

# LXRepair, une nouvelle génération de tests fonctionnels pour personnaliser les traitements anticancéreux

*LXRepair:  
a new generation  
of functional tests  
to personalise anticancer  
treatment*

Robin Dumas  
Thierry Maillet  
Sylvie Sauvaigo

LXRepair  
7, parvis Louis-Néel  
38040 Grenoble cedex 9  
France  
<robin.dumas@lxrepair.com>  
<thierry.maillet@lxrepair.com>  
<sylvie.sauvaigo@lxrepair.com>

#### Remerciements et autres mentions :

**Financement** : aucun.

**Liens d'intérêts** : tous les auteurs travaillent pour LXRepair.

Tirés à part : S. Sauvaigo

## RÉSUMÉ

L'émergence de la médecine personnalisée pousse le secteur du diagnostic *in vitro* à constamment innover. Le besoin de biomarqueurs permettant de stratifier les patients et de donner le bon traitement à la bonne personne s'impose comme une stratégie gagnante en oncologie.

Les mécanismes de réparation de l'ADN jouent un rôle majeur dans la réponse des tumeurs à différents traitements anticancéreux et dans la survenue d'effets secondaires indésirables. Les outils basés sur des analyses génomiques ou transcriptomiques ne suffisent pas pour identifier des biomarqueurs pertinents permettant de prédire l'efficacité d'un traitement ou d'orienter le choix du traitement.

C'est pourquoi LXRepair s'est engagé dans la voie de la médecine personnalisée en développant une plateforme de diagnostic originale axée sur la caractérisation fonctionnelle des mécanismes enzymatiques de réparation de l'ADN. Plusieurs preuves de concept précliniques et cliniques visant à identifier des marqueurs sanguins ou tumoraux permettant d'augmenter le rapport bénéfice-risque de traitements traditionnels et de nouvelles thérapies sont en cours. Ces méthodes de stratification alternatives intégrées au système de soin doivent permettre de maîtriser les dépenses de santé tout en avançant vers une médecine personnalisée optimale.

L'identification de biomarqueurs innovants, les validations, le développement industriel, le parcours réglementaire et l'accès au remboursement pour tous, constituent autant de défis tout au long du développement d'outils diagnostiques. LXRepair les relève en mettant en place les ressources et l'écosystème nécessaires à leur succès.

● **Mots clés** : réparation de l'ADN ; biomarqueurs ; médecine personnalisée.

## ABSTRACT

*The growth of personalised medicine stimulates innovation in the in vitro diagnostics sector and encourages the industry to constantly innovate. The key to a successful therapeutic strategy is the development of biomarkers that can effectively be used to stratify patients in order to predict the effectiveness of a treatment or provide guidance regarding the treatment needed.*

*DNA repair mechanisms play a major role in the response of tumours to various anticancer treatments and the occurrence of undesirable side effects. However tools based on genomic analysis are not sufficient to identify relevant biomarkers that can guide clinicians in prescribing treatments to patients.*

*LXRepair is committed to personalised medicine and has developed a diagnostic platform focused on the functional characterisation of enzymatic DNA repair mechanisms. Several preclinical and clinical proofs of concept aimed at identifying blood or tumour markers to improve the benefit-risk*

Pour citer cet article : Dumas R, Maillet T, Sauvaigo S. LXRepair, une nouvelle génération de tests fonctionnels pour personnaliser les traitements anticancéreux. *Innov Ther Oncol* 2018 ; 4 : 270-274. doi : 10.1684/ito.2018.0138

*ratio of anticancer treatments have been initiated. Integration of these alternative stratification methods into the healthcare system will help clinicians control health expenditure while moving towards optimised personalised medicine.*

*The identification and validation of innovative biomarkers, industrial development of an in vitro diagnostic kit, regulation, and access to reimbursement for all, represent challenges throughout the development of the test. LXRepair aims to overcome these problems by putting in place all the necessary resources for the success of its diagnostic tests.*

● *Key words: DNA repair; biomarkers; personalized medicine.*

## Un constat et une ambition

Le Prix Nobel de chimie a été remis en 2015 à trois éminents chercheurs – Tomas Lindahl, Paul Modrich et Aziz Sançar – pour leur contribution à la compréhension des mécanismes moléculaires de réparation de l'ADN. Le comité Nobel a souligné que ces travaux ont apporté des connaissances fondamentales essentielles pour l'avancée vers de nouveaux traitements anticancéreux. Malgré l'importance de ces mécanismes, le développement de tests cliniques pour les caractériser et aider au développement des traitements anticancéreux reste limité.

L'ambition de la start-up LXRepair, spin-off du Commissariat à l'énergie atomique et aux énergies alternatives (CEA) créée en 2013, est de promouvoir la caractérisation des systèmes de réparation de l'ADN par le développement de tests diagnostiques adaptés pour personnaliser les traitements anticancéreux.

## La réparation de l'ADN

La réparation de l'ADN est un ensemble de mécanismes complémentaires que l'on peut répartir en plusieurs grandes voies en fonction des lésions qu'ils prennent en charge. Ils font intervenir plus de 150 protéines et enzymes. De façon très schématique, ces mécanismes sont activés en réponse à des dommages de l'ADN par des protéines du réseau *DNA damage response* (DDR). Les systèmes de réparation sont liés à différents mécanismes cellulaires fondamentaux tels la prolifération, la régulation du cycle cellulaire et la mort cellulaire programmée [1]. Ils sont, par ailleurs, sensibles au micro-environnement cellulaire et, en particulier, au stress oxydant et à l'inflammation [2]. Ces mécanismes ubiquitaires sont chargés de protéger le génome contre les agressions génotoxiques et d'assurer l'élimination de tout dommage pouvant conduire à l'apparition de mutations et d'instabilité génétique à l'origine de processus carcinogènes.

Nous ne décrivons ici que les voies principales de réparation de l'ADN. Bien que spécialisées, elles présentent certaines redondances d'activité. Leur articulation est

coordonnée [3]. Il faut également signaler que des voies minoritaires alternatives existent, notamment pour la réparation des cassures double brin (CDB) [4] :

- la réparation par excision de base (*base excision repair* [BER]) prend en charge les petites lésions essentiellement créées par le stress oxydant ou l'inflammation ;
- la réparation par excision de nucléotide (*nucleotide excision repair* [NER]) élimine les lésions volumineuses tels les dommages photo-induits et les adduits formés par certains médicaments anticancéreux ;
- la réparation des mésappariements (*mismatch repair* [MMR]) corrige notamment les infidélités de réplication ;
- deux mécanismes complémentaires sont associés pour réparer les CDB : la recombinaison homologue (*homologous recombination* [HR]) et la ligature d'extrémités non homologues (*non-homologous end joining* [NHEJ]).

Schématiquement, ce sont des enzymes, aidées par différentes protéines assurant la spécificité des réactions, qui effectuent l'élimination de l'ADN endommagé, puis des polymérases et des ligases interviennent pour synthétiser les portions d'ADN manquantes et ligaturer des extrémités de brins. Les activités de ces enzymes et des protéines de la DDR sont finement régulées par des interactions protéines-protéines et des modifications post-traductionnelles [5].

Compte tenu de la complexité de ce réseau et de la sophistication de ces régulations, l'approche génomique ne donne pas d'informations sur le phénotype cellulaire en termes de capacité de réparation, ni sur l'efficacité réelle des différentes voies. La caractérisation de ce réseau dynamique et activable requiert des outils fonctionnels spécifiques.

C'est pourquoi, pour assurer l'identification de biomarqueurs pertinents en oncologie, LXRepair a choisi de développer des tests *in vitro* basés sur un concept unique : l'identification d'une signature enzymatique de réparation de l'ADN, grâce à une approche fonctionnelle multiplexée quantitative sur biopuces.

## Réparation de l'ADN, traitements et tumeurs

Plus de la moitié des patients atteints de cancer vont recevoir un traitement destiné à endommager l'ADN des cellules tumorales (radiothérapie, chimiothérapie). L'existence de systèmes de réparation défectueux dans les cellules tumorales favoriserait la sensibilité des tumeurs à ces traitements endommageant l'ADN [6].

Cependant, selon le type de cancer, 20 à 50 % des patients présentent des résistances à ces traitements. Malgré l'importance de ces taux, il est à souligner qu'aucun test diagnostique permettant de prédire la chimio- ou radiorésistance validée en clinique n'a obtenu d'autorisation de remboursement en France à ce jour. Plusieurs tests basés sur des signatures transcriptomiques existent sans toutefois convaincre complètement de leur utilité clinique.

Le concept de létalité synthétique s'appuie sur l'inhibition d'une voie de réparation de l'ADN par un composé spécifique pour des tumeurs déjà déficientes dans un des mécanismes de réparation [7]. Il a conduit à la mise sur le marché d'inhibiteurs de l'enzyme PARP-1, impliquée dans la réparation de cassures de l'ADN. Les inhibiteurs de PARP-1 sont prescrits notamment pour des cancers de l'ovaire sensibles au cisplatine et déficients en protéines BRCA1/2 (*BRCAness*, par mutation invalidante ou défaut d'expression). La mise sur le marché de ces molécules participe à l'essor actuel de cette approche, où plusieurs cibles et stratégies thérapeutiques (combinaisons) sont explorées [8].

L'étendue du succès clinique de cette classe de médicaments dépendra de la disponibilité en biomarqueurs prédictifs de réponse qui devraient être développés, ce qui est loin d'être fait aujourd'hui.

Très récemment, la *Food and Drug Administration* (FDA) a validé pour la première fois des biomarqueurs moléculaires révélant des déficiences du MMR pour la prescription du pembrolizumab, un médicament relevant de l'immunothérapie, quel que soit le type de tumeur. Il est fort à parier que d'autres défauts de réparation concourent à l'apparition de taux de mutations élevés (générateurs de néoprotéines et expliquant la sensibilité à l'immunothérapie), sans que ces déficiences soient identifiées aujourd'hui.

On comprend qu'ainsi la génomique ait atteint ses limites et qu'une gamme plus large d'outils de stratification soit nécessaire.

## Une nécessité de rupture

Comme on le voit, il est étonnant de constater que, malgré l'importance que jouent les mécanismes de réparation de l'ADN dans l'efficacité des différentes classes de traitements anticancéreux, bien peu de biomarqueurs pronostiques ou permettant d'orienter le choix du traitement, axés sur les mécanismes de réparation de l'ADN, ont fait leur entrée en clinique.

C'est ce paradoxe que LXRepair veut renverser grâce à l'utilisation de tests fonctionnels multiplexés permettant d'informer sur le profil de réparation de l'ADN du patient ou de sa tumeur.

## La solution : les tests fonctionnels

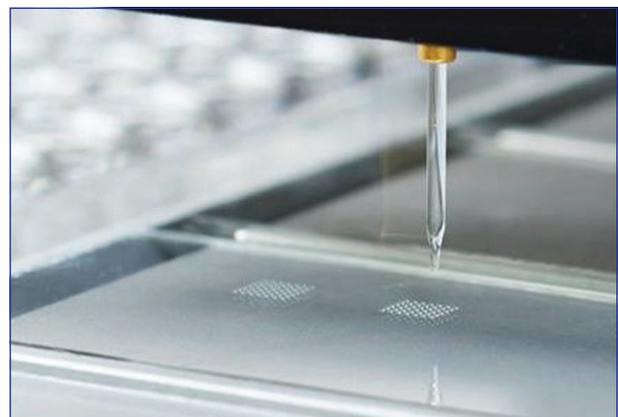
L'approche fonctionnelle est particulièrement pertinente lorsque l'on s'intéresse à des réseaux enzymatiques complexes (réparation de l'ADN, DDR, réseau de kinases) et qu'ils sont directement impliqués dans des mécanismes de résistance ou de toxicité. Les phénomènes compensatoires ou redondants ne peuvent pas être révélés par des analyses au niveau de l'ADN.

Ainsi, LXRepair positionne sa plateforme comme une alternative ou un complément à la génomique, en particulier lorsque celle-ci échoue ou que les biomarqueurs recherchés concernent directement la réparation de l'ADN. Ce faisant, LXRepair bouscule les pratiques actuelles et va à l'encontre du « tout génomique ».

## Description de la plateforme...

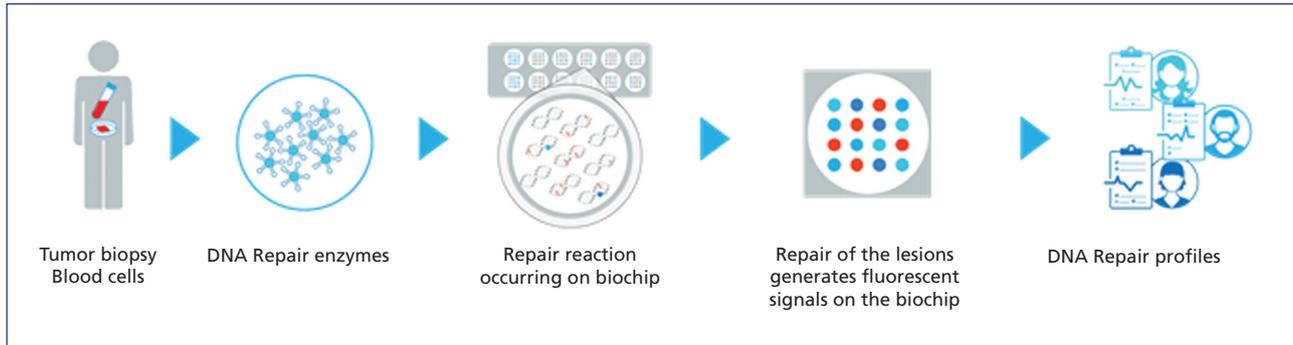
LXRepair dispose d'une plateforme intégrant trois tests, reposant en partie sur des brevets concédés sous forme de licence par le CEA.

La plateforme SPOT-LX™ est unique par son concept. Des séries de fragments d'ADN, comportant des dommages (ou lésions) spécifiques, parfaitement contrôlés, sont immobilisées sur des biopuces (*figure 1*). Des lysats, préparés



**Figure 1.** Préparation des biopuces. Des séries de substrats ADN contenant des lésions spécifiques et parfaitement contrôlées sont déposées sur des lames de verre à l'aide de robot de dépôt, formant les biopuces des tests de la plateforme SPOT-LX™.

**Figure 1.** Preparation of biochips. A series of DNA substrates containing specific and well-defined lesions is immobilized on glass slides using a robotic system to create SPOT-LX™ test biochips.



**Figure 2. Étapes de la réalisation des tests de la plateforme SPOT-LX™.** Des extraits enzymatiques sont préparés à partir des prélèvements d'intérêt (biopsies de tumeur, lymphocytes). Ils sont mis en contact avec la biopuce fonctionnalisée par les substrats ADN contenant les lésions. Les enzymes de réparation contenues dans les extraits réparent les lésions, ce qui conduit à la génération de signaux fluorescents. Ceux-ci sont quantifiés puis analysés. Leur niveau dépend des capacités des complexes enzymatiques à reconnaître et réparer les lésions. Une signature enzymatique de réparation de l'ADN hautement spécifique est ainsi établie pour chaque échantillon. Des analyses bio-informatiques permettent ensuite de stratifier les échantillons, de déterminer des classes de réponses et d'identifier des biomarqueurs pertinents en fonction de l'application visée.

**Figure 2. Workflow of the SPOT-LX™ tests.** Enzymatic extracts are prepared from relevant samples (tumour biopsies, lymphocytes). They are then put into contact with a biochip functionalized by a DNA substrates that contain lesions. The repair enzymes within the extracts repair the lesions, which leads to the generation of fluorescent signals. The fluorescent signals are then quantified and analysed. The signals level depends on the capacity of enzymatic complexes to recognise and repair lesions. A highly specific enzymatic DNA repair signature is thus established for each sample. Bioinformatic analyses then enable the samples to be stratified, to determine classes of responses and to identify relevant biomarkers.

à partir des prélèvements d'intérêt (cellules sanguines, biopsies) réagissent sur ces biopuces et réparent les lésions présentes. La réparation modifie les signaux de fluorescence émis par les substrats contenant les lésions. L'ensemble des signaux constitue une signature qui reflète les capacités de réparation des échantillons.

La réparation de l'ensemble des dommages renseigne sur les capacités de réparation d'enzymes différentes, permettant d'avoir une vision à la fois globale et spécifique du réseau de réparation de l'ADN (*figure 2*).

La plateforme comporte trois tests génériques complémentaires :

- Glyco-SPOT, commercialisé sous forme de kit de réactifs pour la recherche par notre partenaire Bertin Technologies, quantifie les activités des glycosylases/apurinic/apyrimidinic (AP) endonucléases ;
- ExSy-SPOT est un test très multivalent, qui quantifie les mécanismes majeurs d'excision/resynthèse, définit les propriétés des polymérases impliquées dans les réactions, ou caractérise les capacités d'excision des lésions ;
- NEXT-SPOT permet d'étudier l'équilibre entre la RH et la NHEJ, et est en cours de validation.

Un scanner et des outils bio-informatiques complètent la plateforme.

## ... et de ses atouts

L'approche multiplexée permet de quantifier plusieurs activités de réparation simultanément et de

comparer leur niveau relatif d'efficacité. L'ensemble du réseau et sa modulation par divers agents sont donc finement caractérisés. Cela confère de la puissance aux tests et augmente le niveau d'information obtenu. Les tests fournissent une caractérisation en temps réel du fonctionnement du réseau de façon claire pour être facilement interprétable par l'équipe médicale.

LXRepair a également pour objectifs de limiter l'impact des tests sur les patients en ne prélevant qu'une faible quantité de matériel biologique (sang ou biopsie).

Par ailleurs, la miniaturisation des tests permettra à la plateforme une intégration fluide et économiquement intéressante dans les laboratoires de biologie médicale.

## L'intégration dans la chaîne de valeur du médicament

LXRepair a mis en place une offre de service aux sociétés pharmaceutiques. En effet, les tests LXRepair peuvent les aider, dans les phases précliniques, à développer des molécules plus spécifiques et plus efficaces, à mieux comprendre leurs mécanismes d'action, et à identifier des marqueurs transférables en clinique.

Les collaborations avec les sociétés pharmaceutiques sont une opportunité pour améliorer les performances des tests et sont importantes pour identifier les applications prioritaires pour lesquelles il existe un besoin de diagnostic compagnon.

## Un écosystème et des partenariats indispensables

Un ancrage fort dans l'écosystème médical est nécessaire pour obtenir l'adhésion des cliniciens et faire accepter l'innovation.

Grâce à l'engagement d'équipes hospitalières motivées, LXRepair développe son programme de validation de biomarqueurs cliniques qui vise à améliorer significativement le rapport efficacité-toxicité pour des traitements conventionnels. Le test RADLX a pour objectif de prédire la radiotoxicité sur des prélèvements de sang. Le projet ChemRadAssay vise à identifier des marqueurs précoces de radio-chimiorésistance à partir de biopsies de patients atteints de cancers de la tête et du cou.

Par ailleurs, LXRepair propose une méthode de stratification des mélanomes métastatiques (MELX), pour lesquels le besoin de biomarqueurs permettant de choisir la meilleure option thérapeutique est crucial.

Des dispositifs d'aide du ministère de la Recherche, de BPI France, de la région, ou encore du pôle de compétitivité Lyonbiopole et du Cancéropôle CLARA, accompagnent LXRepair depuis sa création.

Une levée de fond réalisée en 2017 auprès de différents investisseurs (Kreaxi, Supernova Invest, Xpand Investment, les Business Angels de Grenoble et Savoie-Mont-Blanc, le fond Gentiane et des investisseurs privés) a permis d'accélérer la structuration de l'équipe et la consolidation des projets d'industrialisation.

## Des défis de taille au sein d'une structure grandissante

La mise sur le marché d'un test diagnostique approuvé et remboursé accessible par tous est un chemin long et rempli de défis. Depuis 2013, LXRepair a effectué d'énormes avancées sur l'élaboration d'une plateforme technologique, adaptée à différentes applications en oncologie, et simple d'utilisation. L'équipe pluridisciplinaire, forte de ses compétences scientifiques, techniques et réglementaires, souhaite faire de LXRepair un exemple de l'innovation médicale française. L'insertion dans l'écosystème du secteur du diagnostic *in vitro* (**encadré 1**) est un élément primordial pour le succès de la start-up, afin d'accélérer l'adoption de ses tests de rupture par le milieu médical.

### RÉFÉRENCES

1. Roos WP, Kaina B. DNA damage-induced cell death: from specific DNA lesions to the DNA damage response and apoptosis. *Cancer Lett* 2013 ; 332 : 237-48.
2. Kidane D, Chae WJ, Czocho J, et al. Interplay between DNA repair and inflammation, and the link to cancer. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 2014 ; 49 : 116-39.

### Encadré 1

#### Le diagnostic *in vitro* : une approche centrée sur le patient et l'équipe médicale

Les tests de diagnostic *in vitro* (DIV) accompagnent 70 % [1] des traitements. Cependant, leur valeur ajoutée n'est pas facilement appréhendée. En cancérologie, malgré les campagnes de sensibilisation dans le cadre du dépistage précoce de certains cancers, ces produits de santé sont peu connus du grand public. Afin d'assurer la sécurité des patients, la mise sur le marché d'un test diagnostique se fait au terme d'un processus de développement et d'un parcours réglementaire rigoureux encadrés par le processus de marquage CE. L'accès au remboursement assure la diffusion de l'innovation à tous les patients qui en ont besoin.

La découverte de nouveaux biomarqueurs a permis le développement d'outils de diagnostic au service de la médecine personnalisée. Ces tests aident la prise de décision thérapeutique pour donner « le bon traitement à la bonne personne » dans l'objectif de garantir l'efficacité optimale d'un médicament tout en diminuant ses effets secondaires. Les tests doivent donc fournir une information claire, facilement interprétable par le médecin, et conduire à une prise de décision sûre et adaptée à chaque patient.

Dans un contexte où le patient se veut de plus en plus acteur de sa santé, les tests diagnostiques aident le patient à mieux comprendre le profil de sa maladie. Ils s'insèrent dans une démarche visant à favoriser son bien-être et à améliorer son expérience de prise en charge lors du traitement de sa maladie.

Ils jouent donc un rôle global dans le parcours de soin, pour la satisfaction du médecin et du patient, et participent à la maîtrise des dépenses de santé.

1. Livre blanc du syndicat de l'industrie du diagnostic *in vitro* (SIDIV) à l'adresse <https://www.calameo.com/read/002096819f284fabd3094?authid=ZF7EtFBgyx4C>.

3. Limpose KL, Corbett AH, Doetsch PW. BERING the burden of damage: pathway crosstalk and posttranslational modification of base excision repair proteins regulate DNA damage management. *DNA Repair* 2017 ; 56 : 51-64.
4. Sung P. Introduction to the thematic minireview series: DNA double-strand break repair and pathway choice. *J Biol Chem* 2018 ; 293 : 10500-1.
5. Sirbu BM, Cortez D. DNA damage response: three levels of DNA repair regulation. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2013 ; 5 : a012724.
6. Ceccaldi R, Rondinelli B, D'Andrea AD. Repair pathway choices and consequences at double strand break. *Trends Cell Biol* 2016 ; 26 : 52-64.
7. Lord CJ, Ashworth A. PARP inhibitors: synthetic lethality in the clinic. *Science* 2017 ; 355 : 1152-8.
8. Brown JS, O'Carrigan B, Jackson SP, et al. Targeting DNA repair in cancer: beyond PARP inhibitors. *Cancer Discov* 2017 ; 7 : 20637.