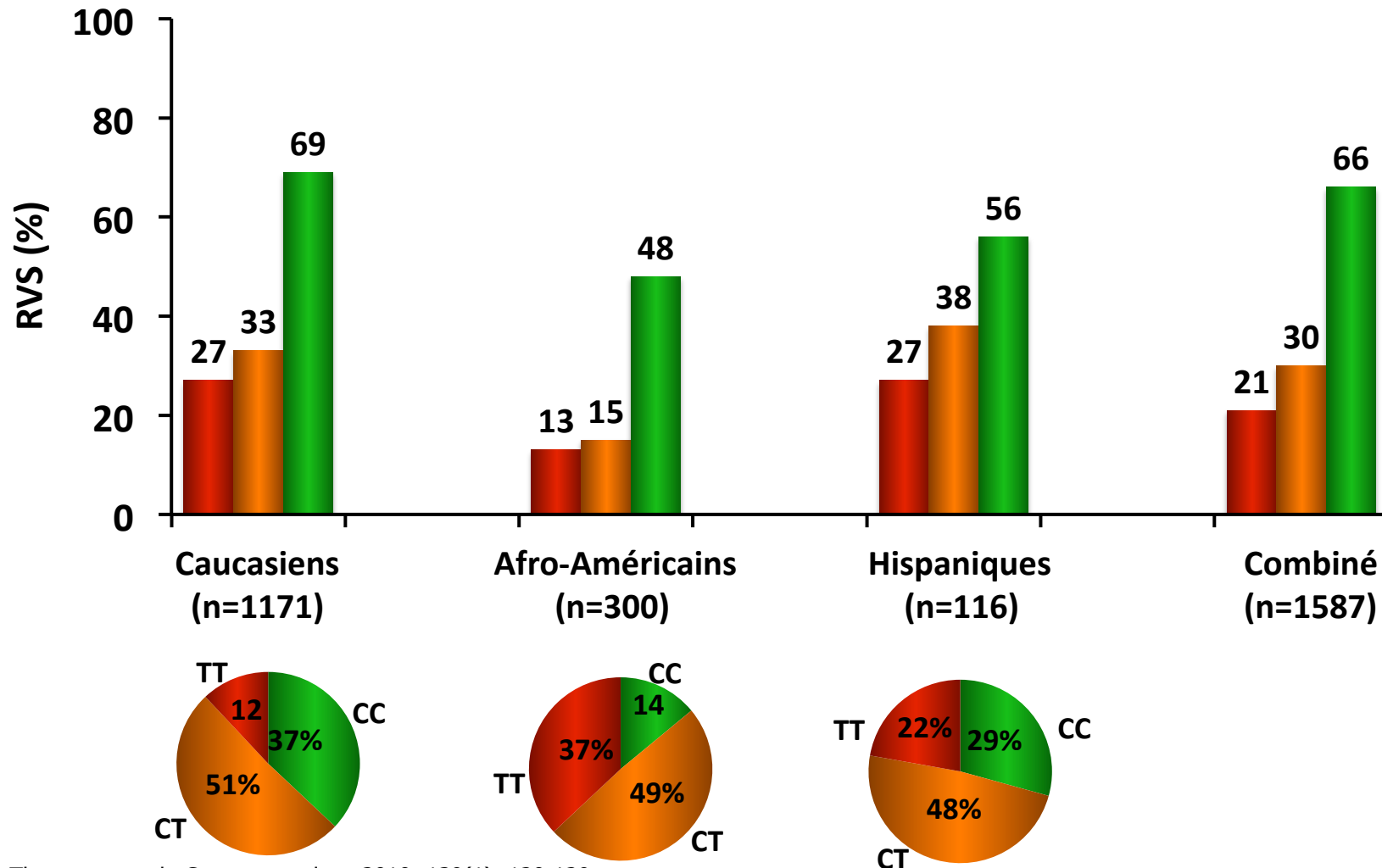
## Importances Cliniques du polymorphisme de l'*IL28B*

- Rôle dans la clairance spontanée de l'infection aiguë par le VHC
- Rôle dans la réponse au traitement de l'hépatite chronique C

# Plan

- Introduction
- Etude d'associations pangénomiques : découverte de l'*IL28B*
- ***IL28B* et réponse à la bithérapie pégylée**
  - ***Génotype 1***
  - ***Génotype non-1***
  - ***Autres populations***
- *IL28B* et réponse à la trithérapie incluant un IP
- *IL28B* et vitesse de progression de la fibrose
- *IL28B* et cinétiques virales
- *IL28B* et mécanismes moléculaires
- Quelle méthode pour déterminer du génotype de l'*IL28B* ?

# IL28B (rs12979860) et Réponse au Traitement



## IL28B : Facteur Prédicatif de la RVS le plus Puissant

	Odds-Ratio	IC <sub>95</sub>		<i>p</i>
<b>Génotype CC IL28B vs non-CC</b>	<b>5,2</b>	<b>4,1</b>	<b>6,7</b>	<b>&lt; 0,0001</b>
Charge virale ≤ 600,000 UI/mL	3,1	2,3	4,1	< 0,0001
Caucasien vs afro-américains	2,8	2,0	4,0	< 0,0001
Hispaniques vs afro-américains	2,1	1,3	3,6	0,004
METAVIR F0-F1-F2	2,7	1,8	4,0	< 0,0001
Glycémie à jeun < 5,6 mmol/L	1,7	1,3	2,2	< 0,0001

## IL28B : Facteur Prédicatif de la RVS le plus Puissant

	Odds-Ratio	IC <sub>95</sub>		<i>p</i>
<b>Génotype CC IL28B vs non-CC</b>	<b>7,88</b>	<b>3,1</b>	<b>20,05</b>	<b>&lt; 0,0001</b>
Génotype 2/3	7,2	2,47	20,98	0,0003
Charge virale faible (<600,000 UI/mL)	3,58	1,41	9,1	0,0073
Malades naïfs	3,23	1,15	9,09	0,026
Age (per an)	0,92	0,86	1,0	0,0387

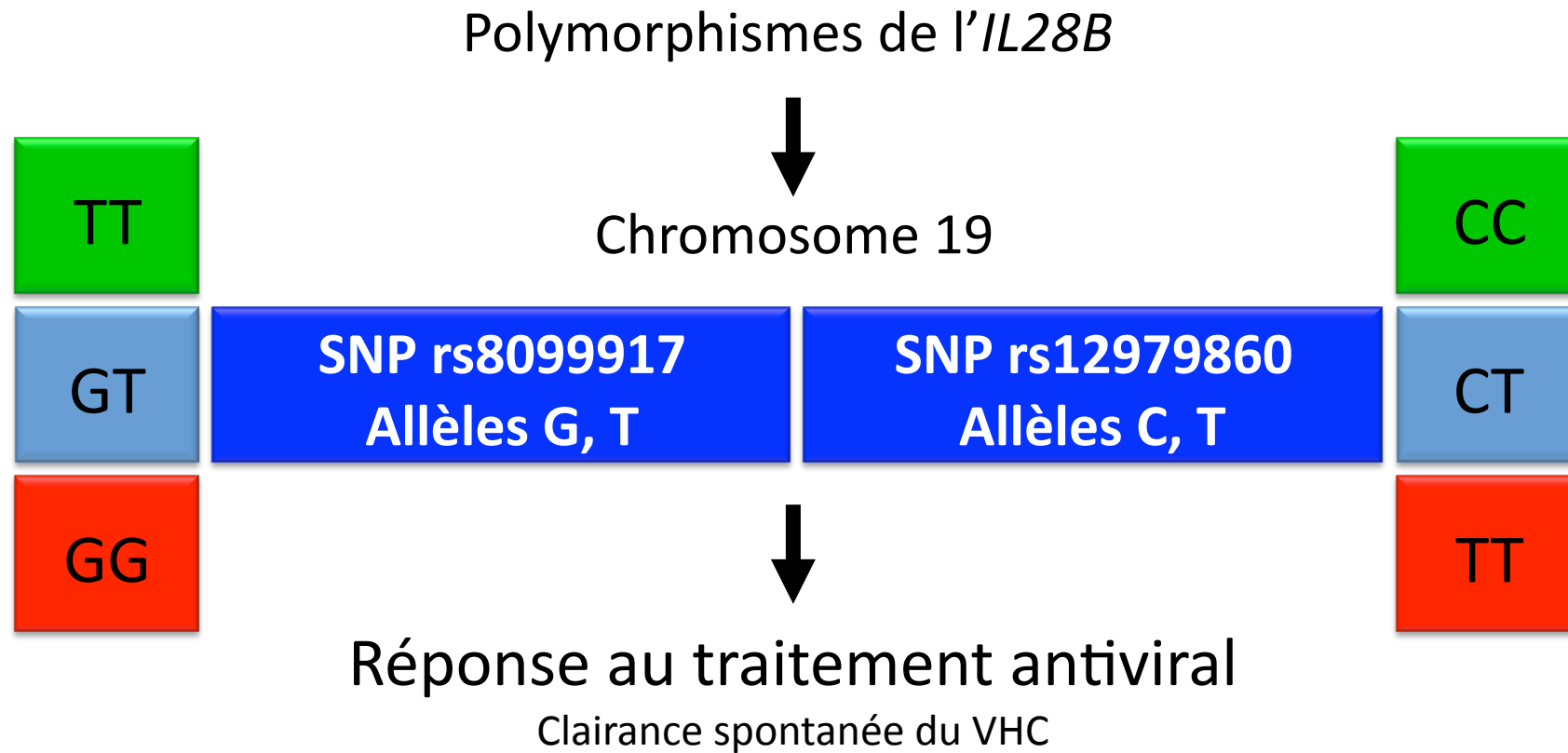
# Prédiction de la RVS

		Se (%)	Sp (%)	VPP (%)	VPN (%)
Caucasiens	CC vs non-CC	56 (52-60)	79 (76-82)	69 (65-74)	68 (65-71)
	RVR vs non RVR	25 (21-29)	<b>96 (94-97)</b>	<b>84 (77-89)</b>	59 (56-62)

# SNPs de l'IL28B Impliqués dans la Réponse au Traitement

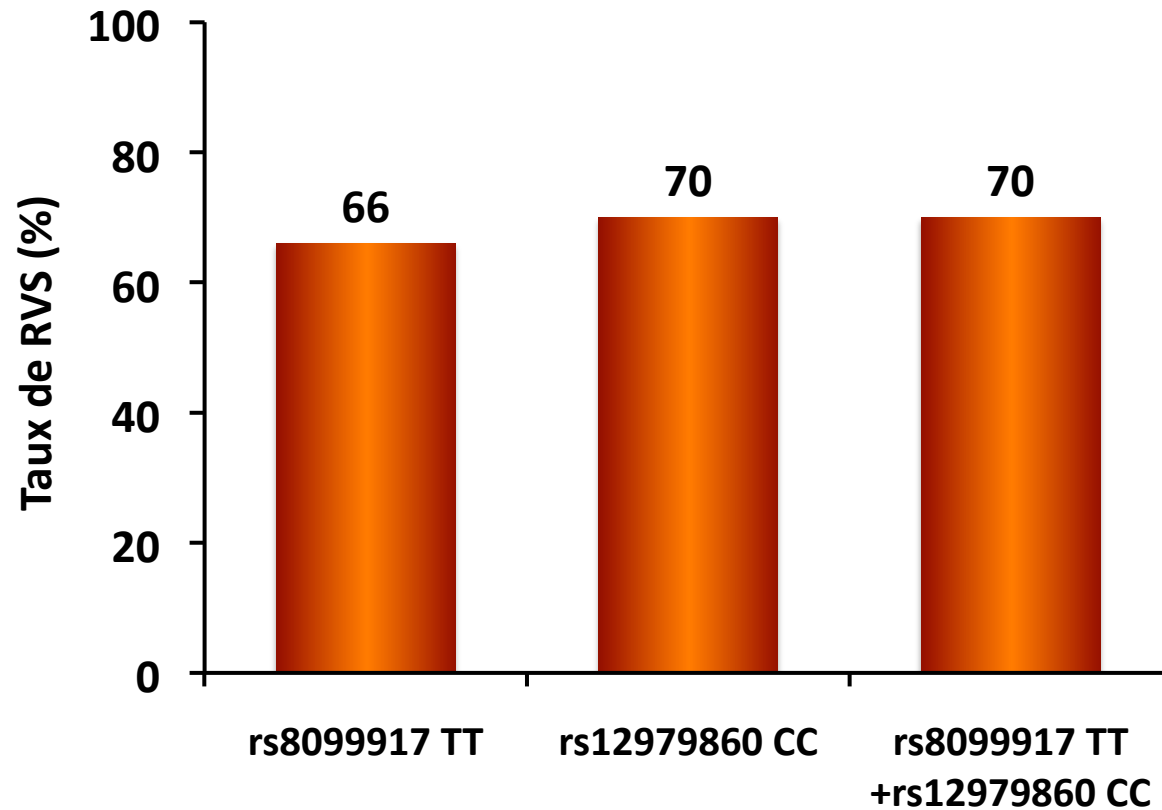
- **rs12979860** Ge et al., Nature 2009; 461: 399-401
- **rs8099917** Tanaka et al., Nat Genet 2009; 41: 1105-9
- rs12980275 “
- rs12980275 “
- rs8105790 “
- rs12980275 “
- rs11881222 “
- rs8103142 “
- rs28416813 “
- rs4803219 “
- rs7248668 “
- rs10853727 Suppiah et al., Nat Genet 2009; 41: 1100-5
- rs8109886 “

# SNPs de l'IL28B et Hépatite C





# Deux Valent Mieux qu'Un ?



# IL28B et Génotypes non-1

- **Génotypes 2/3**

- Résultats discordants

- . OR=1,6 (IC95 : 0,8-3,3), ( $p=0,18$ ; 230 patients G2/3)
    - . Patients non-RVR traités pendant 24 sem : RVS=87% (CC) vs 67% (CT) vs 29%(TT), ( $p<0,001$ ; 268 patients G2/3)
    - . Proportion de RVR : 84% (CC) vs 62%(CT) vs 56% (TT), (283 patients G3)

- **Génotype 4**

- .Taux de RVS : 88% (CC) vs 38% (non-CC), ( $p=0,001$ ; 112 patients)
  - . Taux de RVS : 82% (CC) vs 46% (CT) vs 29% (TT), ( $p<0,001$ ; 82 patients)

## IL28B et Autres Populations

- **Patients co-infectés VIH**
  - Résultats comparables aux patients mono-infectés
    - . Influence du génotype de l'*IL28B* chez les patients infectés par les génotypes 1, 4
    - . Pas d'influence du génotype de l'*IL28B* chez les patients infectés par un génotype 2 ou 3
- **Patients transplantés**
  - . Rôle du génotype de l'*IL28B* du donneur et du receveur sur les chances de succès du traitement instauré en post-transplantation

# Plan

- Introduction
- Etude d'associations pangénomiques : découverte de l'*IL28B*
- *IL28B* et réponse à la bithérapie pégylée
  - *Génotype 1*
  - *Génotype non-1*
  - *Autres populations*
- ***IL28B* et réponse à la trithérapie incluant un IP**
- *IL28B* et vitesse de progression de la fibrose
- *IL28B* et cinétiques virales
- *IL28B* et mécanismes moléculaires
- Détermination du génotype de l'*IL28B*

## IL28B et Trithérapies incluant le BOC

- **SPRINT-2**
  - Taux de RVS comparables entre les patients de génotypes CC dans les groupes BOC et bithérapie standard
  - Le génotype CC de l'IL28B était associé à une probabilité plus élevée d'obtenir une RVS que les génotypes non-CC
- **RESPOND-2**
  - Impact modeste du génotype de l'IL28B

## IL28B et Trithérapies incluant le TVR

- **ADVANCE**

- Le génotype CC de l'*IL28B* était associé à une probabilité plus élevée d'obtenir une RVS que les génotypes non-CC
- Dans les groupes TVR, les taux de RVS étaient comparables entre les patients de génotypes non-CC

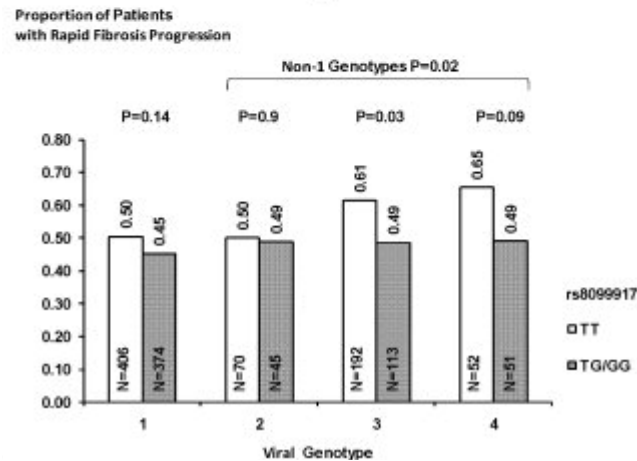
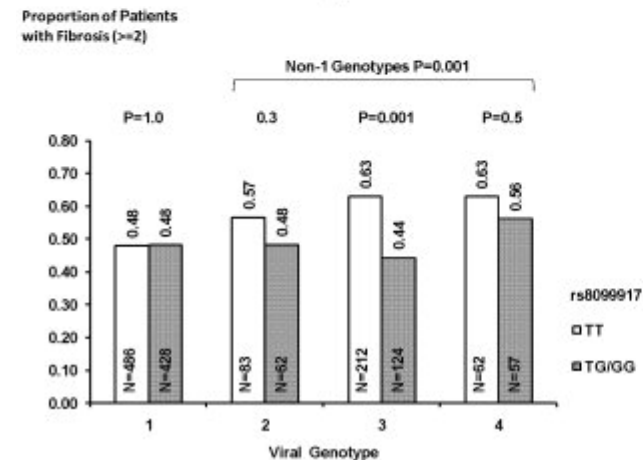
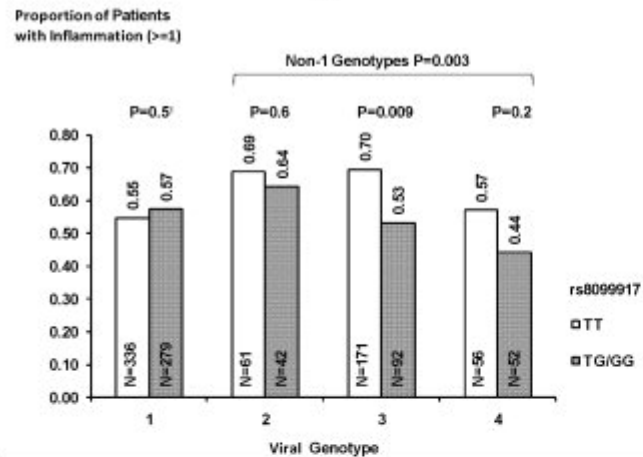
- **REALIZE**

- Aucun impact du génotype de l'*IL28B*

# Plan

- Introduction
- Etude d'associations pangénomiques : découverte de l'*IL28B*
- *IL28B* et réponse à la bithérapie pégylée
  - *Génotype 1*
  - *Génotype non-1*
  - *Autres populations*
- *IL28B* et réponse à la trithérapie incluant un IP
- ***IL28B* et vitesse de progression de la fibrose**
- *IL28B* et cinétiques virales
- *IL28B* et mécanismes moléculaires
- Quelle méthode pour déterminer du génotype de l'*IL28B* ?

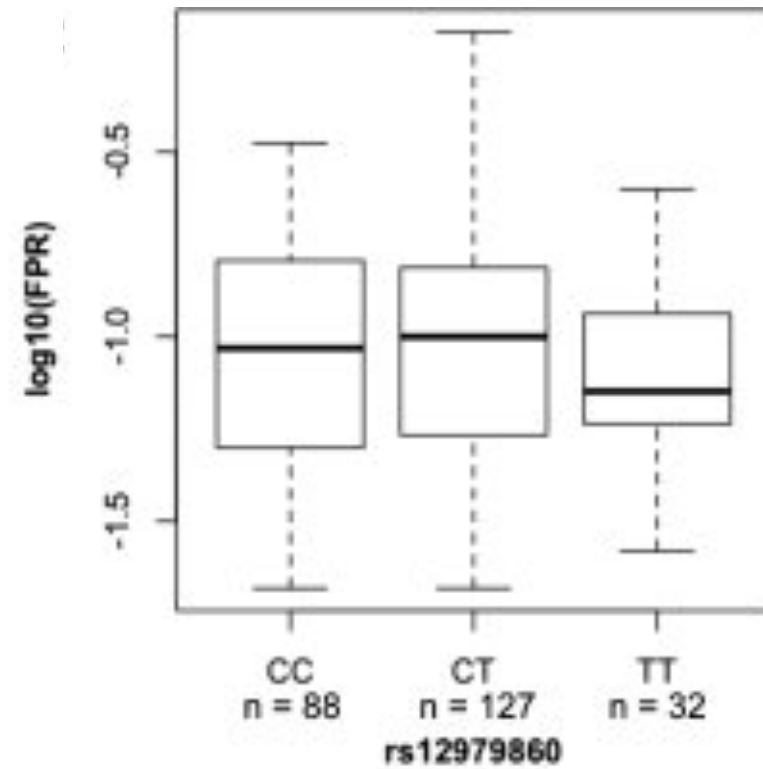
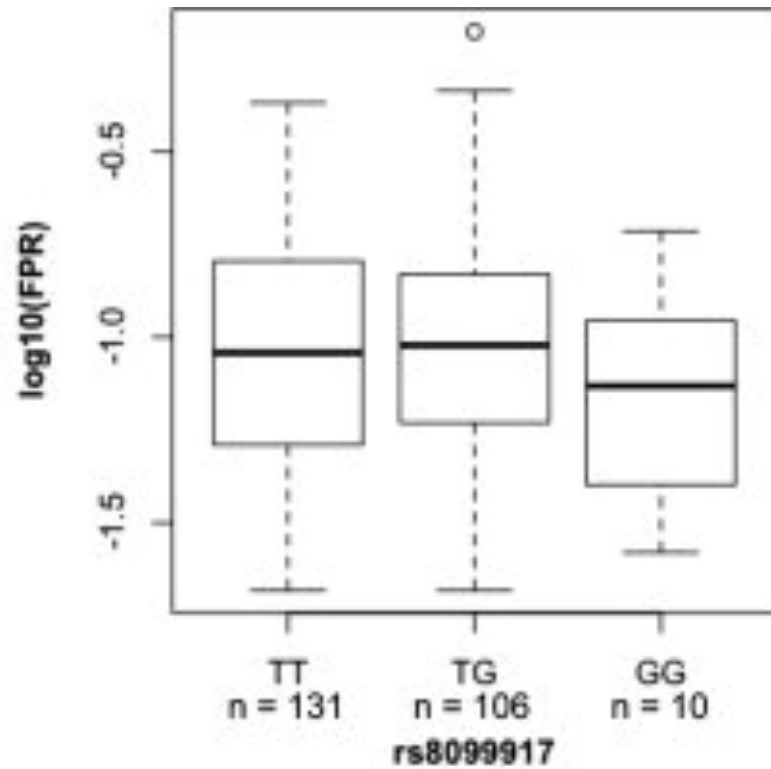
# IL28B : Inflammation et Fibrose



- **IL28B TG/GG associés à une progression lente de la fibrose essentiellement chez les génotypes non-1**



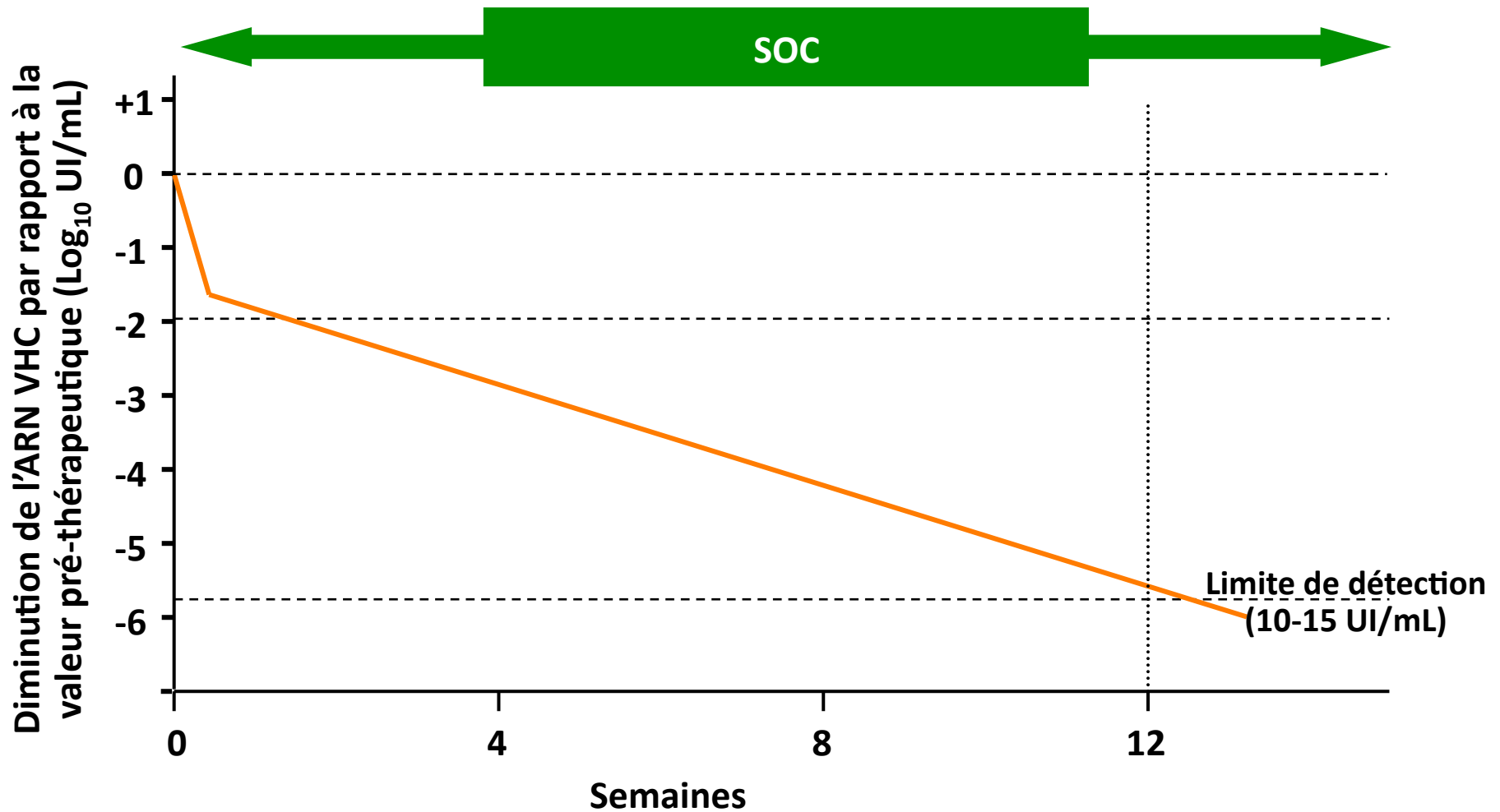
# IL28B et Progression de la Fibrose Hépatique



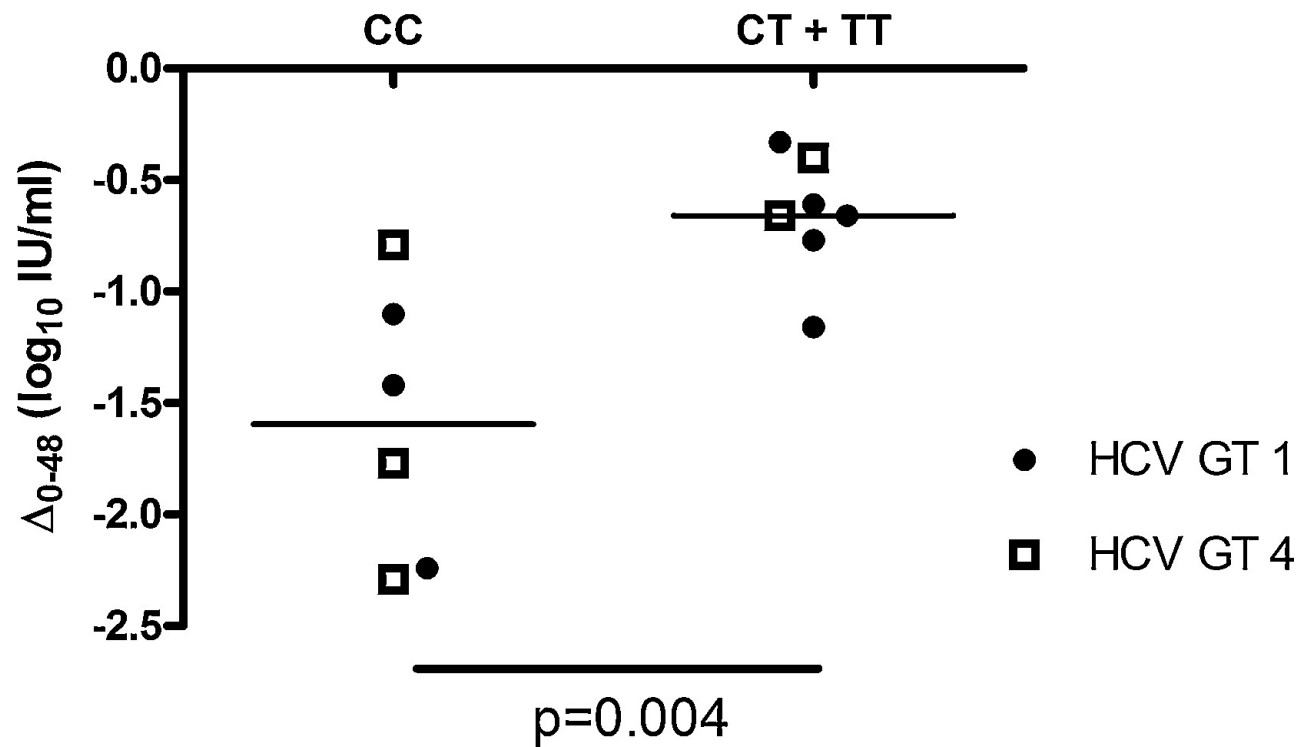
# Plan

- Introduction
- Etude d'associations pangénomiques : découverte de l'*IL28B*
- *IL28B* et réponse à la bithérapie pégylée
  - *Génotype 1*
  - *Génotype non-1*
  - *Autres populations*
- *IL28B* et réponse à la trithérapie incluant un IP
- *IL28B* et vitesse de progression de la fibrose
- ***IL28B* et cinétiques virales**
- *IL28B* et mécanismes moléculaires
- Quelle méthode pour déterminer du génotype de l'*IL28B* ?

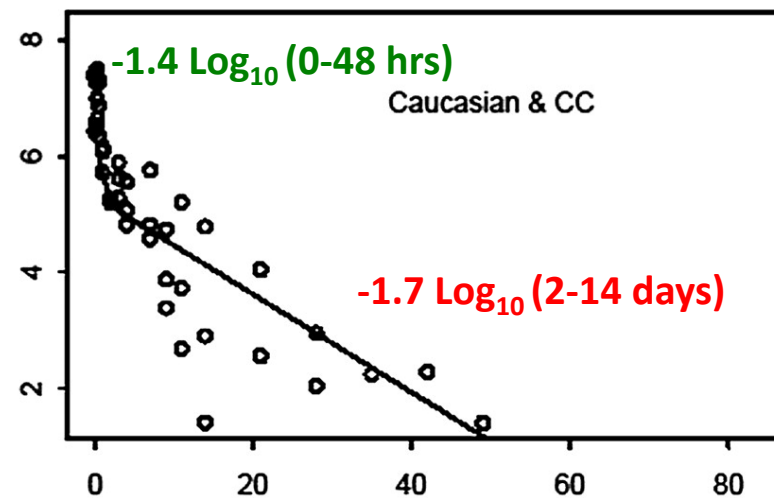
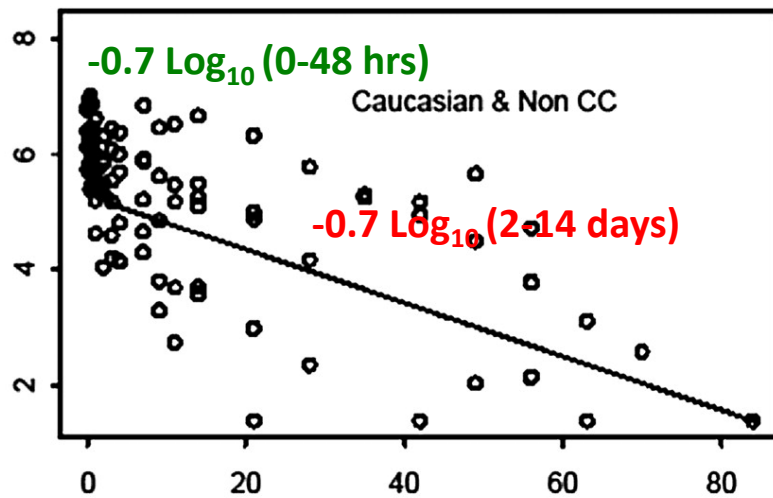
# Cinétiques Virales sous Traitement



# Effet de l'IL28B sur la 1<sup>ère</sup> Pente de Décroissance



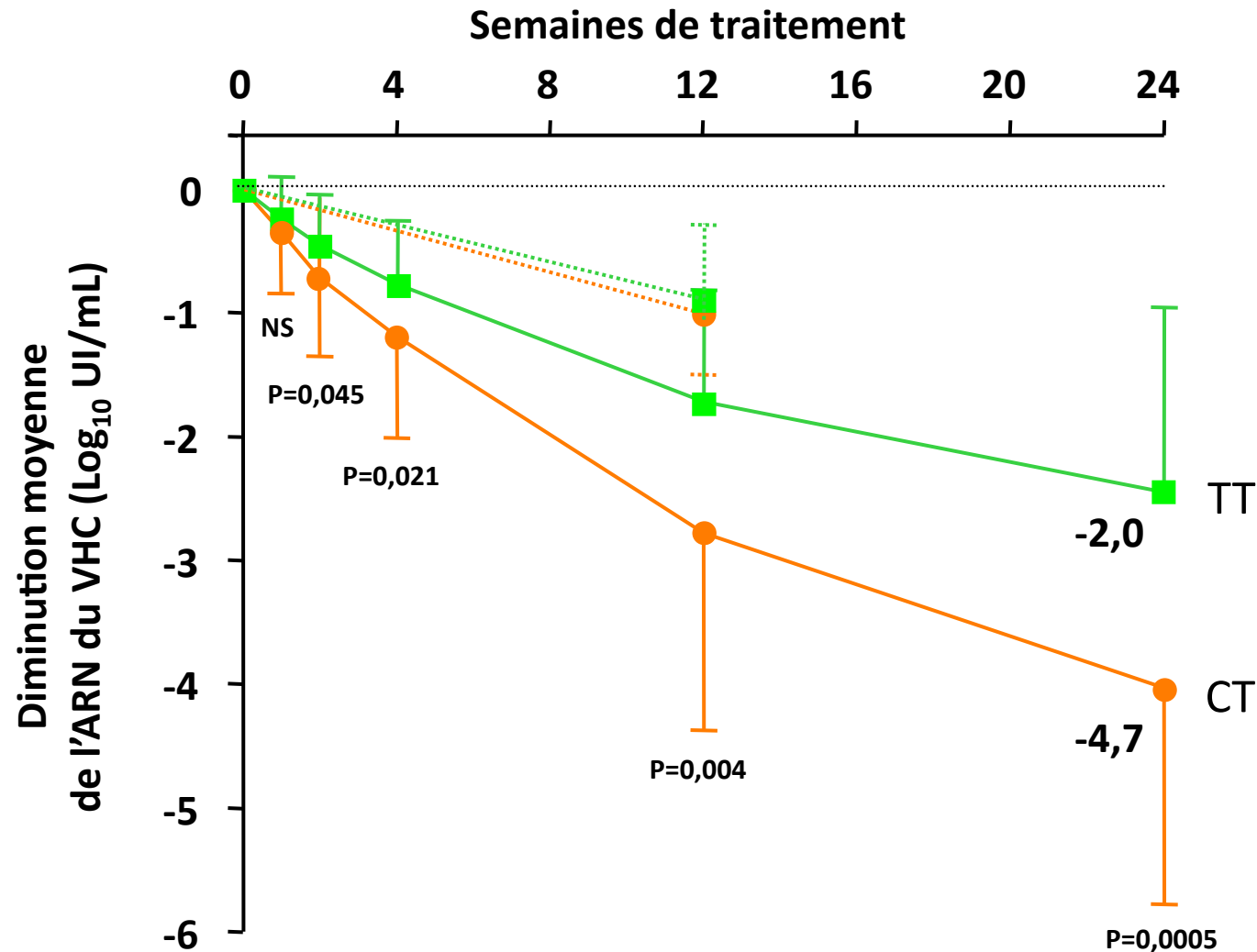
# Effet de l'IL28B sur la 1<sup>ère</sup> et la 2<sup>ème</sup> Pente de Décroissance



\* $p=0.07$

\*\* $p=0.04$

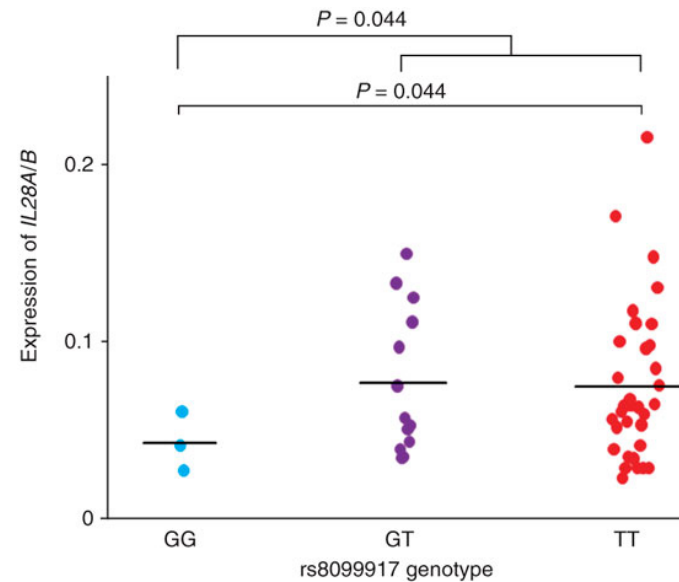
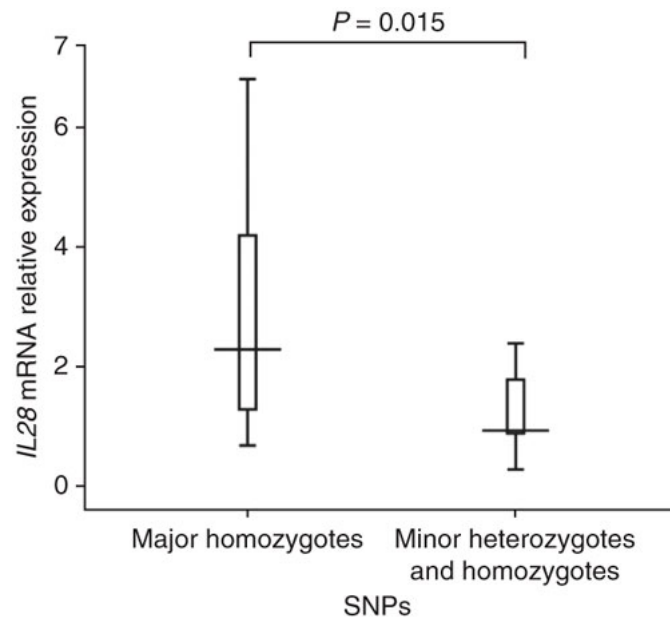
# Effet de l'IL28B sur la 2<sup>ème</sup> Pente de Décroissance



# Plan

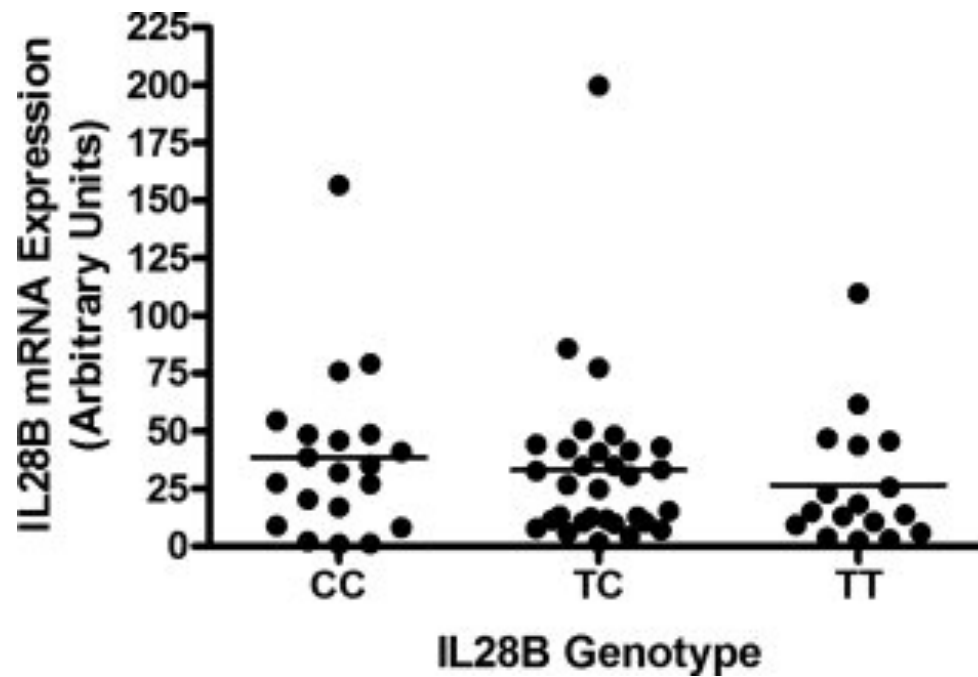
- Introduction
- Etude d'associations pangénomiques : découverte de l'*IL28B*
- *IL28B* et réponse à la bithérapie pégylée
  - *Génotype 1*
  - *Génotype non-1*
  - *Autres populations*
- *IL28B* et réponse à la trithérapie incluant un IP
- *IL28B* et vitesse de progression de la fibrose
- *IL28B* et cinétiques virales
- ***IL28B* et mécanismes moléculaires**
- Quelle méthode pour déterminer du génotype de l'*IL28B* ?

# Niveaux d'Expression de l'ARNm codant l'IL28B dans les PBMC

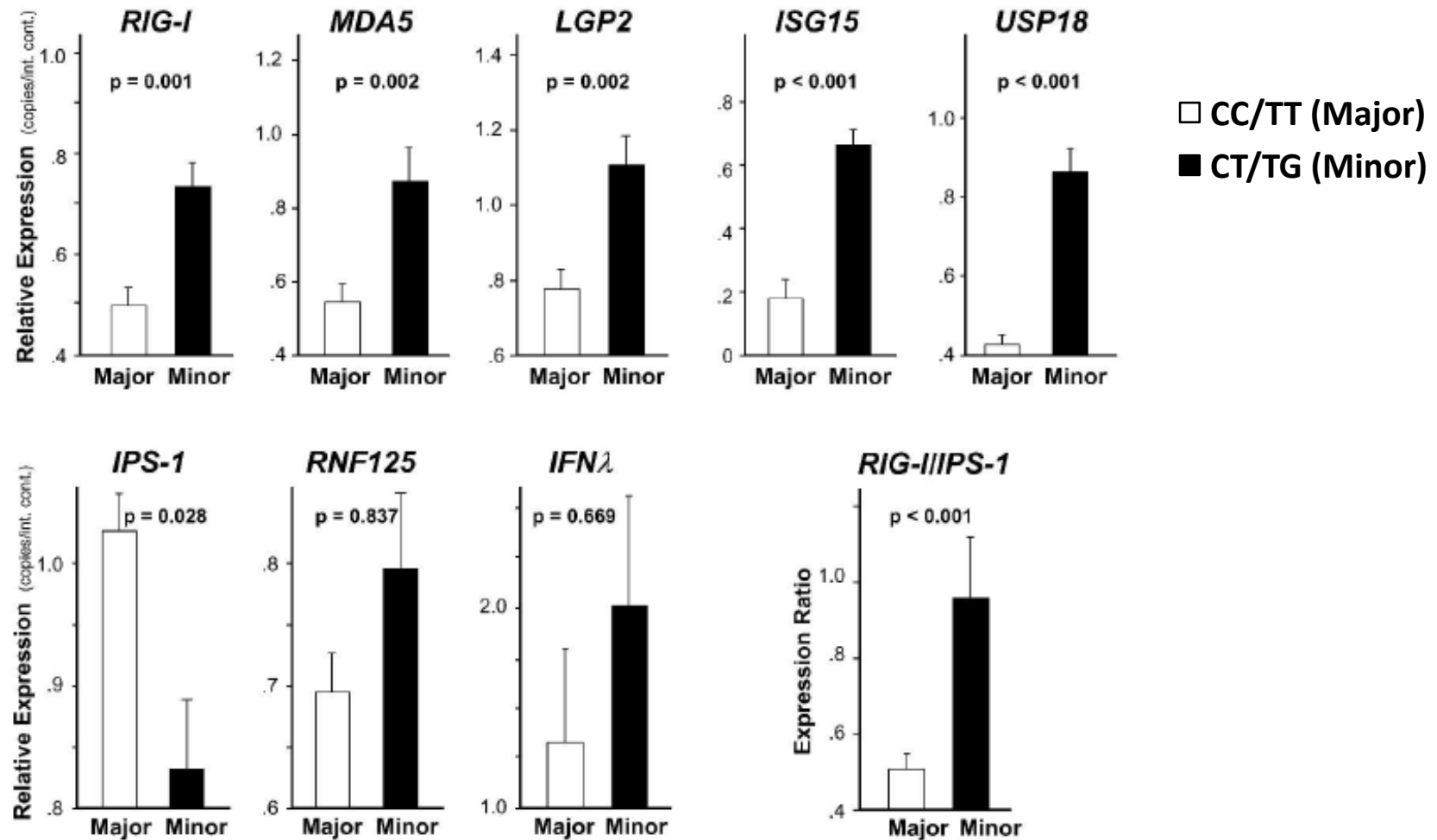




# Niveaux d'Expression de l'ARNm codant l'IL28B dans les Hépatocytes



# Niveaux d'Expression Hépatique des ISG Selon le Génotype de l'IL28B



# Plan

- Introduction
- Etude d'associations pangénomiques : découverte de l'*IL28B*
- *IL28B* et réponse à la bithérapie pégylée
  - *Génotype 1*
  - *Génotype non-1*
  - *Autres populations*
- *IL28B* et réponse à la trithérapie incluant un IP
- *IL28B* et vitesse de progression de la fibrose
- *IL28B* et cinétiques virales
- *IL28B* et mécanismes moléculaires
- **Quelle méthode pour déterminer du génotype de l'*IL28B* ?**

# Détermination du Polymorphisme de l'IL28B

- **Matrices biologiques disponibles**
  - Sang total
  - Salive
  - Sérum
  - Biopsie hépatique conservée en paraffine
- **Etudes rétrospectives et prospectives**

# Détermination du Polymorphisme de l'*IL28B* à partir de Différentes Matrices

- **30 patients non répondeurs infectés par un VHC de génotype 1 (SYREN)**
- **Matrices biologiques étudiées**
  - Sérum
  - Sang total
  - Sang total déposé sur DBS
- **Concordance des résultats**

N=30*	CC (n,%)	CT (n,%)	TT (n,%)
Sérum	2 (6,7)	20 (66,7)	6 (20,0)
Sang total	2 (6,7)	20 (66,7)	8 (26,6)
DBS	2 (6,7)	20 (66,7)	8 (26,6)

\*2 génotypes indéterminés sur sérum

## Détermination du Polymorphisme de l'*IL28B* et Réglementation

- **Tests génétiques à des fins médicales sont réglementés par le décret n°2000-570 du 23 juin 2000**
- **Consentement du patient obligatoire**
- **Nécessité d'un agrément et d'une autorisation à la pratique des analyses génétiques**

# Méthodes Moléculaires Disponibles

- **Méthodes applicables après amplification génique**
  - Séquençage
  - Digestion enzymatique (PCR-RFLP)
  - Electrophorèse
  - Techniques d'hybridation
  - Puces à ADN
  - d-HPLC
- **Nouvelle méthode**
  - Discrimination allélique TaqMan

## Méthodes Commerciales Disponibles

- **Trousse LightMix<sup>®</sup> IL28B (TIB MOLBIOL/Roche)**
  - Utilisable sur les automates de PCR en temps réel LC 1.0, 2.0, 480
  - Amplification d'un fragment de 139 pb
  - Utilisation d'une seule sonde fluorescente spécifique de l'allèle C
  - Analyse de la courbe de fusion



## Conclusions

- La découverte de facteurs génétiques impliqués dans la réponse au traitement est une avancée majeure bien que les mécanismes moléculaires qui sous-tendent ces effets ne soient pas connus
- Génotype de l'*IL28B* est le facteur pré-thérapeutique le plus puissant pour prédire la réponse au traitement
- Intégration dans des modèles à multiples facteurs afin d'optimiser les schémas thérapeutiques dans un contexte de développement de nouveaux DAA
- Simplicité des méthodes permettant la détermination des génotypes de l'*IL28B*