



11-13
SEPT.
2024

LILLE
GRAND PALAIS

CONGRÈS FRANÇAIS d'HÉMOSTASE



Nanobodies bispécifiques et maladie de Willebrand

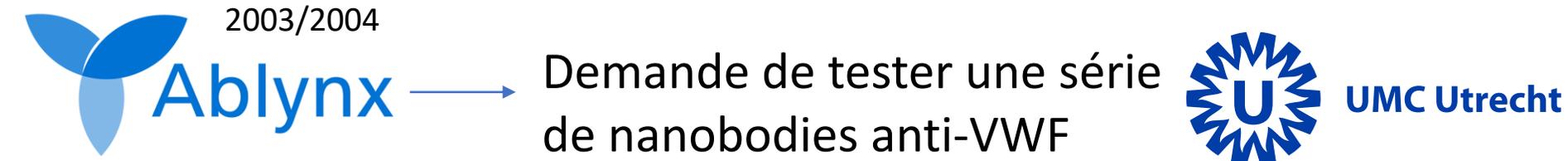
Peter LENTING

Inserm U.1176, Le Kremlin-Bicetre, France



FACULTÉ DE
MÉDECINE

Nanobodies anti-VWF : comment cela a commencé ?



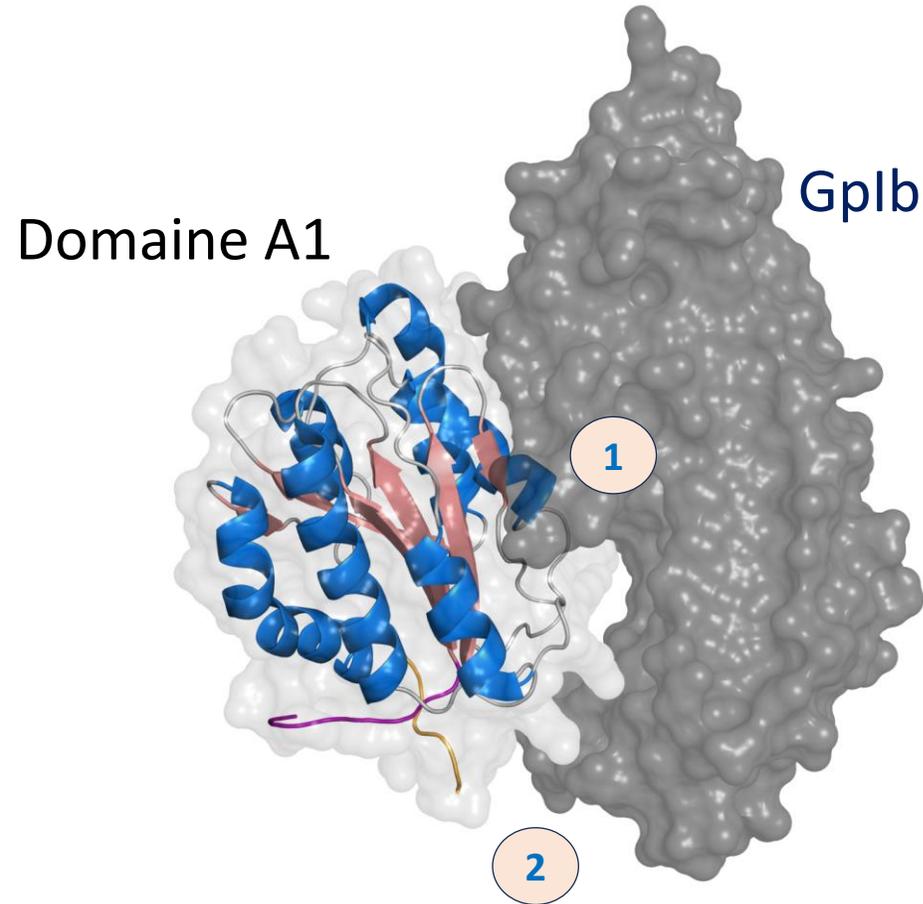
Objectif : développer des nanobodies inhibiteurs à des fins thérapeutiques.

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

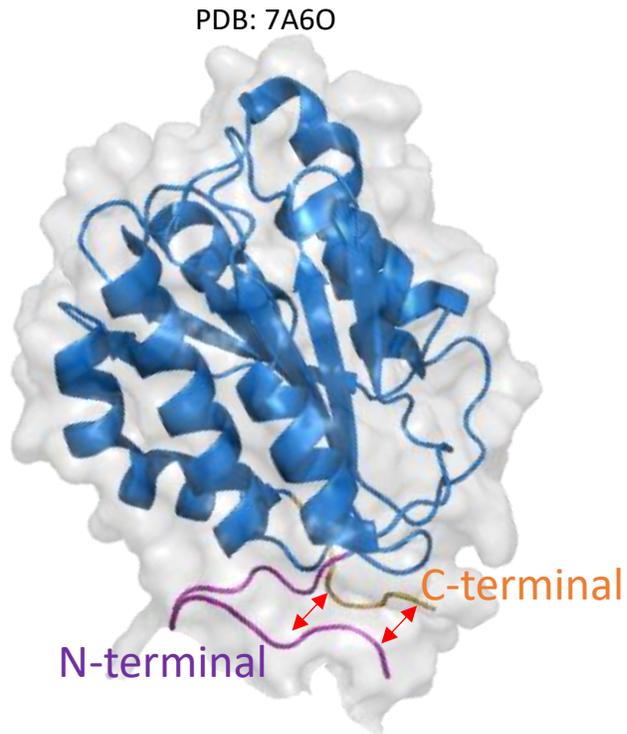
2 sites d'interaction



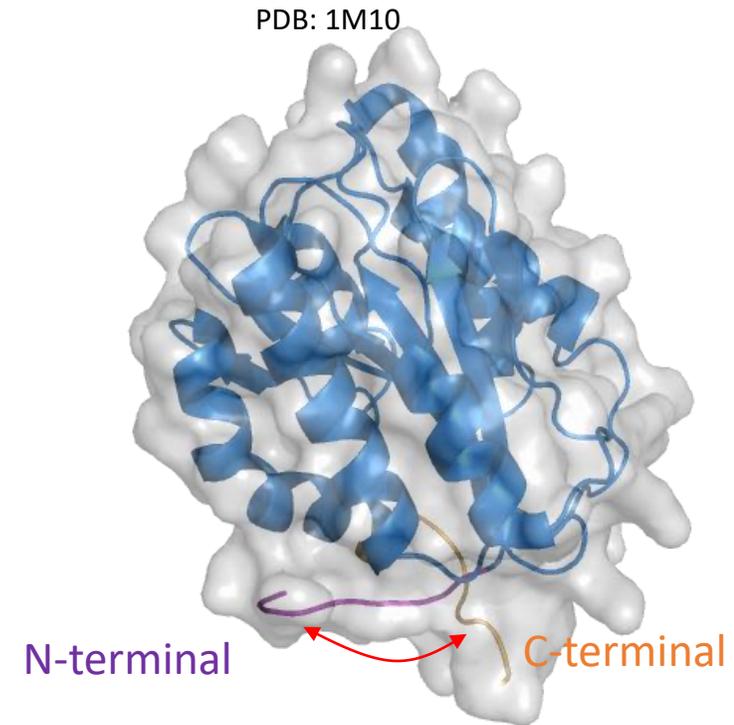
PDB: 1M10

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**

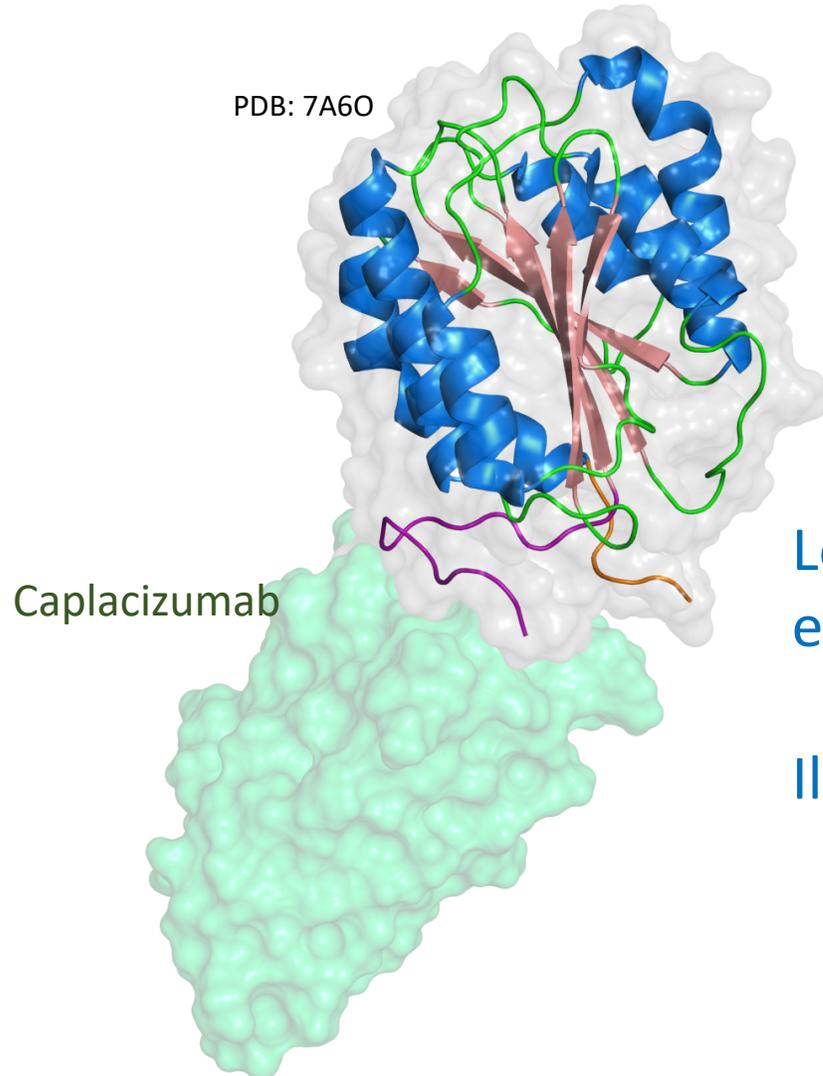


Les peptides N- et C-terminaux se dissocient sous l'effet des forces de cisaillement, ce qui permet à la **Gplb d'accéder au site 2**

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:

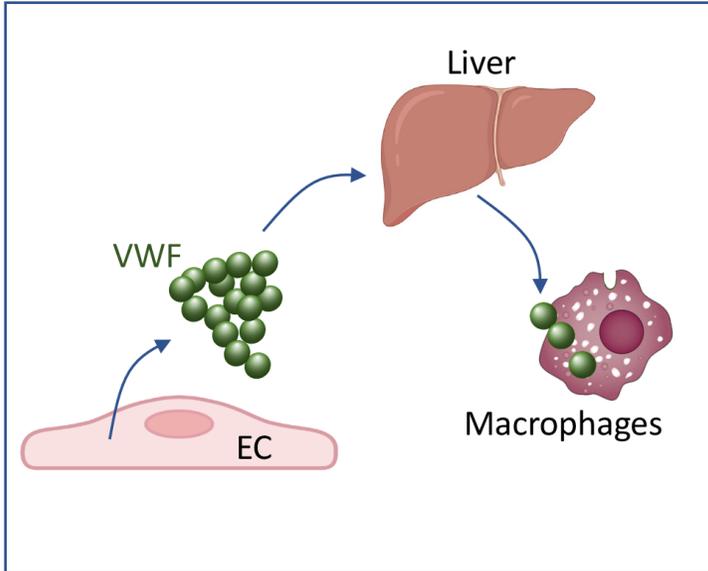
Utiliser le VWF du patient : il est fonctionnel, mais il est trop peu abondant.

Nanobody bispécifique KB-V13A12

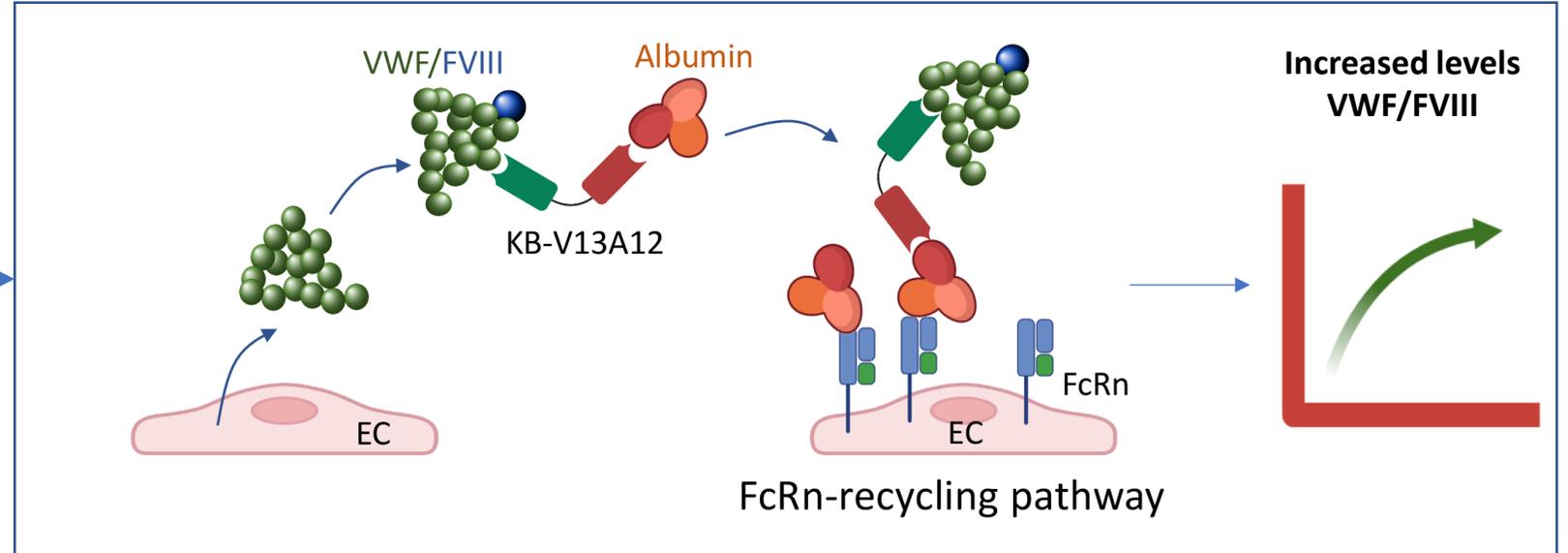
KB-V13A12

Anti-VWF   Anti-Albumine

*Clairance normale du VWF
médiée par le foie*



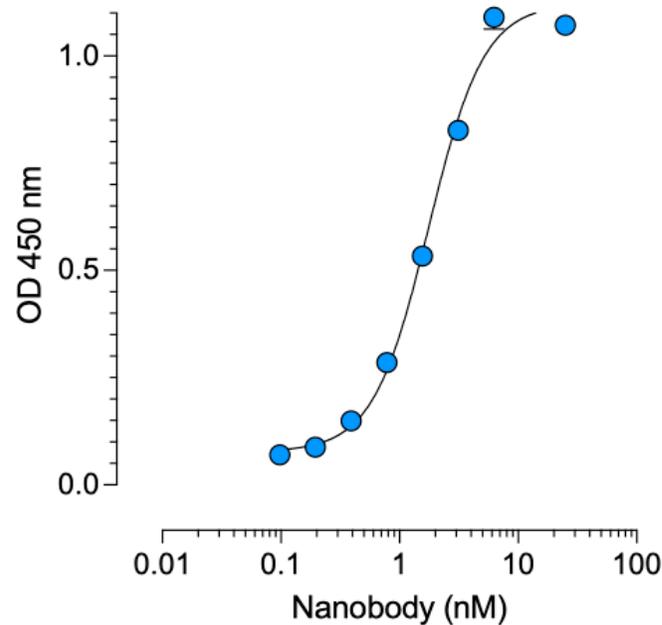
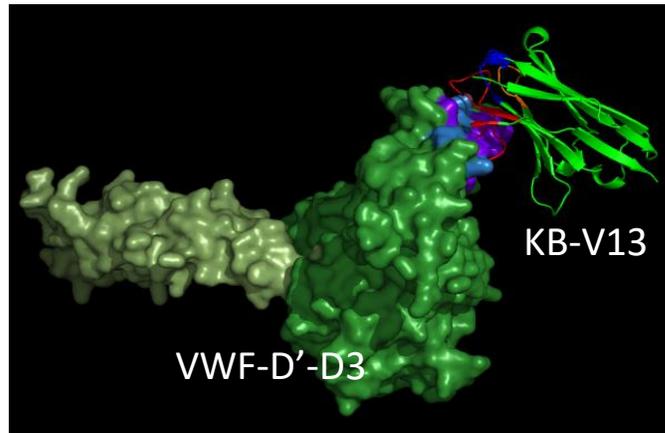
*Création d'un lien moléculaire entre le VWF et l'albumine
afin de retarder la clairance du VWF*



**Increased levels
VWF/FVIII**

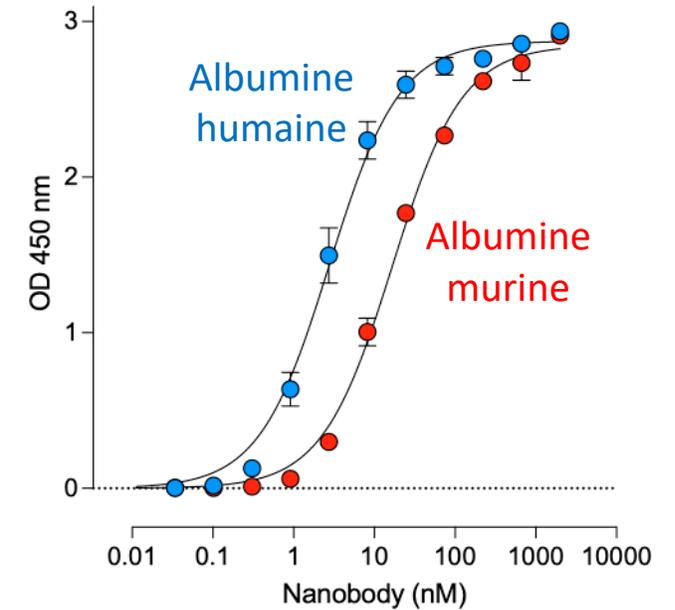
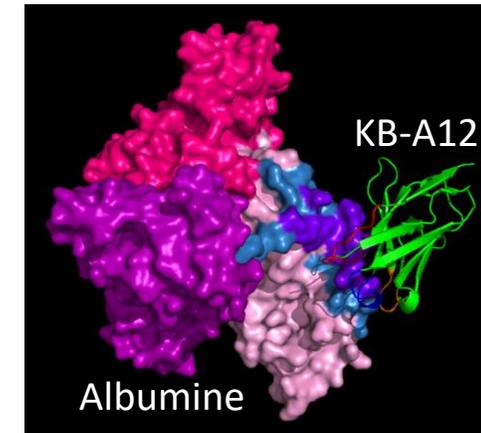
KB-V13A12

Anti-VWF

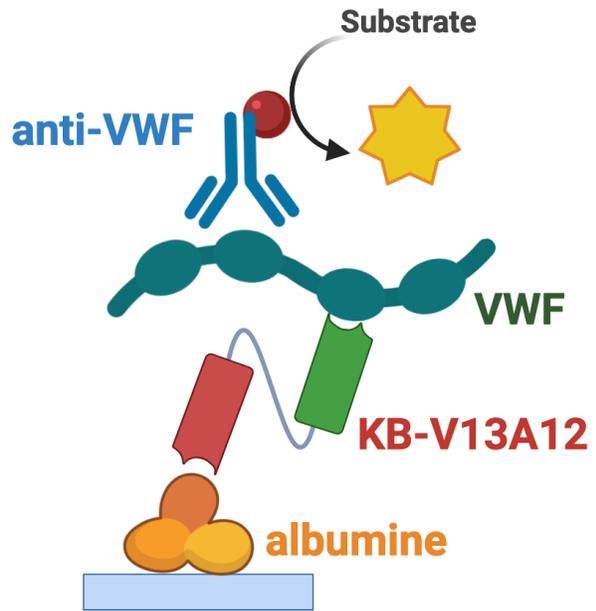


Liaison à haute affinité
avec le VWF et l'albumine

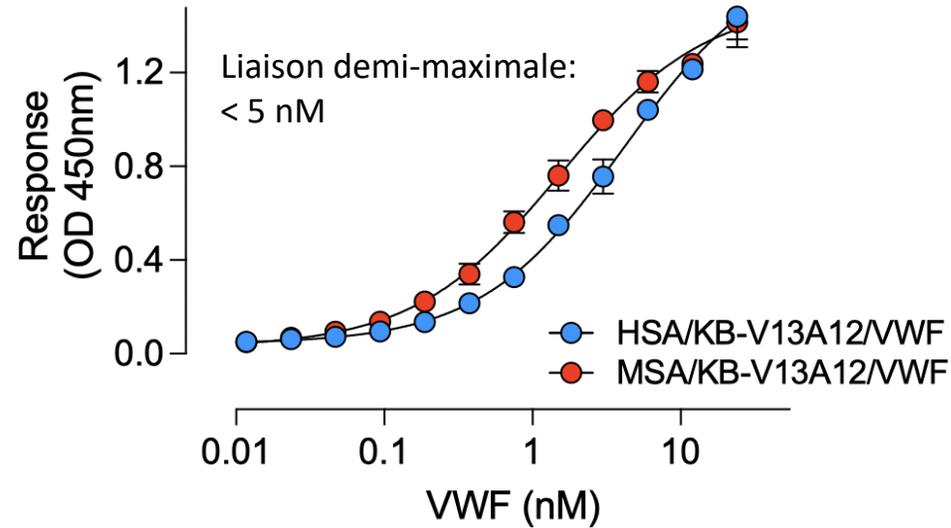
Anti-Albumine



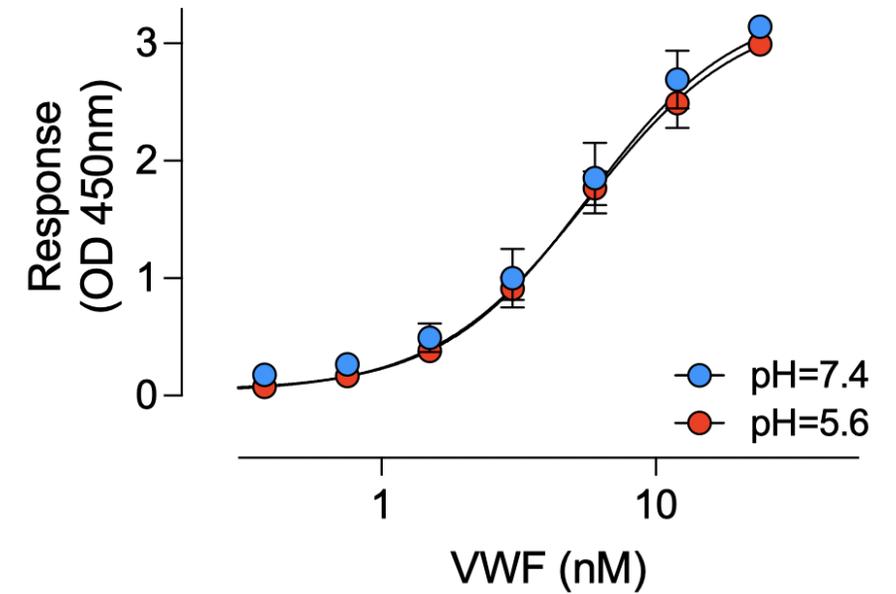
KB-V13A12: liaison entre VWF et albumine



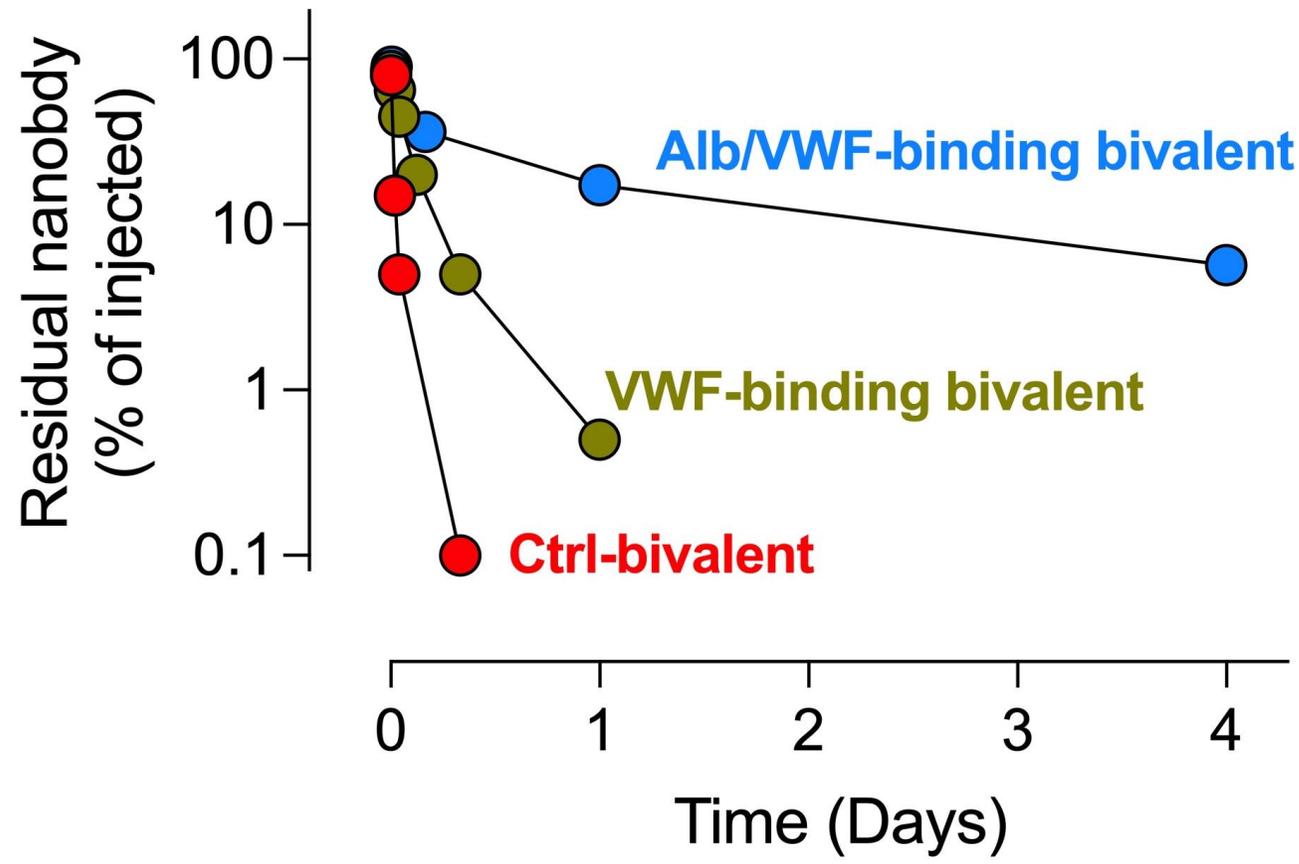
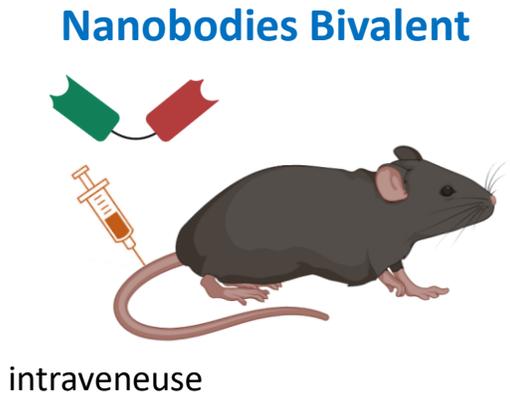
KB-V13A12 relie le VWF humain à l'albumine humaine et murine



Le complexe VWF/Albumine reste stable à faible pH

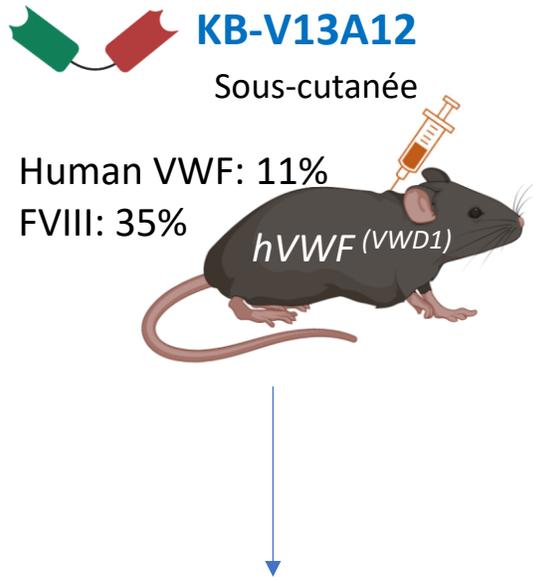


Survie des nanobodies dans les souris

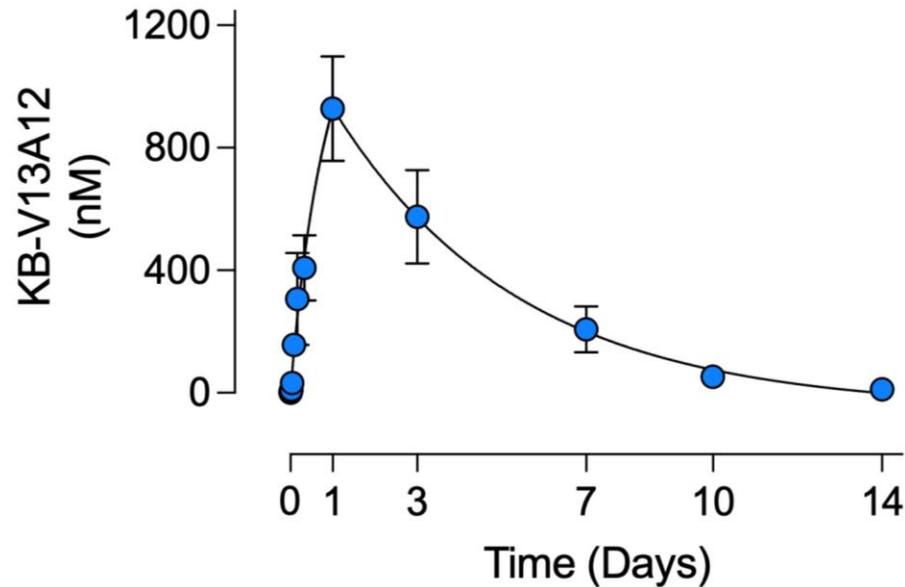


Les nanobodies se liant à l'albumine ont une demi-vie prolongée

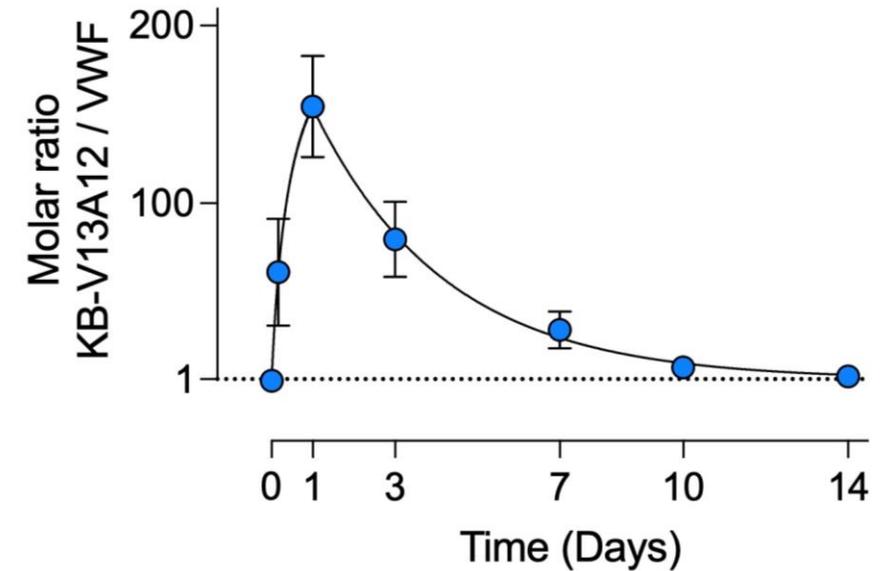
KB-V13A12 reste en circulation pendant au moins dix jours



Survie de KB-V13A12



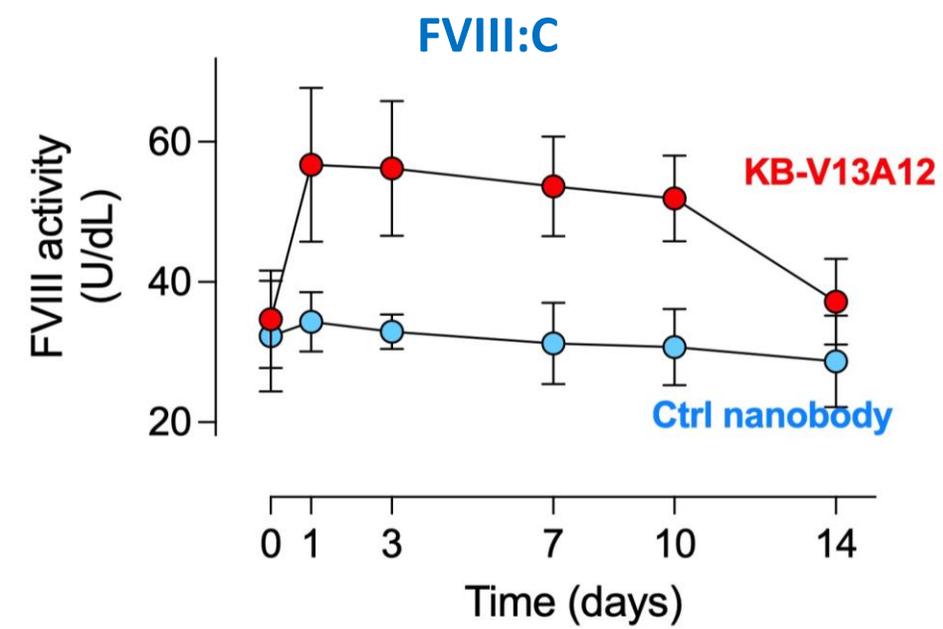
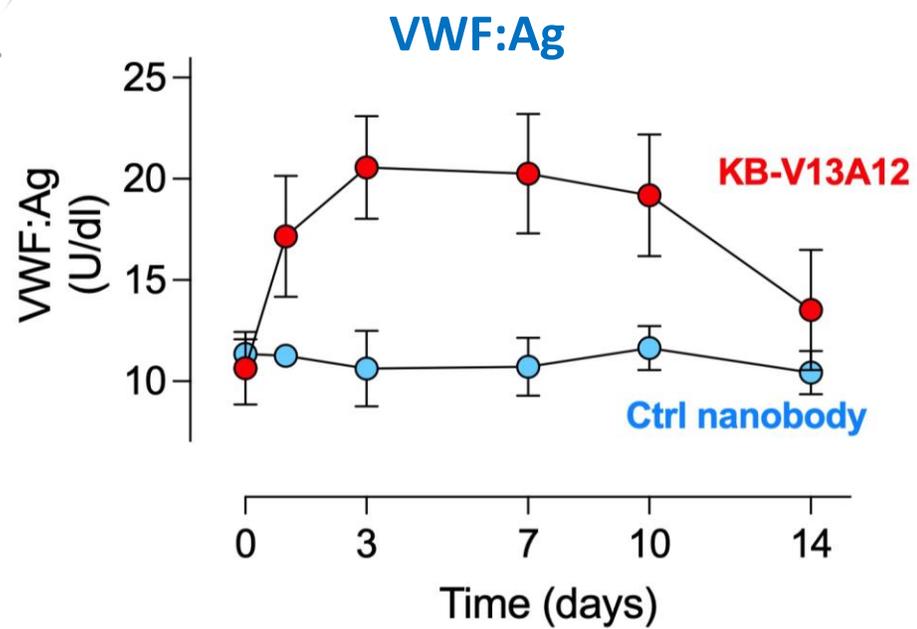
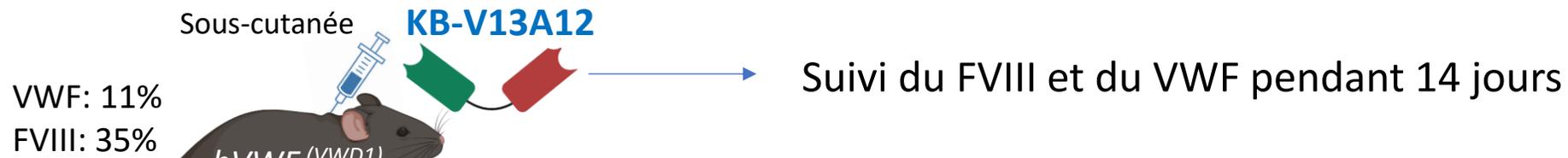
Excès molaire de KB-V13A12 par rapport au VWF



KB-V13A12 :

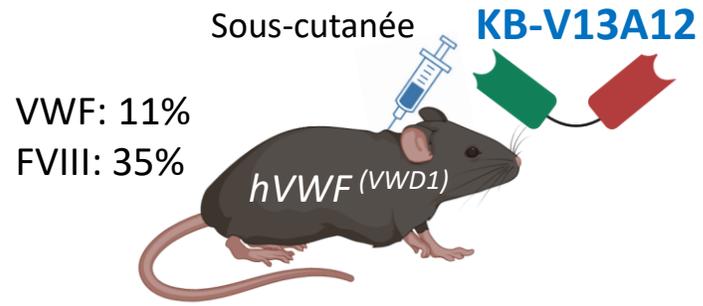
- apparaît rapidement dans la circulation
- atteint un excès molaire de >150 fois par rapport au VWF au jour 1
- reste dans la circulation jusqu'à 14 jours

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

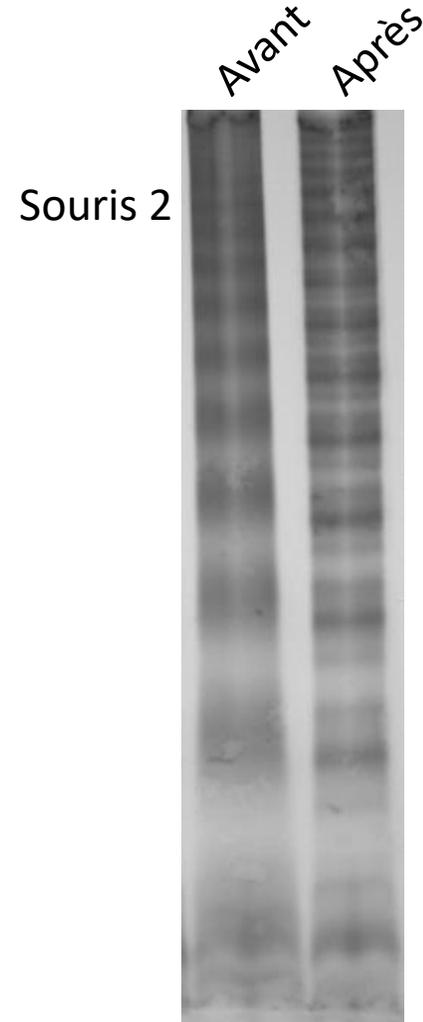
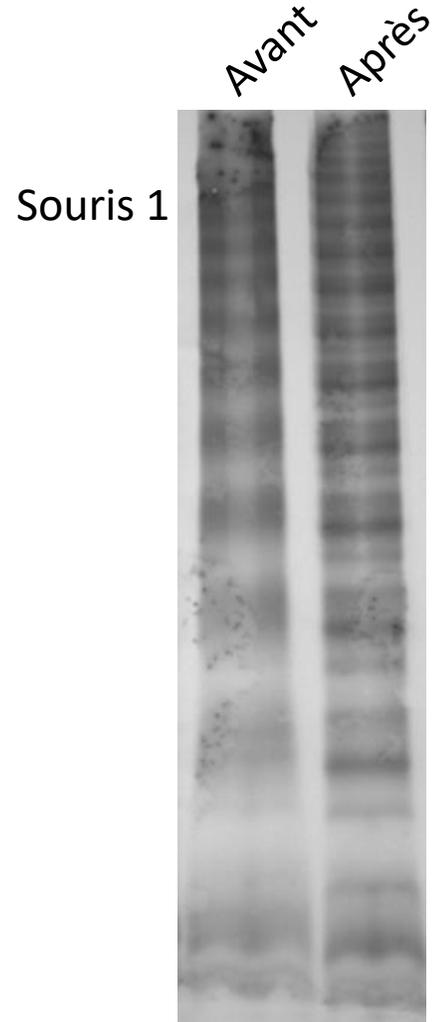


Une seule injection sous-cutanée augmente les niveaux de VWF/FVIII de 2 à 3 fois pendant ≥ 10 jours dans un modèle murin de VWD-type 1.

Conservation des multimères



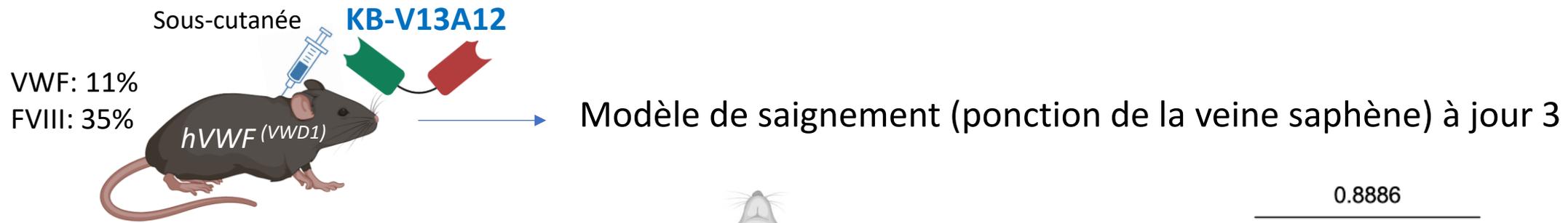
Analyse des multimères au jour 10



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

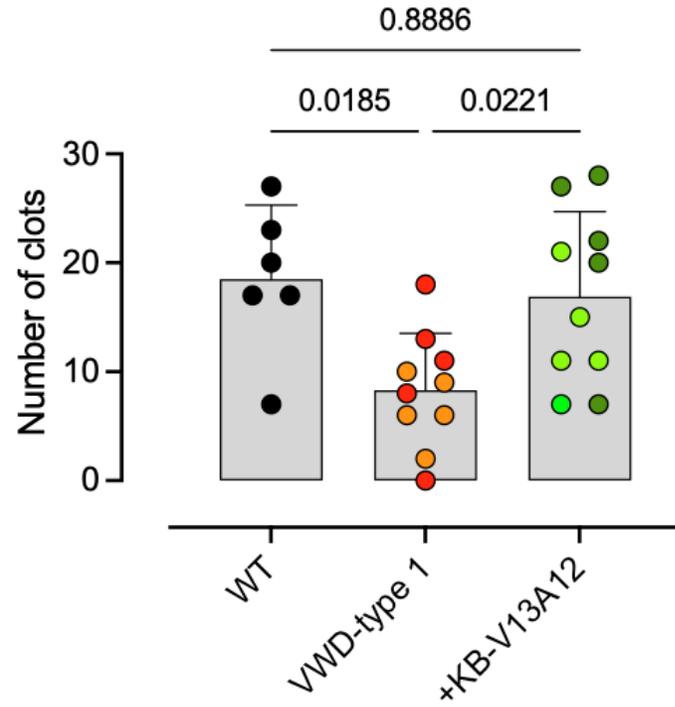
Tous les multimères sont conservés après traitement avec KB-V13A12

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

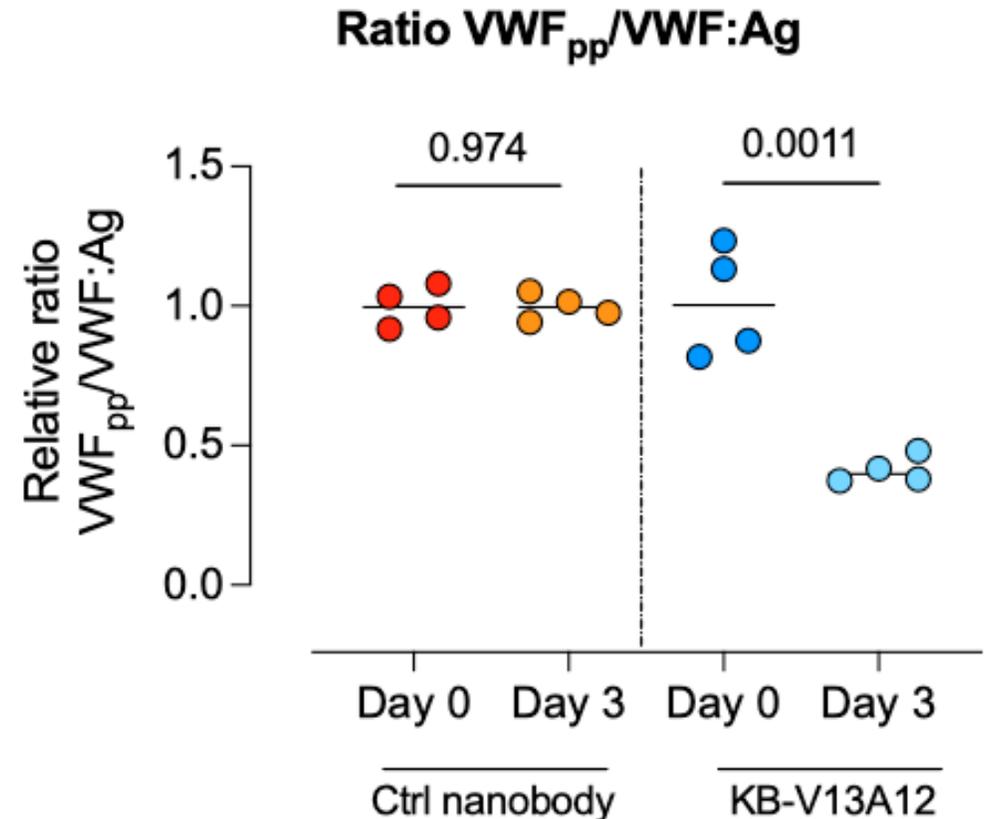
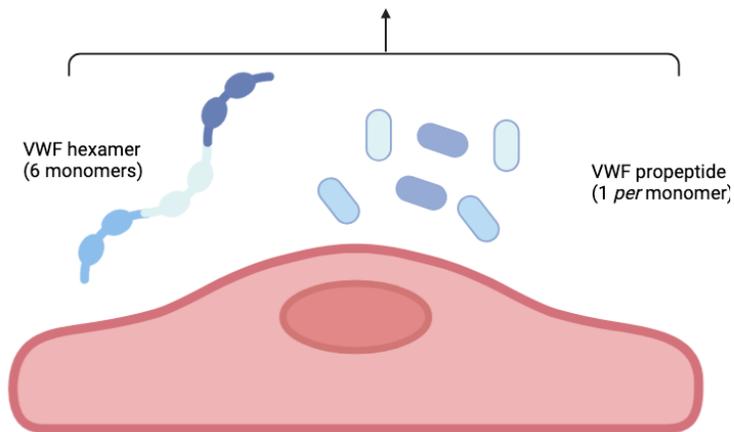
KB-V13A12 retarde-t-il la clairance d'une manière dépendante du FcRn ?

- 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

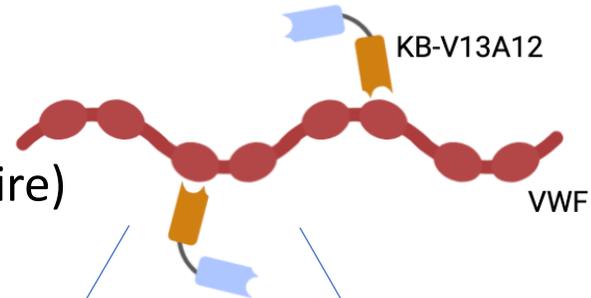


La réduction du rapport propeptide/Ag indique une clairance plus lente du VWF en présence de KB-V13A12

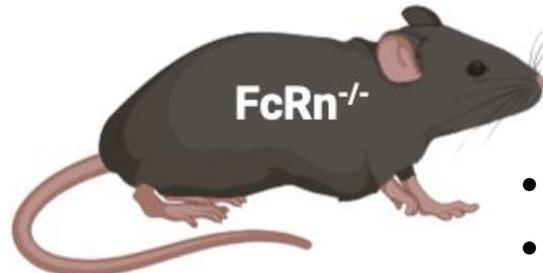
L'effet KB-V13A12 dépend-il du recyclage du FcRn ?

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

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

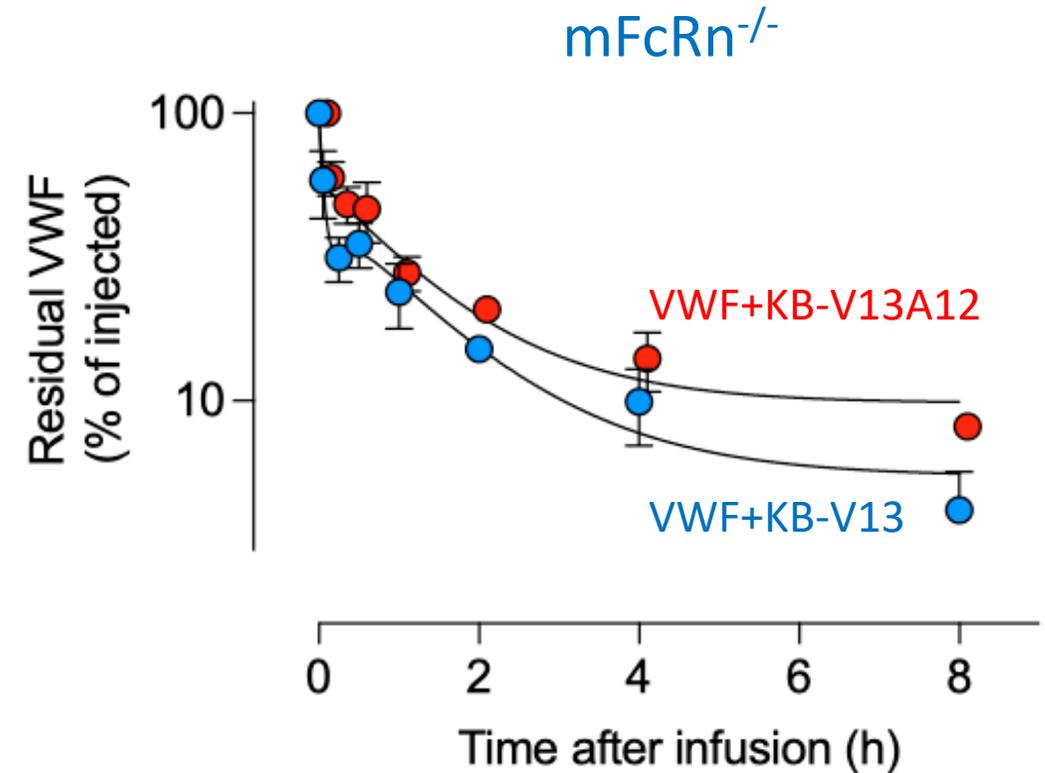
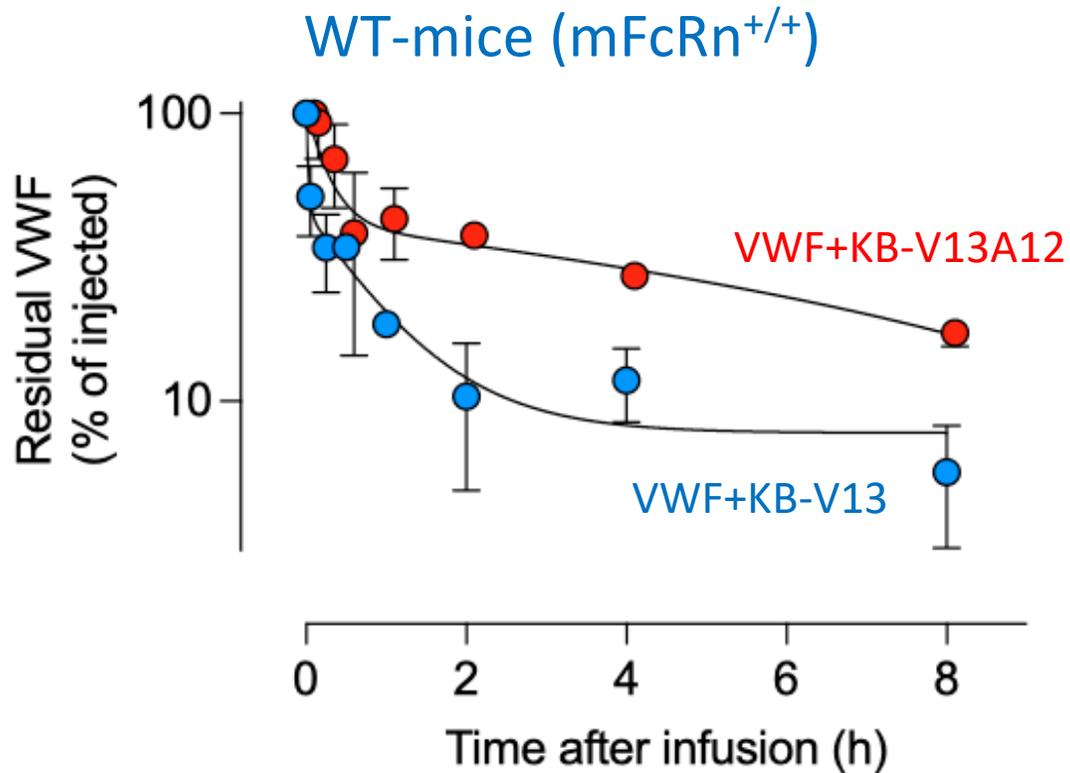


Injection rétro-orbitaire



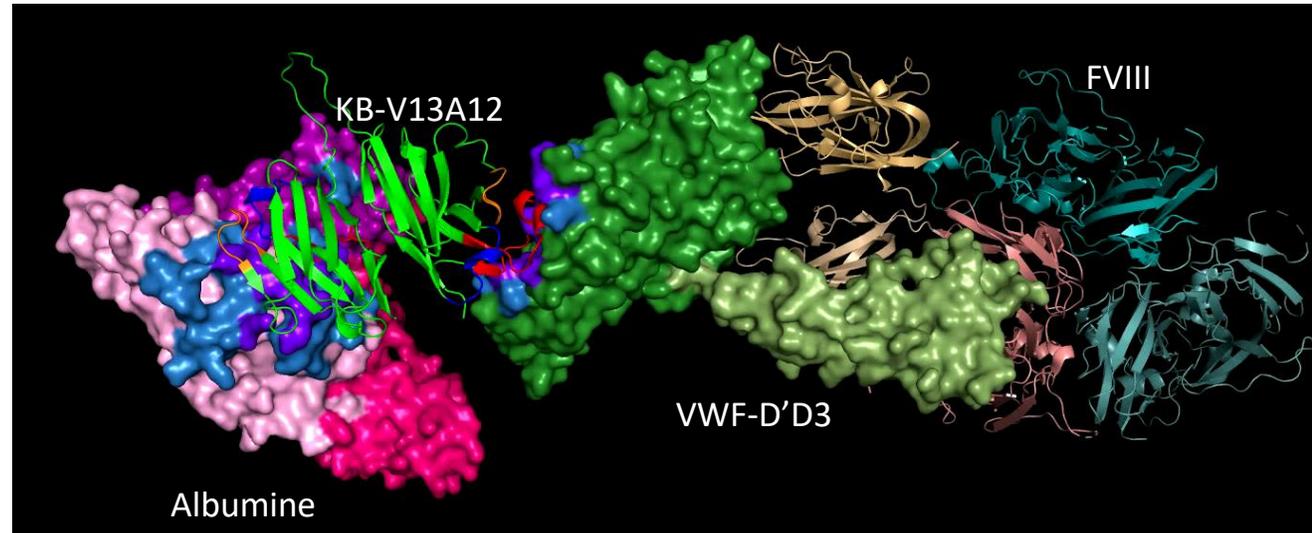
- Concentration d'albumine 2 fois plus faible
- Demi-vie HSA de $\pm 40h$ à $\pm 24h$

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

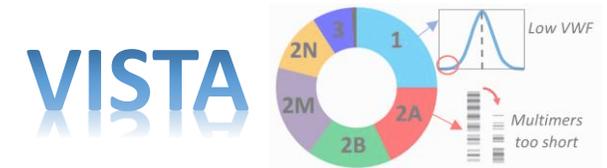
Remerciements



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



Sophie Susen



ANR-21-CE14-0076-02