



11-13
SEPT.
2024

LILLE
GRAND PALAIS

CONGRÈS FRANÇAIS d'HÉMOSTASE



Nanobodies bispécifiques et maladie de Willebrand

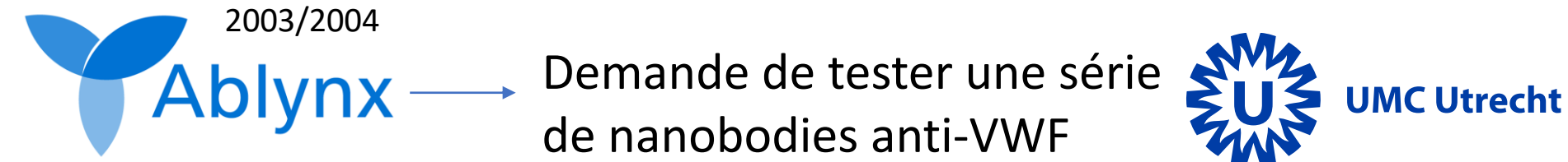
Peter LENTING

Inserm U.1176, Le Kremlin-Bicetre, France



FACULTÉ DE
MÉDECINE

Nanobodies anti-VWF : comment cela a commencé ?



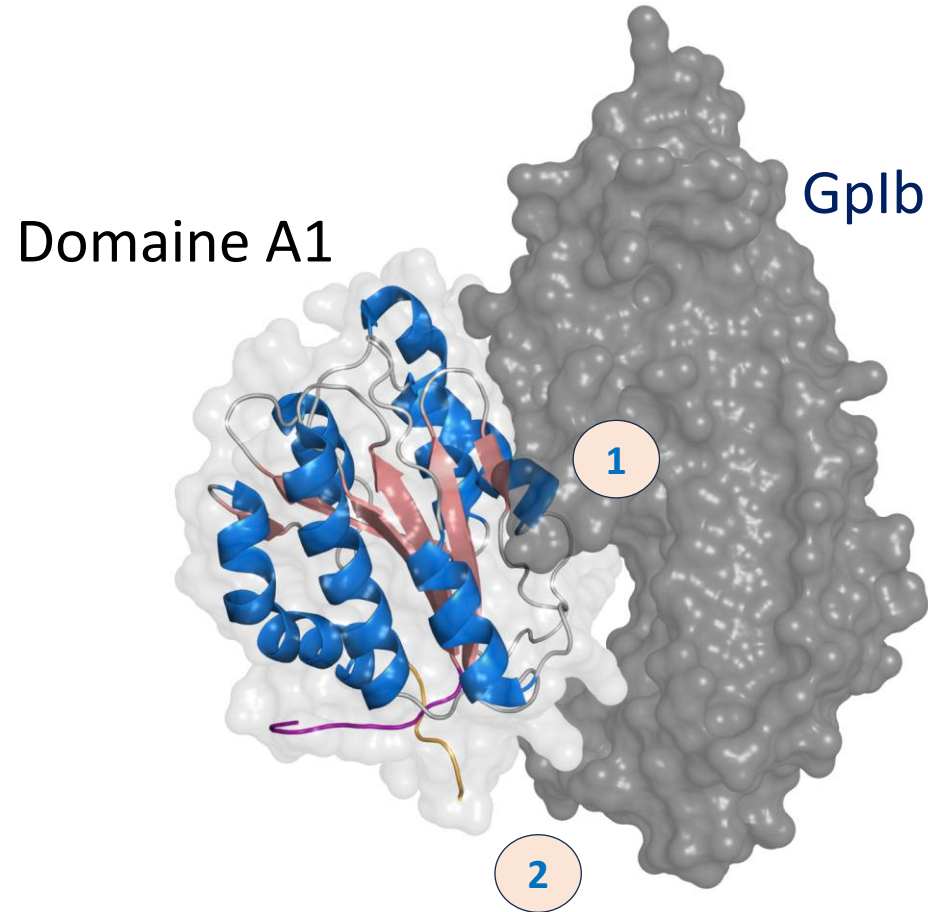
Objectif : développer des nanobodies inhibiteurs à des fins thérapeutiques.

Développement du caplacizumab pour le traitement du purpura thrombocytopénique thrombotique
(*i.e.* un nanobody qui interfère avec les interactions VWF-plaquettes)

Premier nanobody bivalent approuvé pour une utilisation clinique

Mode d'action du caplacizumab: 1. comment la Gplb se lie au VWF

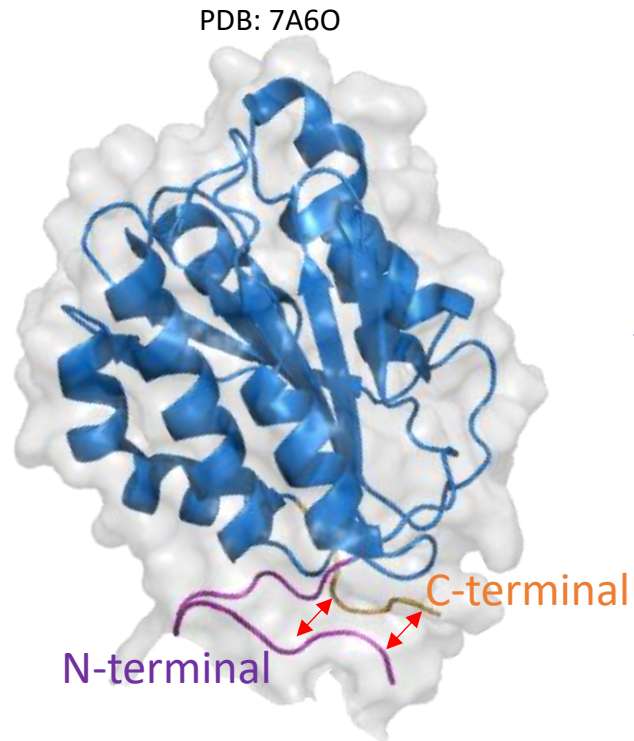
2 sites d'interaction



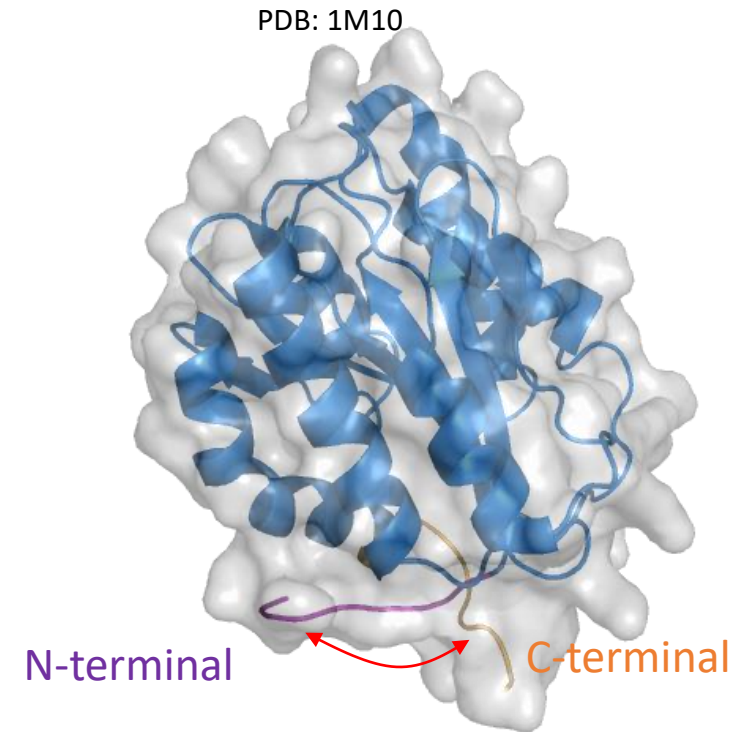
PDB: 1M10

Mode d'action du caplacizumab: 1. comment la Gplb se lie au VWF

L'accès de la Gplb au site 2 est contrôlé par des peptides latéraux



Les peptides N- et C-terminaux sont associés et bloquent l'accès au site 2: **pas de liaison Gplb**

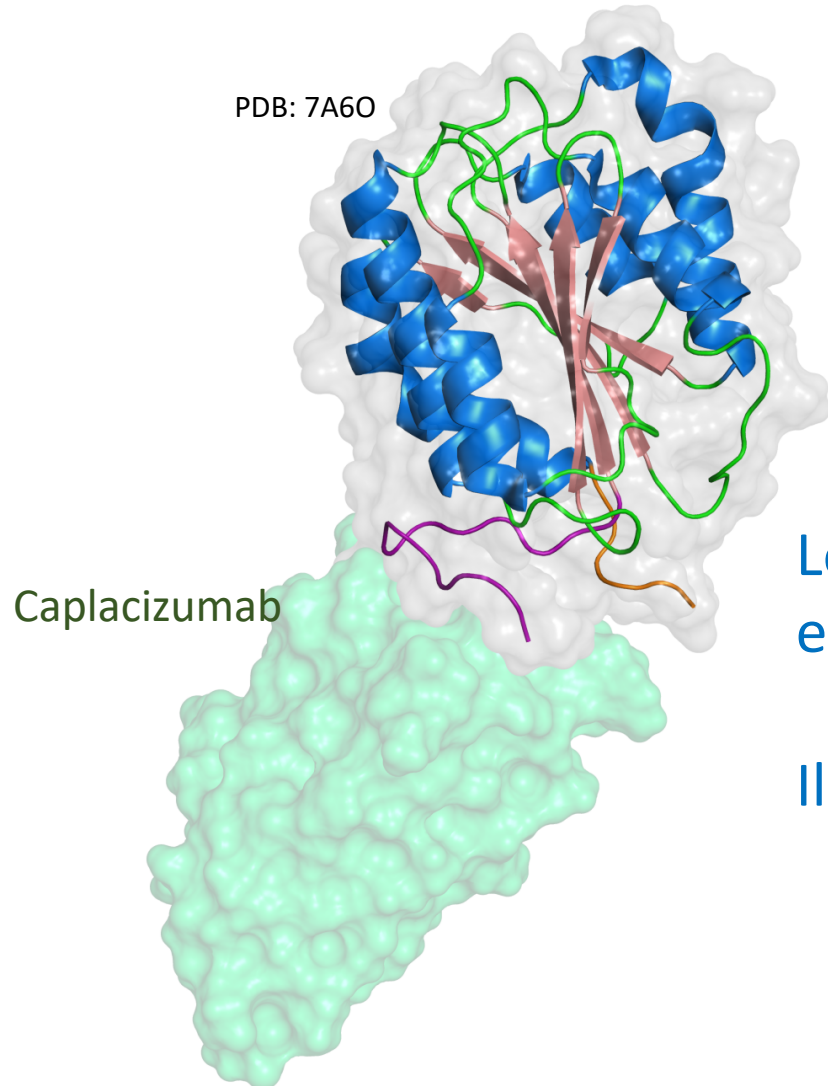


Les peptides N- et C-terminaux se dissocient sous l'effet des forces de cisaillement, ce qui permet à la **Gplb d'accéder au site 2**

Mode d'action du caplacizumab:

2. le caplacizumab inhibe la dissociation des peptides latéraux

PDB: 7A60



Le caplacizumab se lie aux peptides N- et C-terminaux et empêche leur dissociation sous l'effet des forces de cisaillement.

Il empêche ainsi la GpIb de se lier au VWF

Avance rapide de 20 ans



UMC Utrecht

2003-2007



2014-2024



Inserm

La science pour la santé
From science to health

Name	Target	Ref
AU-VWF-a11 AU-VWF-a12	VWF actif	Hulstein <i>et al.</i> Blood 2005
KB-VWF-06bv	Inhibe le VWF/GpIb murin et humain	Aymé <i>et al.</i> ATVB 2017
KB-VWF-D3.1	Se lie au VWF intact	Kizlik-Masson <i>et al.</i> Blood 2023
KB-VWF-F1.1	Se lie au VWF dégradé par l'ADAMTS13	Kizlik-Masson <i>et al.</i> Blood 2023
FVIII-KB013bv	Hémophilie A	Muczynski <i>et al.</i> Blood 2018
KB-V13A12	VWD-type 1	Casari <i>et al.</i> Blood Adv 2023
KB-V80A12	Hémophilie A mineure/modérée	Non publié

VWD-type 1

- Déficit quantitatif en VWF (< 30-50%)
- Mutation du VWF dans > 80% des cas
- Saignements des muqueuses; corrélation inverse avec les taux de VWF
- Souvent caractérisée par des saignements "mineurs" plus ou moins fréquents
- Réduction de la qualité de vie (en particulier pour les filles/femmes)
- La prophylaxie est rare

VWD-type 1: nouvelle approche thérapeutique

Si une option de traitement "simple" (par exemple : une ou deux fois par mois par voie sous-cutanée) était disponible, cela pourrait-il réduire la barrière à l'instauration d'un traitement prophylactique pour ces patients ?

- Cela améliorerait la qualité de vie mentale et physique de ces patients.
- Elle répondra aux attentes des patients qui réclament des options de traitement sous-cutané.



Notre approche:

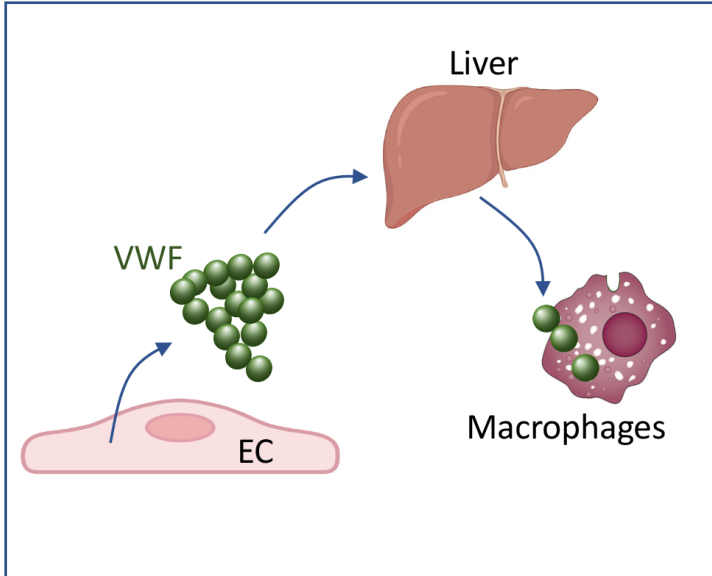
Utiliser le VWF du patient : il est fonctionnel, mais il est trop peu abondant.

Nanobody bispécifique KB-V13A12

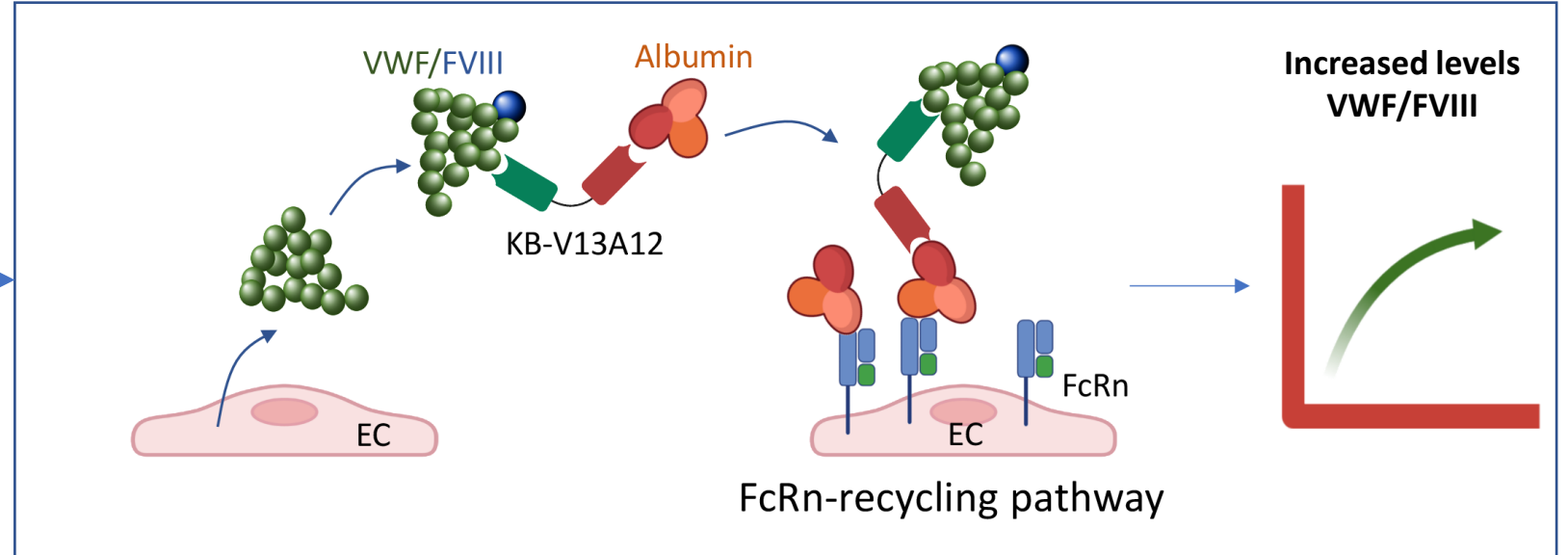
KB-V13A12

Anti-VWF   Anti-Albumine

*Clairance normale du VWF
médiée par le foie*

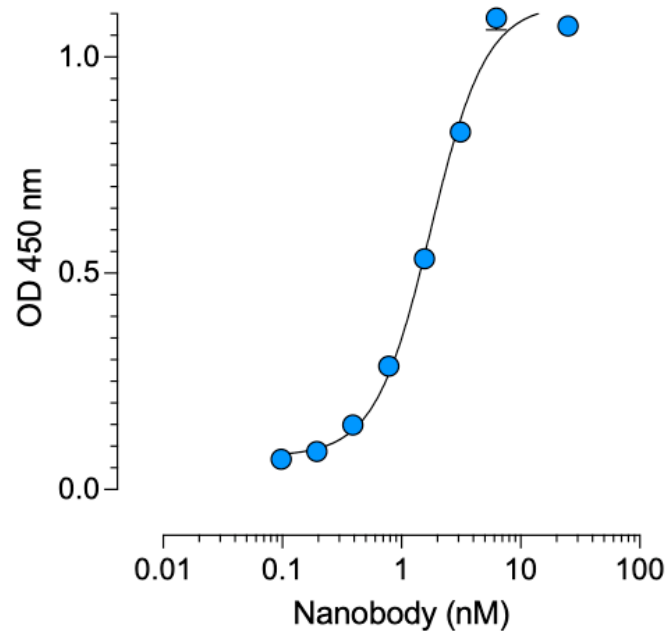
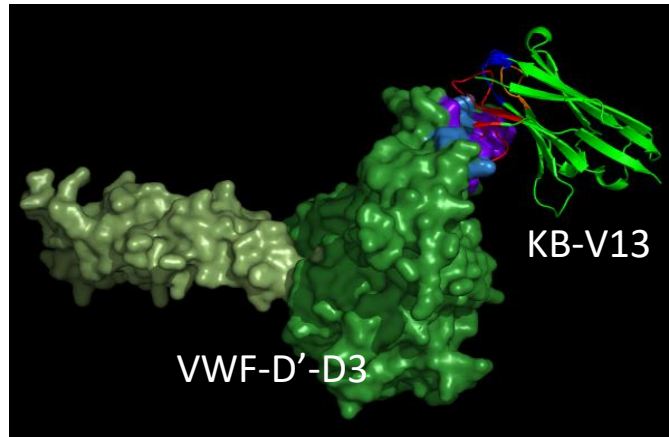


*Création d'un lien moléculaire entre le VWF et l'albumine
afin de retarder la clairance du VWF*



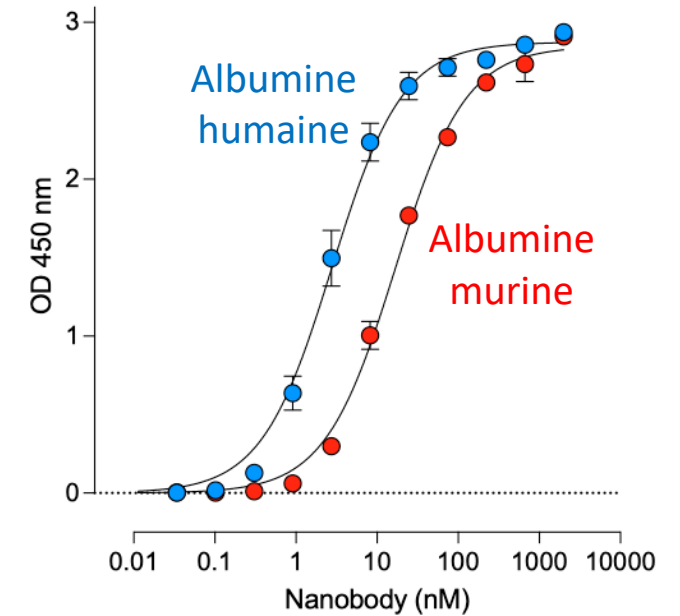
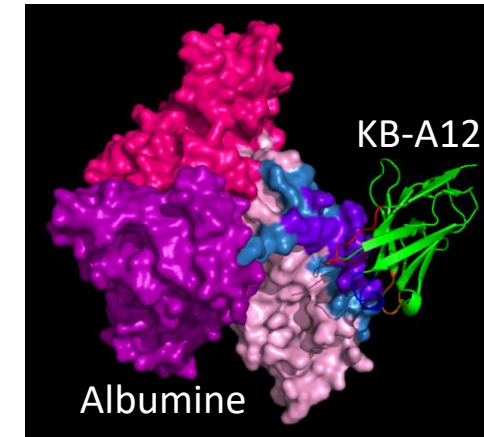
KB-V13A12

Anti-VWF

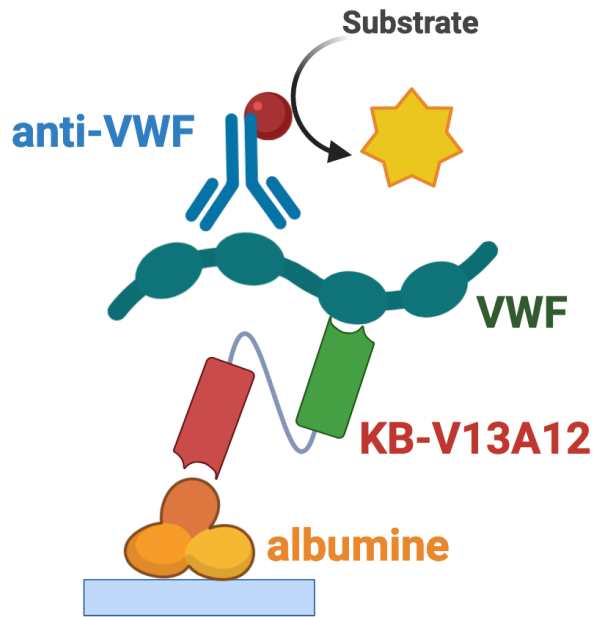


Liaison à haute affinité
avec le VWF et l'albumine

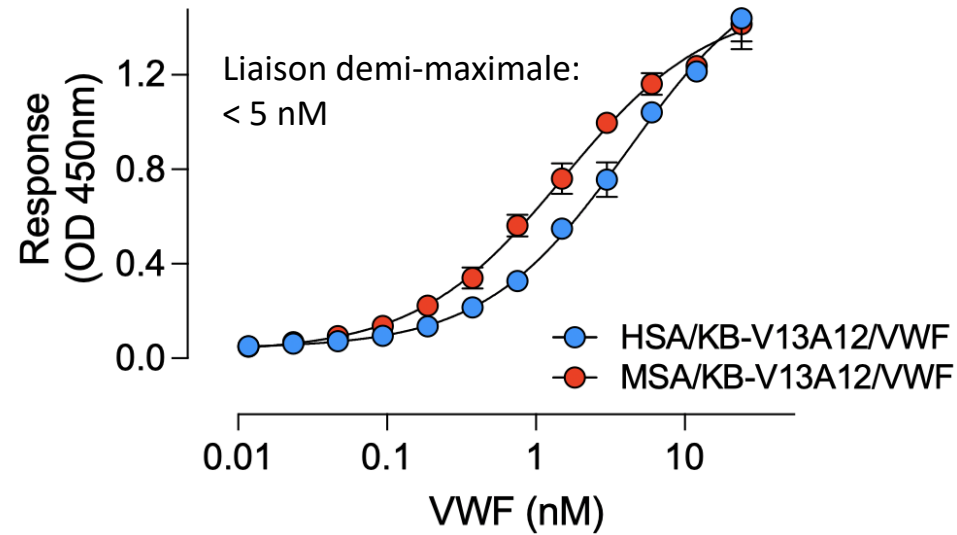
Anti-Albumine



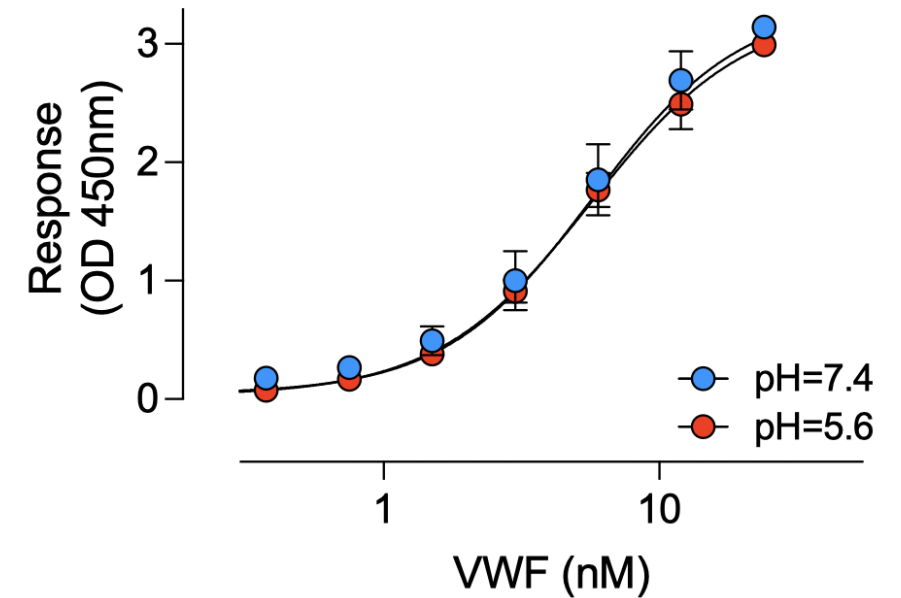
KB-V13A12: liaison entre VWF et albumine



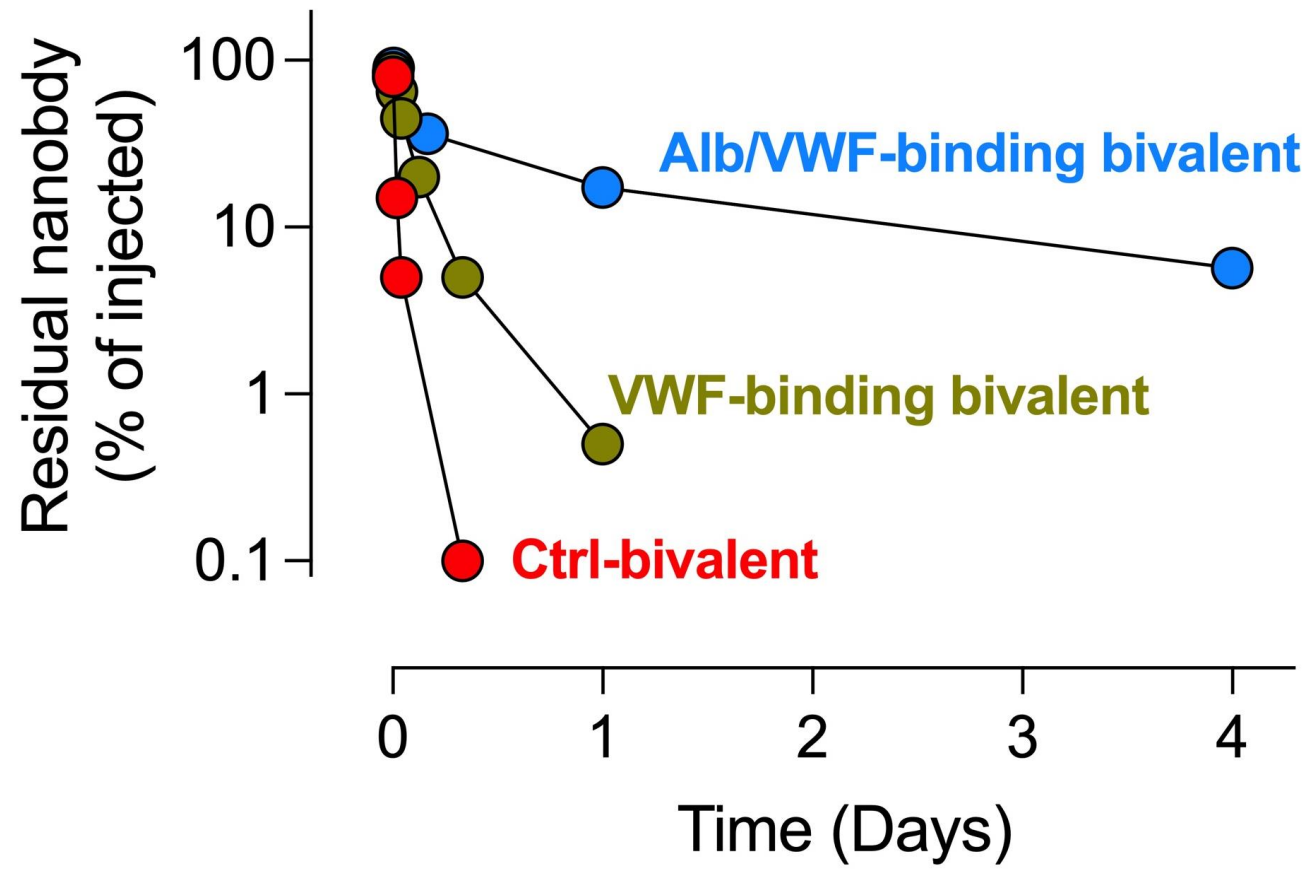
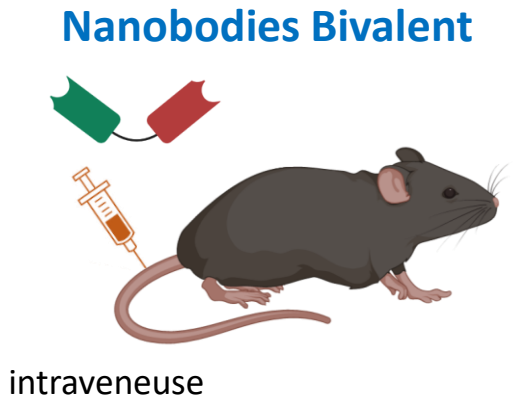
KB-V13A12 relie le VWF humain à l'albumine humaine et murine



Le complexe VWF/Albumine reste stable à faible pH

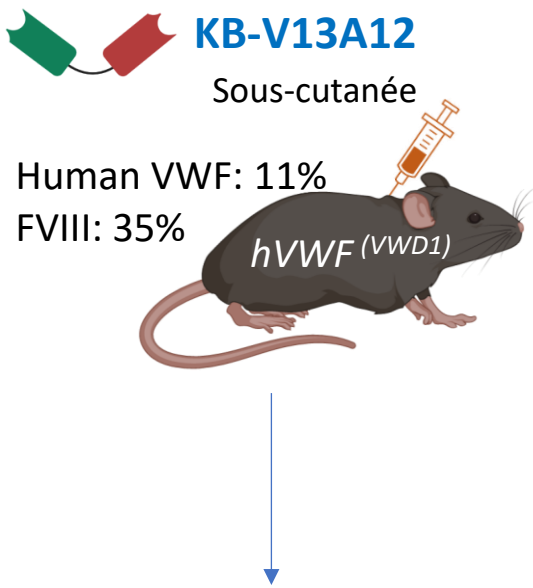


Survie des nanobodies dans les souris

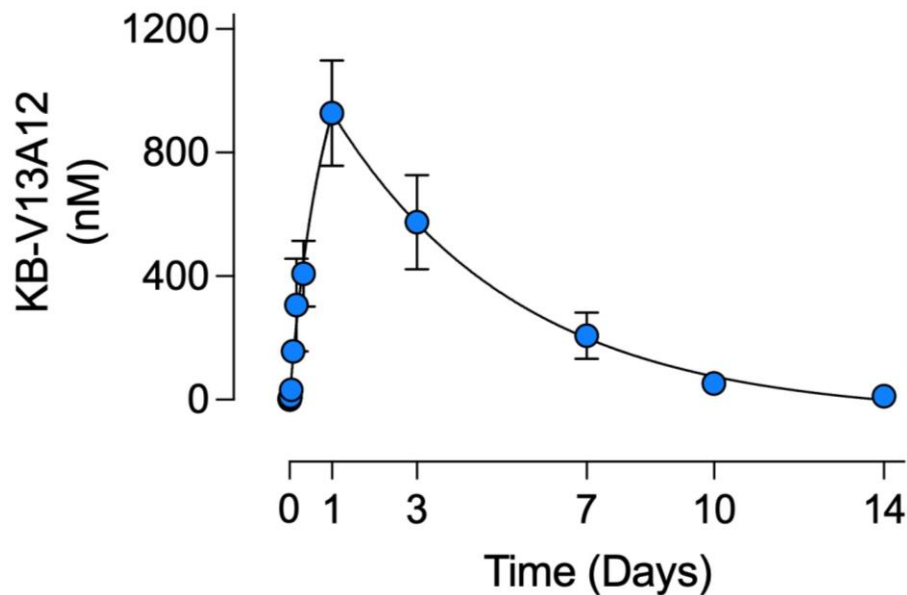


Les nanobodies se liant à l'albumine ont une demi-vie prolongée

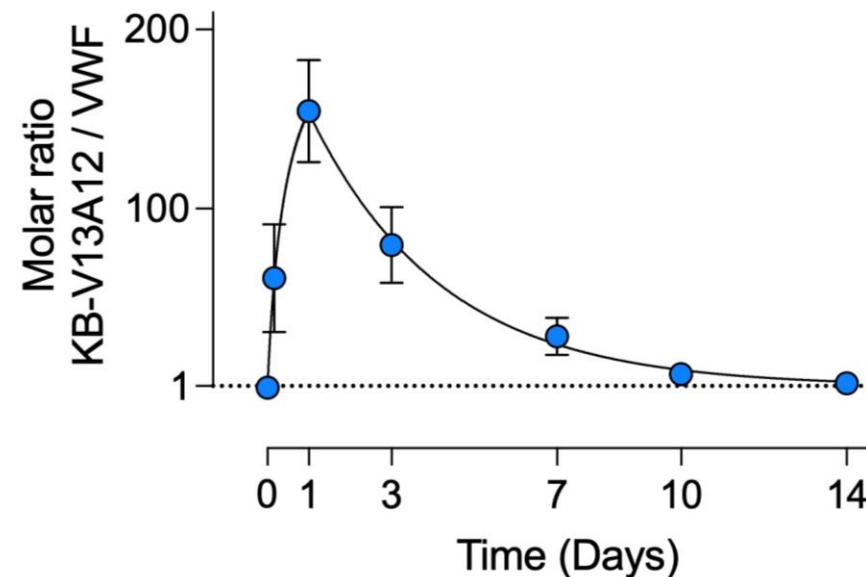
KB-V13A12 reste en circulation pendant au moins dix jours



Survie de KB-V13A12



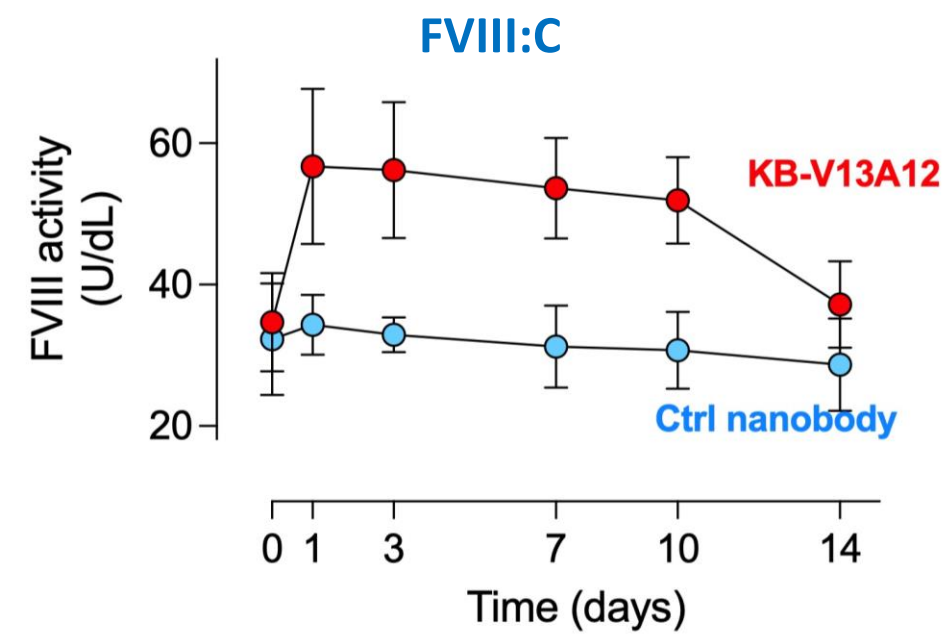
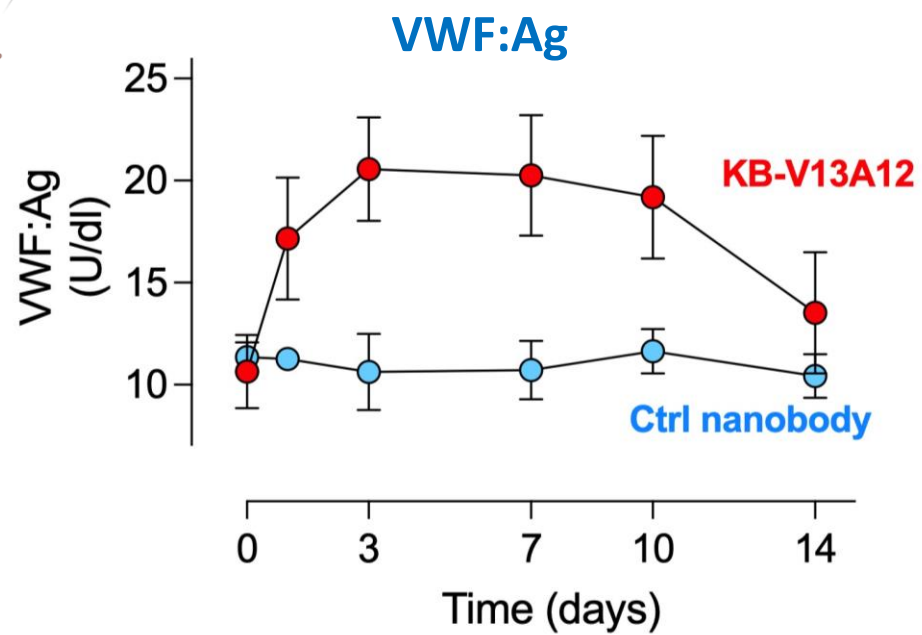
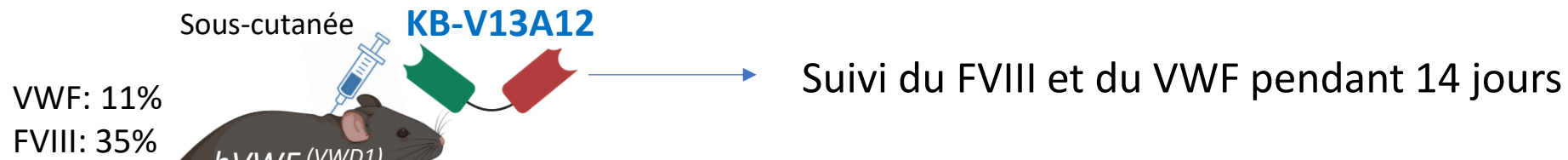
Excès molaire de KB-V13A12 par rapport au VWF



KB-V13A12 :

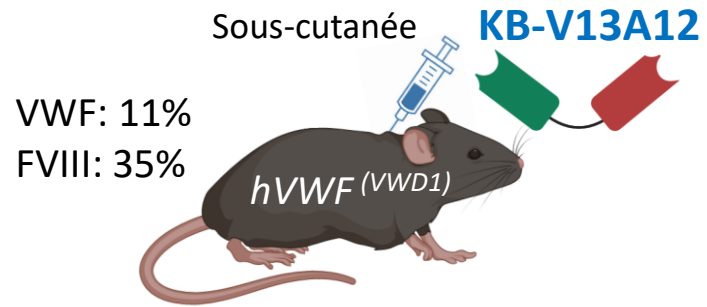
- apparaît rapidement dans la circulation
- atteint un excès molaire de >150 fois par rapport au VWF au jour 1
- reste dans la circulation jusqu'à 14 jours

KB-V13A12 augmente les taux plasmatiques de VWF et de FVIII



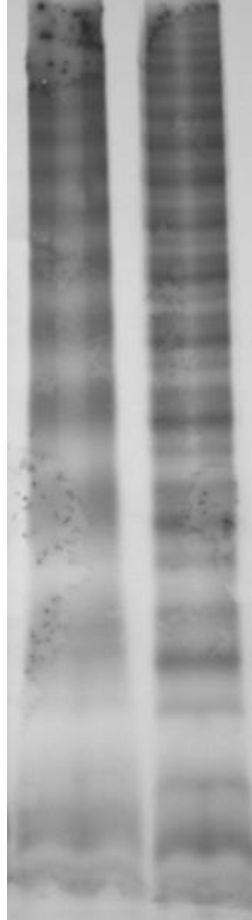
Une seule injection sous-cutanée augmente les niveaux de VWF/FVIII de 2 à 3 fois pendant ≥ 10 jours dans un modèle murin de VWD-type 1.

Conservation des multimères

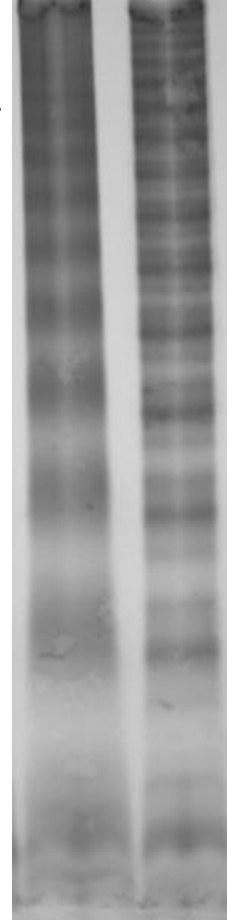


Analyse des multimères au jour 10

Souris 1



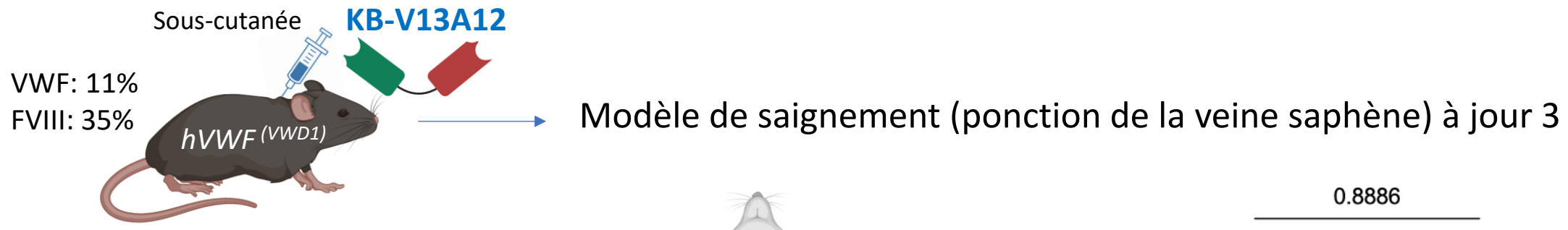
Souris 2



Rapport inchangé entre les multimères
de haut et de bas poids moléculaire

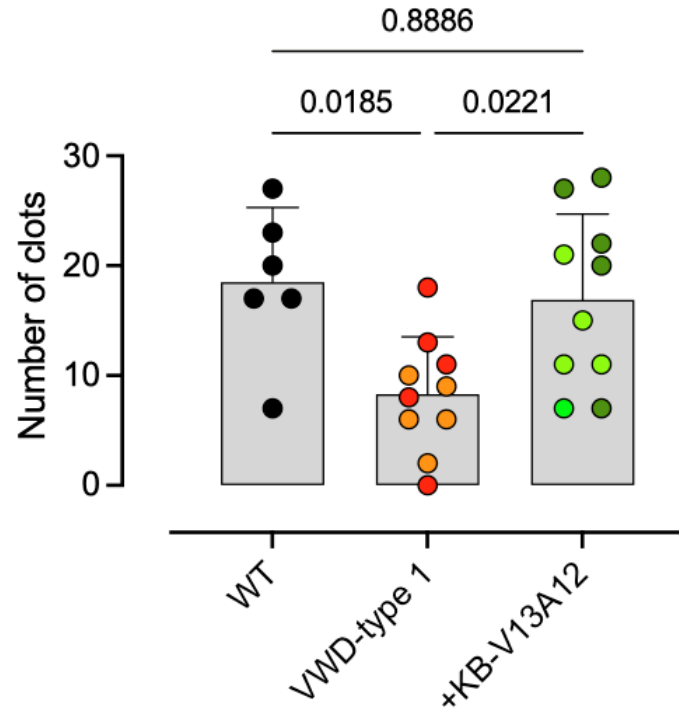
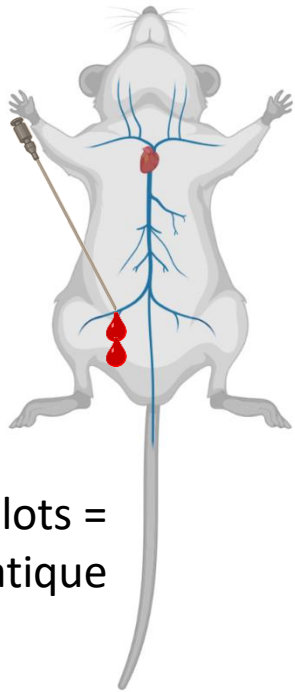
Tous les multimères sont conservés après traitement avec KB-V13A12

KB-V13A12 réduit les saignements chez les souris VWD-type 1



Élimination du caillot à chaque arrêt de saignement

Plus grand nombre de caillots = meilleure efficacité hémostatique



Correction du phénotype hémorragique par le traitement au KB-V13A12

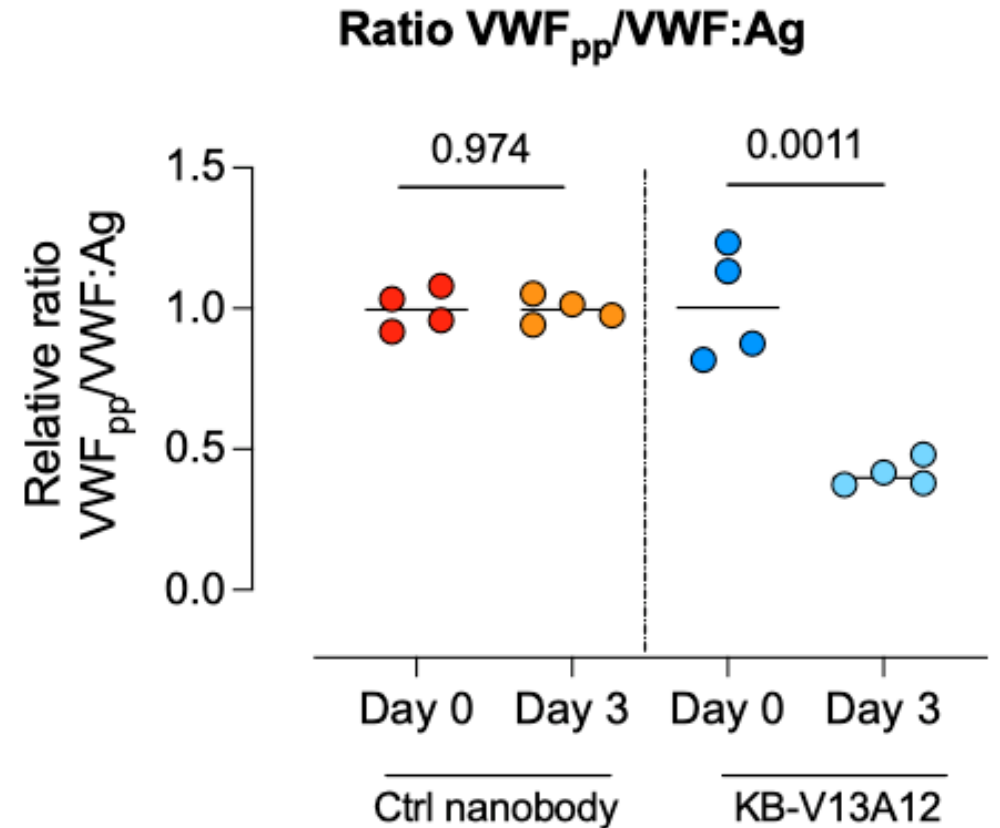
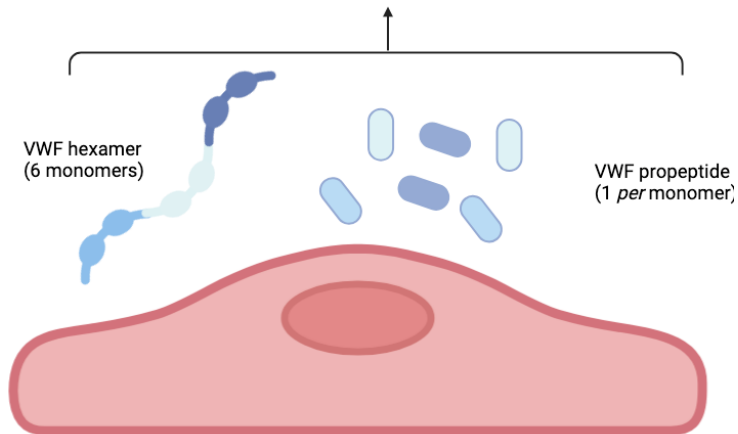
KB-V13A12 retarde-t-il la clairance d'une manière dépendante du FcRn ?

- si la clairance est retardée, le rapport propeptide/VWF:Ag devrait diminuer
- si l'effet est dépendant du FcRn, le KB-V13A12 devrait avoir un effet réduit chez les souris déficientes en FcRn

Effet KB-V13A12 sur le rapport propeptide/VWF

Si la clairance du VWF change, le rapport propeptide/VWF:Ag changera :

- à la hausse si le VWF est éliminé plus rapidement
- à la baisse si le VWF est éliminé plus lentement

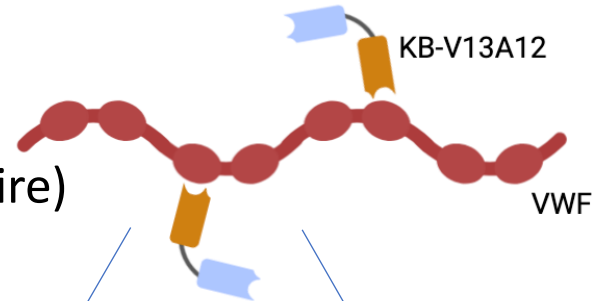


La réduction du rapport propeptide/Ag indique une clairance plus lente du VWF en présence de KB-V13A12

L'effet KB-V13A12 dépend-il du recyclage du FcRn ?

Clairance du VWF recombinant en absence/présence de KB-V13A12 chez les souris WT et FcRn^{-/-}

VWF préincubé +/- KB-V13A12
(10x excès molaire)

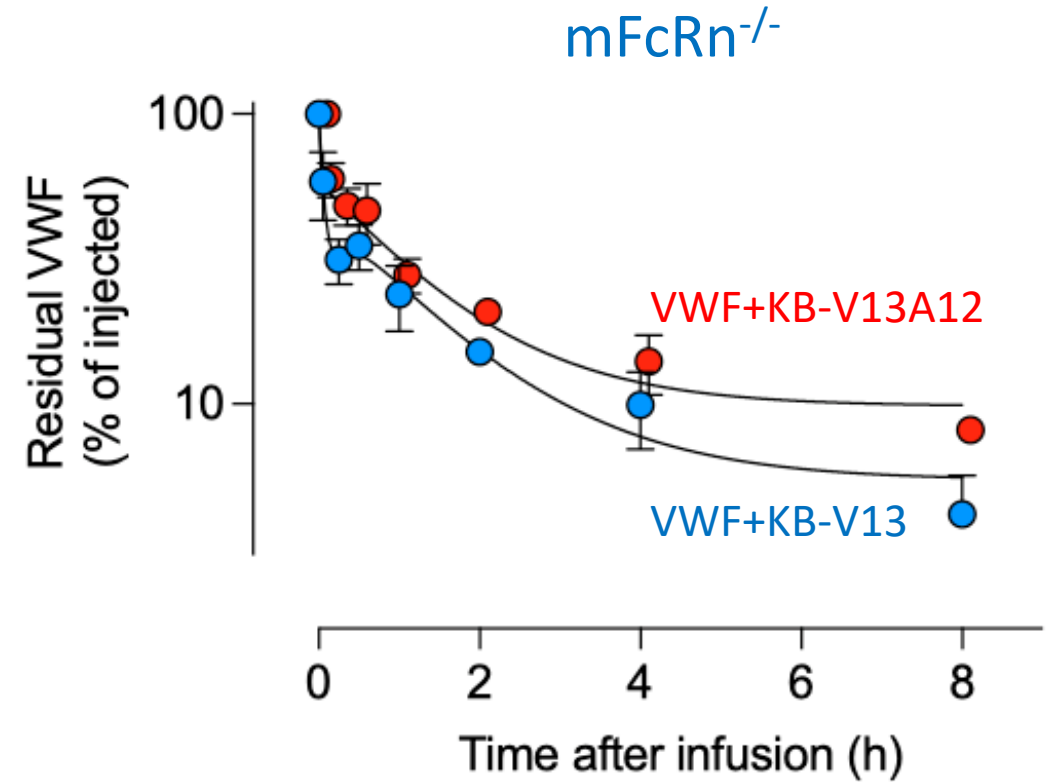
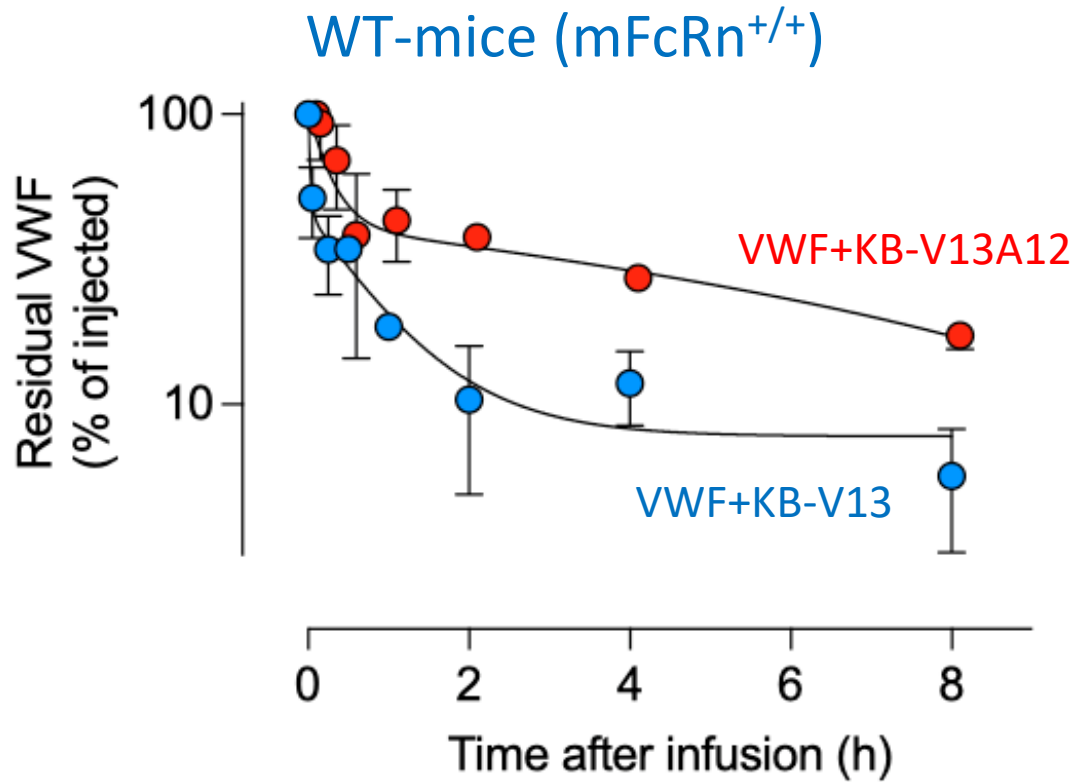


Injection rétro-orbitaire



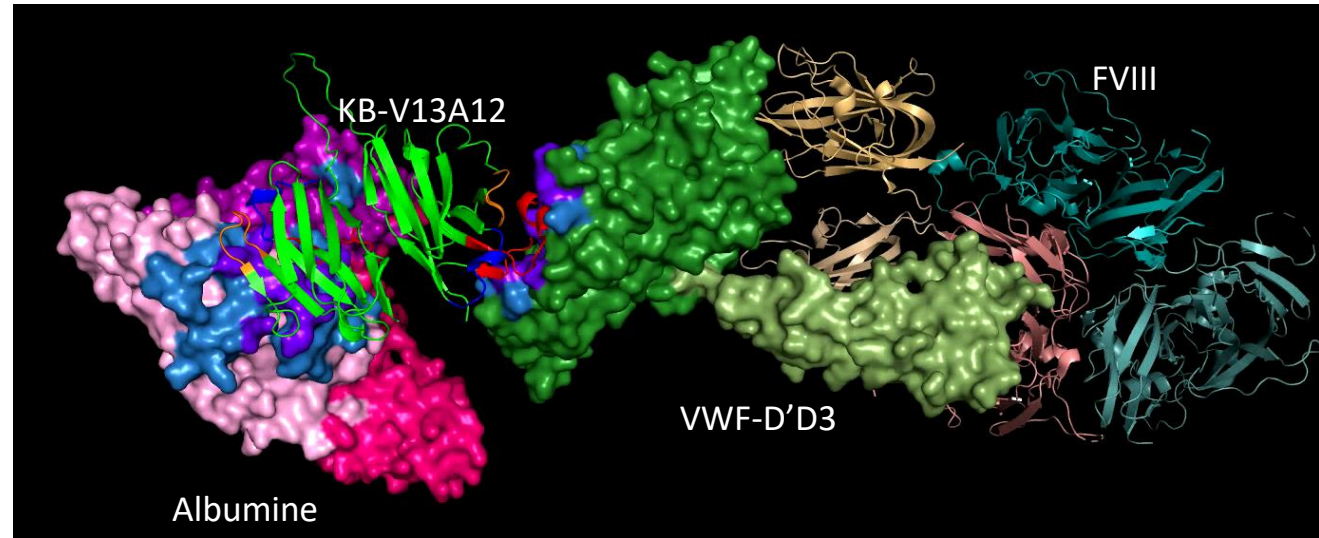
- Concentration d'albumine 2 fois plus faible
- Demi-vie HSA de $\pm 40h$ à $\pm 24h$

L'effet KB-V13A12 dépend-il du recyclage du FcRn ?



La présence de FcRn est nécessaire pour retarder la clairance du VWF

Résumé



KB-V13A12 permet une augmentation soutenue du complexe VWF/FVIII après une seule injection sous-cutanée

Le KB-V13A12 pourrait donc être un candidat intéressant pour le développement d'un traitement prophylactique à domicile pour les patients VWD-type 1

Une version humanisée du KB-V13A12 est en phase avancée de développement

Remerciements



Ivan Peyron
Geneviève McCluskey
Emilie Bocquet
Vincent Licari
Eloïse Pascal
Caterina Casari
Olivier D. Christophe
Cécile Denis



Sophie Susen

